

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



**Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University  
Journal of Veterinary Sciences**

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

**Yıl/Year: 2017**

**Cilt/Volume: 12**

**Sayı/Number: 3**



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

**Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University  
Journal of Veterinary Sciences**

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

**Aralık / December**

**Yıl/Year: 2017**

**Cilt/Volume: 12**

**Sayı/Number: 3**



**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ**

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



**ATATÜRK UNIVERSITY  
JOURNAL OF VETERINARY SCIENCE**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER**

Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

**YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD**

**Baş Editör / Editor-in-Chief**

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

**Editör / Editor**

Prof. Dr. Ekrem LAÇIN

**Editör Yardımcıları / Associate Editors**

Prof. Dr. Ömer ÇOBAN  
(İstatistik Editörü / *Statistical Editor*)

Doç. Dr. Özgür Kaynar  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Yrd. Doç. Dr. Elif DOĞAN  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Serkan EROL  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Yrd. Doç. Dr. Serkan YILDIRIM  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Yrd. Doç. Dr. Serdar ALTUN  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

**YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS**

Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Zekai Halıcı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Mustafa Alışarlı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND

Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO

Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY

Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

Dr. Tanvir Rahman, BANGLADEŞ / BANGLADESH

**İngilizce Danışmanı  
English Adviser**

Arş. Gör. Çiğdem SEVİM

**Sekreteryası ve Web Tasarım  
Secretariat and Web Design**

Yrd. Doç. Dr. Serdar ALTUN

**Dizgi  
Typesetter**

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Serkan EROL

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

Atatürk University J. Vet. Sci., is a refereed national journal, is published tri-annually in April, October and December. This journal is abstracted in **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TUBİTAK-ULAKBİM-Life Science Database** and **Türkiye Citation Index**.

**Yazışma Adresi / Correspondence Address**

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

Tel : +90 442 2317222, Fax: +90 442 2317244

E-posta: atavetderg@atauni.edu.tr; vetdergisi@atauni.edu.tr

**Yıl / Year: 2017**

**Cilt / Volume: 12**

**Sayı / Number: 3**



## Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2017; 12(3)

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

- Prof. Dr. Abuzer TAŞ, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ahmet GÖKCEN, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ahmet YILDIZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Beran YOKUŞ, Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gül Fatma YARIM, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Halit İMİK, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mehmet ELMALI, Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meral AYDENİZÖZ, Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem EREN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem KARAN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Murat GÜZEL, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Özgür AKSOY, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Şükrü Hakan ATALGIN, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Taylan AKSU, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Tekin ŞAHİN, Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Yeter DEĞER, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Hasan İÇEN, Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. M. Özkan TİMURKAN, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mesut Bünyami HALICI, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Nusret APAYDIN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Emre TEKCE, Bayburt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Yüksek Okulu, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Gözde ATİLA, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Nazlı ERCAN, Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Zeynep BOZKAN TATLI, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.
- Yrd. Doç. Dr. Zeynep KARAPINAR, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, TÜRKİYE.

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

▶ <b>Luçman Awla HAMZA, Cumali ÖZKAN.</b> Serological Investigation of Maedi-Visna in Sheep with Chronic Respiratory Disease in Erbil, Iraq ( <i>Irak, Erbil Bölgesinde Kronik Solunum Sistemi Hastalığı Olan Koyunlarda Maedi-Visna Hastalığının Serolojik Araştırılması</i> )	227-234
▶ <b>İbrahim AKIN.</b> Calf Metacarpal Fractures in Association with Bovine Dystocia: Case Series Among Calves ( <i>Sığırlarda Güç Doğum ile İlişkili Buzağı Metakarpal Kırıkları: Buzağular Arasından Olgu Serisi</i> )	235-241
▶ <b>Recep GÜMÜŞ, Halit İMİK, Hüseyin Serkan EROL, Seçkin ÖZKANLAR, Mesut HALICI.</b> Sıcaklık Stresine Maruz Kalan Broilerlerin Rasyonuna Katılan Vitamin C ve $\alpha$ -Lipoik Asidin Karaciğer ile But Etinde Antioksidan Metabolizma Üzerine Etkisi ( <i>Effects of Dietary Vitamin C and <math>\alpha</math>-Lipoic Acid Supplementation on Antioxidant Metabolism in Liver and Drumstick Meat Tissues for Heat Stress-Exposed Broilers</i> )	242-249
▶ <b>Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Derviş ÖZDEMİR, Hülya BALKAYA, Hülya KARA, Seval ÖZÜDOĞRU.</b> Cıvıverlerde Adrenal Bezin Gelişimi Üzerine Farklı Fotoperiyotların Etkisi ( <i>The Effects of Various Photoperiods on Development of Adrenal Gland in Chicks</i> )	250-258
▶ <b>Murat KARABAĞLI.</b> Köpeklerde Perineal Fıtıkların Sağaltımında Dört Tekniğin Bir Arada Kullanılmasının Nüksleri Önlemedeki Etkinliği: Obturator Internus Kas Transpozisyonu, Kastrasyon, Sistopeksi ve Kolopeksi ( <i>Prevention of Perineal Hernia Recurrences by Four-In-One Procedure in Dogs: Obturator Internus Muscle Transposition, Castration, Cystopexy and Colopexy</i> )	259-268
▶ <b>Duygu UDUM KÜÇÜKŞEN.</b> Koyunlarda Doğum Sonrası Erken Laktasyon Döneminde Leptin ve Ghrelin Seviyelerinin Değişimleri ( <i>Changes of Leptin and Ghrelin Levels in the Early Lactation Period After Birth in Sheep</i> )	269-275
▶ <b>Murat GENÇ, Ekrem LAÇIN, Nilüfer SABUNCUOĞLU, Ömer ÇOBAN.</b> Farklı Işık Kaynaklarının (Monokrom Işık ve Floresan) Broilerlerde Besi Performansı Üzerine Etkisi ( <i>The Effects of Different Light Sources (Monochromatic Light and Fluorescent) on Fattening Performance in Broilers</i> )	276-282
▶ <b>Mustafa KÖSE, Metin ERDOĞAN, Kürşat KARTAL.</b> Afyonkarahisar Yöresi Koyun Akciğer Kılkurdu Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu ( <i>Molecular Characterization of Lungworm Species of Sheep in Afyonkarahisar Region</i> )	283-288
▶ <b>Halil İbrahim DENİZ, Serap KILIÇ ALTUN.</b> Şanlıurfa İlinde Tüketime Sunulan Yöresel Peynirlerde Virulent <i>Listeria monocytogenes</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonu ( <i>The Isolation and Identification of Virulent Listeria monocytogenes Consumption of Local Cheeses in Şanlıurfa Province</i> )	289-295
▶ <b>Halil ŞİMŞEK, Enes KAYA, Mehtap ÖZÇELİK.</b> Radyasyona Maruz Bırakılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Parametreler Üzerine Propolisin Etkisi ( <i>The Effect of Propolis on Lipid Peroxidation and Some Antioxidants Parameters in the Radiation Exposed Rats</i> )	296-303
▶ <b>Tubanur ASLAN, Fikret ÇELEBİ, Emin ŞENGÜL, Volkan GELEN, Ali ÇINAR.</b> <i>Usnea Longissima</i> Ach. Liken Türününün Metanol Ekstresinin İn Vitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi ( <i>Effect of Methanol Extract of Usnea Longissima Ach. Lichen Species on Gastric Acid Secretion in In Vitro Rat Stomach</i> )	304-314
▶ <b>Mehmet KALE, Yakup YILDIRIM, Oğuzhan AVCI, Şima ŞAHİNDURAN, Sibel HASIRCIOĞLU, Hasbi Sait SALTİK, Necmettin Sarp SEVGİSUNAR.</b> Burdur Yöresindeki Gastroenteritisli Köpeklerde Canine Parvovirus Enfeksiyonunun Virolojik Araştırılması ( <i>Virological Investigation of Canine Parvovirus Infection in Dogs with Gastroenteritis in Burdur District</i> )	315-319
<b>Derlemeler / Reviews</b>	
▶ <b>Efe KURTDEDE, Mert PEKCAN, Hilal KARAGÜL.</b> Türkiye'de Florozis Sorunu ve Florun Biyokimyasal Etkileşimi ( <i>Fluorosis Problem in Turkey and Biochemical Interaction of Fluorine</i> )	320-326
▶ <b>Cavit ARSLAN, Esra ÇELEBİ.</b> Ruminantlarda Rumende Oluşan Metan Üretimini Azaltmaya Yönelik Çalışmalar ( <i>Studies on Reduction of Ruminant Methane Production in Ruminants</i> )	327-337
▶ <b>Nezihe GÖKHAN.</b> Sığırlarda Eklem Hastalıklarının Tanısında Ultrasonografik Muayene ( <i>Diagnostic Ultrasound Examination of the Joint Diseases in Cattle</i> )	338-344



## Serological Investigation of Maedi-Visna in Sheep with Chronic Respiratory Disease in Erbil, Iraq\*

Luqman Awla HAMZA<sup>1</sup>, Cumali ÖZKAN<sup>1</sup>✉

1. Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Van, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received  
27.02.2017

Kabul Tarihi/Accepted  
27.04.2017

Yayın Tarihi/Published  
20.12.2017

**Abstract:** Maedi-Visna is a chronic and progressive viral disease most commonly seen in adult sheep. Disease is characterized by progressive interstitial pneumonia and/or neurological manifestations. The aim of this study is to serologically reveal the presence of Maedi-Visna in adult sheep in Erbil province in Iraq, which is an important area of sheep farming and also to investigate the prevalence of Maedi-Visna disease in sheep with chronic respiratory problems. Blood samples were obtained from 100 male and female Awassi sheep between 2 and 8 years old which were suffering from chronic pneumonia. The samples were obtained from the different locations in the city of Erbil and its provinces (Hawler, Dashti Hawler, Maxmur and Xebat) between January and April 2016. Blood samples were analysed for Maedi-Visna by using ELISA method in laboratory. According to the analysis, of 100 samples; positive, suspected and negative results were determined as 65%, 3% and 32%, respectively. Seropositivity increased with regard to age and it was determined higher in ewes. Highest seropositivity was determined in Hawler. Clinical findings such as emaciation, coughing, dyspnea, mastitis and paralysis were detected considerably high in the animals. As a result, Maedi-Visna was observed in animals with chronic respiratory system disease with high rate in Iraq-Erbil region. As this is the first study performed in the region related with Maedi-Visna, we believe that this study will provide a basis for the further studies in the region.

**Keywords:** ELISA, Maedi-Visna Virus, Pneumonia, Seroprevalence, Sheep.

## Irak, Erbil Bölgesinde Kronik Solunum Sistemi Hastalığı Olan Koyunlarda Maedi-Visna Hastalığının Serolojik Araştırılması

**Öz:** Maedi-Visna erişkin koyunlarda yaygın bir şekilde görülen, kronik ve progresif bir viral hastalıktır. Hastalık progresif interstisyel pnömoni ve/veya sinirsel semptomlarla karakterizedir. Bu çalışmanın amacı, Irak-Erbil bölgesinde kronik solunum sistemi problemi olan erişkin koyunlarda Maedi-Visna hastalığının ELISA yöntemiyle prevalansının ortaya konulmasıdır. Kronik pnömoni, 2-8 yaş arası, dişi ve erkek 100 İvesi ırkı koyundan kan örnekleri toplandı. Örnekler Erbil ilinin değişik bölgelerinden (Hawler, Dashti Hawler, Maxmur ve Xebat), Ocak ve Nisan 2016 ayları arasında toplandı. Kan örnekleri laboratuvarında ELISA yöntemine göre Maedi-Visna hastalığı yönünden analiz edildi. Yapılan analizler sonucu, 100 örnekten 65'i pozitif, 3'ü şüpheli ve 32'si negatif olarak tespit edildi. Hastalığın seropozitifliğinin yaşla birlikte artış gösterdiği ve dişilerde daha yüksek oranda olduğu gözlemlendi. Bölgelere göre en yüksek seropozitiflik ise Hawler'de belirlendi. Klinik bulgu olarak, hayvanlarda aşırı kilo kaybı, öksürük, dispne, mastitis ve paralizis yüksek oranda belirlendi. Sonuç olarak, Irak-Erbil bölgesinde kronik solunum sistemi hastalıklı hayvanlarda Maedi-Visna yüksek oranda tespit edildi. Bu çalışmanın bölgede Maedi-Visna hastalığı ile ilgili yapılan ilk çalışma olduğu ve gelecekte yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** ELISA, Koyun, Maedi-Visna Virüs, Pnömoni, Seroprevalans.

✉ Cumali ÖZKAN

Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Van, TURKEY.  
e-mail: cumaliozkan@gmail.com

\*This research is summarized in the same master's thesis.

## INTRODUCTION

**M**aedi-Visna is caused by small ruminant lentiviruses (SRLV) within the genus lentivirus belonging to family Retroviridae. Maedi-Visna is a chronic and progressive viral disease most commonly seen in adult sheep and the disease is characterized by progressive interstitial pneumonia or neurological manifestations (1).

There are two forms of the disease. Maedi is the respiratory form and Visna is the nervous form (2,3). Maedi-Visna leads to multi-systemic inflammatory disease. The four major tissues affected are the lungs, mammary glands, joints and CNS. However, pathological lesions can also be seen in other organs including heart, liver, kidney lymph nodes, blood vessels and bone marrow. MVV has a very long incubation period and the clinical signs do not appear until the age of 2 years and many sheep remain asymptomatic carriers for their whole lives (2,4-6).

The clinical signs of Maedi are observed more common than Visna. The clinical signs of Maedi are coughing, dyspnea, emaciation and mastitis. Abortions are also recorded but associated with severity of infection (1,5,7,8). Clinical signs of Visna are weakness in the hind legs, arthritis, weight loss, mastitis and progression to complete paralysis and sometimes CNS disorders are also observed. In both Maedi and Visna, the body temperature does not increase if there is not a secondary infection (4,8).

Diagnosis of MVV infection can be made by clinical findings and the confirmative diagnosis must be performed by laboratory methods such as post-mortem examination, histopathological lesions, virus serology and isolation. Several methods are used for serological diagnosis of MVV including AGID, ELISA, RIA, RIPA and WB and PCR (6,7,9).

Direct or indirect transmission occur by contact with lung secretions and excretions of infected sheep. There is no effective treatment and no available vaccine. Supportive treatment that includes suitable management and control of secondary

infection with antibiotics may lengthen life for a few weeks or months but the disease is finally fatal. Because of the poor prognosis and risk of exposure of uninfected animals to clinical disease, long-term treatment is not recommended (2,7).

In the present, Maedi-Visna spreads sheep on the entire world in most European countries and recognized in several continents such as USA, Africa and Asia where the disease caused important economic losses. Very few countries are free of MVV like New Zealand and Australia. In many countries, MV was not described and investigated until now such as Algeria, Egypt, Lebanon, Libya and Tunisia (3,5,10). In Iraq, also there is not any report about this disease.

The aim of this study is to serologically reveal the presence of Maedi-Visna in adult sheep in Erbil province in Iraq, which is an important area of sheep farming and also to investigate the prevalence of Maedi-Visna disease in sheep with chronic respiratory problems.

## MATERIALS and METHODS

Blood samples were obtained from 100 male and female Awassi breed sheep between 2 and 8 years old, which were suffering from chronic pneumonia. The samples were obtained from the different locations in the city of Erbil (Hawler, Dashti Hawler, Maxmur and Xebat) and its provinces between January and April 2016. This research was approved (28. 01. 2016 and 2016/01) by the Animal Research Ethics Committee of Yuzuncu Yil University in Van, Turkey.

Following clinical examination; obtained clinical findings such as sampling date, address, animal breed, clinical examination (age, body temperature, heart rate and respiratory rate) and clinical signs (coughing, dyspnea, paralysis, emaciation, mastitis and arthritis) were recorded.

For this purpose, 10 ml of blood was taken from the jugular vein and kept in the non-anticoagulant tube. Then, blood samples were transported to the

Erbil veterinary laboratory in cold chain within the hours of collection and the blood was centrifuged at 3000 RPM for 15 minutes to extract serum. Each serum of samples was divided into 3 eppendorf tubes and stored in a deep freezer at -20°C. Samples were transferred to Internal medicine laboratory, Veterinary Faculty, Yuzuncu Yil University in cold chain in order to perform analyses.

A commercial ELISA kit (CAEV/MVV total Antibody Test Kit, IDEXX/Switzerland 06-41199-01) was used for detecting antibodies against MVV in the serum. All serum samples were analyzed according to the procedure provided by the company. The results were read by using (ELISA reader® DAS) at 450 NM wavelength and obtained absorbency values were calculated according to the protocol provided by the kit. S/P ratio under 50% was considered as negative, between 50-60% was considered suspect and over 60% was considered as positive.

#### Statistical Analysis

In this study, evaluation of statistical analysis was performed by using SPSS package program.

Study data was subjected to normality test (Kalmagrov Simirnov). Since this data shows a normal distribution, parametric methods were used for statistical analysis. ELISA results and percentages of obtained results were calculated in terms of sex, age, region and clinical findings. Besides, statistical comparison of body temperature, respiratory rate and heart rate belong to positive, suspected and negative animal groups were performed by using One-Way ANOVA test.

## RESULTS

### Clinical Findings

General clinical examination of animals with chronical respiratory system symptoms were performed and obtained clinical findings were recorded. MV disease positive, suspected and negative samples according to ELISA results and Xmin, Xmax and Mean±SEM values belong to these clinical findings (body temperature, respiratory rate and heart rate) were given on table 1.

**Table 1.** Body temperature, respiration and heart rates of positive, suspected and negative animal groups according to ELISA results.

**Tablo 1.** ELISA sonuçlarına göre pozitif, şüpheli ve negatif hayvan gruplarının vücut sıcaklığı, solunum ve kalp frekansları.

Clinical findings	ELISA Results	X <sub>min</sub>	X <sub>max</sub>	Mean±SEM	Significant
Body Temperature (°C)	<i>Positive</i>	38.3	42.3	39.8 ± 0.1	
	<i>Suspected</i>	39.4	40.3	39.7 ± 0.3	
	<i>Negative</i>	38.4	42.2	39.5 ± 0.2	
	<i>Total</i>	38	42	39.2 ± 0.1	0.409
Respiratory Rate (/Minute)	<i>Positive</i>	29	44	37.6 ± 0.5	
	<i>Suspected</i>	36	43	40.0 ± 2.1	
	<i>Negative</i>	27	42	36.3 ± 0.6	
	<i>Total</i>	27	44	37.3 ± 0.4	0.106
Heart Rate (/Minute)	<i>Positive</i>	80	98	87.2 ± 0.6	
	<i>Suspected</i>	80	98	94.0 ± 3.0	
	<i>Negative</i>	80	98	88.2 ± 0.7	
	<i>Total</i>	80	98	87.7 ± 0.5	0.032

P<0.05 values were accepted statistically significant.

### Serological Findings

Serum samples were analysed by using ELISA. According to the analysis, of 100 samples; positive, suspected and negative results were determined as 65 (65%), 3 (3%) and 32 (32%), respectively.

### Findings According to Sex

100 blood samples were taken randomly from 95 female and 5 male animals. While 63 of 95 samples (66.3%) taken from female animals were seropositive, 3 samples were suspected and 29

samples were negative. While 2 of 5 samples (40%) taken from male animals were seropositive, 3 samples were negative and there was not any suspected sample.

### Findings According to Age

According to the analysis, seropositivity was not determined in animals with 2 years of age. Seropositivity ratio of other age groups were given on table 2. When table 2 was analysed, seropositivity rate of the disease progress with increasing age.

**Table 2.** ELISA results and positivity rates according to the ages of sheep.

**Tablo 2.** Koyunlarda yaşa göre ELISA sonuçları ve pozitiflik oranları.

Years	Number of samples (n: 100)	Positive	Suspected	Negative	Positive Percentage (%)
2	3		1	2	0
3	11	5	1	5	45.5
4	13	7		6	54
5	20	13	1	6	65
6	20	14		6	70
7	18	13		5	72
8	15	13		2	86

### Findings According to Regions

In this study, 100 blood samples were taken from animals in Hawler, Dashti Hawler, Maxmur and Xebat in Erbil city. Number of samples and seropositivity rate were given on Table 3. When table

3 were examined, the highest seropositivity rate was determined in Hawler (73.7%). Seropositivity rate in other regions were determined in Dashti Hawler, Maxmur and Xebat as 65.4%, 64.3% and 53.8%, respectively.

**Table 3.** The prevalence rate of MVV infection in different geographical locations.

**Tablo 3.** Farklı coğrafi bölgelerdeki MVV enfeksiyonunun prevalansı.

Locations	Number of samples	Positive	Suspected	Negative	Positive Percentage (%)
Hawler	19	14	-	5	73.7
Dashti Hawler	26	17	1	8	65.4
Maxmur	42	27	2	13	64.3
Xebat	13	7	-	6	53.8

### Results According to Clinical Findings

Serological datas were given on table 4 in terms of clinical findings such as coughing, dyspnea, paralysis, emaciation, mastitis and arthritis. According to these findings; percentage of

emaciation, coughing, dyspnea, mastitis and paralysis were as 95.3%, 90.7%, 75.3%, 10.7% and 6.1%, respectively. However, none of the animals in this study showed symptoms of arthritis (Table 4).

**Table 4.** Results of clinical signs of all samples.

**Tablo 4.** Tüm örneklerin klinik bulgularının sonuçları.

Clinical sign	Positive/ Showing clinical sign	Suspected/ Showing clinical sign	Negative/ Showing clinical sign	Positive percentages (%)
Emaciation	62/65	3/3	31/32	95.3
Coughing	59/65	2/3	25/32	90.7
Dyspnea	49/65	3/3	25/32	75.3
Mastitis	7/65	0/3	0/32	10.7
Paralysis	4/65	0/3	2/32	6.1
Arthritis	0/65	0/3	1/32	0

### DISCUSSION and CONCLUSION

Maedi-Visna is a chronic and progressive viral disease most commonly seen in adult sheep and the disease is characterized by progressive interstitial pneumonia or neurological manifestations (1). The aim of this study is to reveal the presence of Maedi-Visna serologically in adult sheep in Erbil province in Iraq, which is an important area of sheep farming and also to investigate the prevalence of Maedi-Visna disease in sheep with chronic respiratory problems.

In previous studies, it was reported that Awassi sheep are sensitive to Maedi-Visna disease and it leads to infection in this breed widely. The disease is commonly observed in worldwide except New Zealand and Australia, and causes important economic losses (3,5,10,11). Several studies were performed in different regions of the world. Incidence of the disease in Poland, Austria, Canada, USA, Morocco, Finland and Switzerland was reported as 24%, 9.5%, 19%, 26%, 24.8%, 1.6% and 9%, respectively (12-18). In many countries, MV was not described and investigated until now such as Algeria, Egypt, Lebanon, Libya and Tunisia (5). In Iraq, also there is not any report about this disease.

In a study related with Awassi sheep, Seyoum et al. (19) reported seroprevalence of the disease as 38%. In another study (20), seroprevalence of the disease in Awassi sheep was reported as 6% in Syria. Norouzi et al. (21) reported seroprevalance of the disease as 34.5% in Iran. In studies performed in Turkey, seroprevalence of the disease was determined as 6.45% in Van (3), 19.4% in Kirikkale (22) and 21.1% in Şanlıurfa (10).

According to literature research, the disease was encountered to a high degree in neighbour countries of Iraq (3,10,20-22) however, there was not any study found related with the presence of disease in Erbil region, Iraq. In the current study; according to ELISA results, while 65 of 100 animals were seropositive (65%), 3 of 100 were suspected (3%) and 32 of 100 were seronegative (32%). When compared with other studies (3,10,20-22), high seropositivity was determined in our study. Because the blood samples were only obtained from animals with chronic respiratory diseases. Besides, detecting Maedi-Visna disease in animals with chronic respiratory system problems may indicate that the disease is common in the region.

In most of previous studies (14,21,23), the disease was detected in female animals more than the males. While Seyoum et al. (19) reported the seropositivity higher in male animals than females, Cutlip et al. (15) reported that there was not any statistical significance between male and female animals. In our study, seropositivity was also determined higher in female animals (66.3%) than male animals (40%).

In a study, seropositivity was reported higher in adult sheep (72.89%) than young sheep (23). In previous studies, it was also reported that seropositivity of the disease increased with age (14,24). However, Simard and Morley (14), reported that the prevalence of the disease decrease in 9 years old animals. Contrary, Lamontagne et al. (1) determined that seropositivity rates were not statistically significant in terms of age. In the present study, while none of any 2 years old animals had seropositivity, seropositivity increased in animals gradually with age. However, while seropositivity was determined in 2 years old sheep (14,15,23,24), in our study; we did not determine seropositivity in this age group. The reason of increasing seropositivity with age is due to the chronic progress of the disease and long replication period of the virus in host monocytes/macrophages (25).

According to the literature research, none of any study was performed related with Maedi-Visna disease in Erbil, Iraq. Blood samples of this study were obtained from Hawler, Deshti Hawler, Maxmur and Xebat regions in Erbil, Iraq. Seropositivity was determined as 73.7% in Hawler, 65.4% in Dashti Hawler, 64.3% in Maxmur and 53.8% in Xebat. According to these results, the disease was detected with highest prevalence in Hawler and in lowest prevalence in Xebat.

Clinical signs of Maedi occur more commonly than Visna (5,7). The clinical signs of Maedi are coughing, dyspnea, emaciation and mastitis (8). Abortions are also recorded but associated with severity of infection (1). The clinical signs of Visna are weakness in the hind legs, arthritis, weight loss and

mastitis. These signs progress to complete paralysis and sometimes CNS disorders arise. In both Maedi and Visna, body temperature increases only in terminal stage due to secondary infection (4,8). Clinical findings detected in several studies (1,8,24,26) related with Maedi Visna disease comply with findings detected in this study. In our study, clinical findings such as emaciation, coughing, dyspnea, mastitis and paralysis were determined as 95.3%, 90.7%, 75.3%, 10.7% and 6.1%, respectively, in seropositive animals. In our study, percentage of clinical symptoms detected in seropositive animals were found higher than the study performed by Lamontagne et al. (1). We presume the reason of this condition as all of the samples were obtained from adult sheep with chronic pneumonia. Lamontagne et al. (1) reported in their study that emaciation was only detected in animals older than 3 years. Similarly, we also found that emaciation was considerably high in seropositive animals. However, in another study, Benavides et al. (27) did not find any clinical findings such as dyspnea and emaciation and they did not find any findings related with respiratory system.

Besides, in other studies (9,24,26) researchers reported mastitis as a common finding, which is similar to the findings we emphasize in our study. Because in our study, all of the animals with mastitis were seropositive according to ELISA results.

While Sigurdsson et al. (28) and Pritchard et al. (29) reported neurological symptoms in adult sheep, Benavides et al. (27) and Akkoc et al. (30) reported that lambs can also show neurological symptoms. Our study was similar to Sigurdsson et al. (28) and Pritchard et al. (29), we detected neurological symptoms in some of the animals. In our study, one of the animals showed symptoms of arthritis; however, the animal was seronegative according to ELISA result. Despite the fact that Maedi-Visna may be seropositive in animals showing clinical arthritis symptoms (5); in this study, seropositivity was not determined in animals with arthritis.

As a result, Maedi-Visna was seen in animals with chronic respiratory system disease with high



rate in Erbil, Iraq. As this is the first study performed in the region related with Maedi-Visna, it is concluded that further detailed studies should be performed, determining seropositive animals with the support of regional management, control and eradication programs should begin at the earliest opportunity. We believe that this study will provide a basis for the further studies in the region.

## REFERENCES

1. Lamontagne L., Roy R., Girard A., Samagh BS., 1983. Seroepidemiological survey of Maedi-Visna virus infection in sheep and goat flocks in Quebec. *Can J Comp Med*, 47, 309-315.
2. Radostits OM., Gay CC., Hinchcliff KW., Constable PD., 2006. Diseases associated with viruses and chlamydia-II. Part 2, Special Medicine. Chapter 22. pp: 1307-1437, In "Veterinary Medicine", Ed., OM Radostits, CC Gay, KW Hinchcliff, PD Constable, 10th ed., Elsevier Saunders, New York, USA.
3. Akkan HA., Karaca M., Tutuncu M., Keles I., Ilhan F., Cetin Y., Ozkan C., Bakir B., Tasal I., 2009. Investigation of the seroprevalence of Maedi-Visna in the region of Van using ELISA and histopathological findings. *J Anim Vet Adv*, 8, 1495-1498.
4. Sargan DR., Bennet ID., Cousens C., Roy DJ., Blacklaws BA., Dalziel RG., Watt NJ., Mcconnell I., 1991. Nucleotide sequence of EV1, a British isolate of Maedi-Visna Virus. *J Gen Virol*, 72, 1893-1903.
5. Christodoulopoulos G., 2006. Maedi-Visna: Clinical review and short reference on the disease status in Mediterranean countries. *Small Rum Res*, 62, 47-53.
6. Herrmann-Hoesing LM., Noh SM., Snekvik KR., White SN., Schneider DA., Truscott T., Knowles DP., 2010. Ovine progressive pneumonia virus capsid antigen as found in CD163- and CD172a-positive alveolar macrophages of persistently infected sheep. *Vet Pathol*, 47, 518-528.
7. Anson MA., Eness PG., 1985 "Ovine Progressive Pneumonia: A Brief Overview," Iowa State University Veterinarian: Vol. 47: Iss. 2, Article 10. Available at: [http://lib.dr.iastate.edu/iowastate\\_veterinarian/vol47/iss2/10](http://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol47/iss2/10)
8. Straub OC., 2004. Maedi-Visna virus infection in sheep, history and present knowledge. *Comp Immunol Microb*, 27, 1-5.
9. Asadpour R., Paktinat S., Ghassemi F., Jafari R., 2014. Study on correlation of Maedi-Visna Virus (MVV) with ovine subclinical mastitis in Iran. *Indian J Microbiol*, 54, 218-222.
10. Gurcay M., Parmaksiz A., 2013. An investigation of Visna-Maedi virus infection in Şanlıurfa Province, Southeast Anatolia, Turkey. *AVKAE Derg*, 3, 46-50.
11. DeMartini JC., de la Concha-Bermejillo A., Carlson JO., Bowen RA., 2000. Diseases caused by. Maedi-visna and other ovine lentiviruses. Chapter 14. In "Breeding for Disease Resistance in Farm Animals" Ed., RFE Axford, SC Bishop, FW Nicholas, JB Owen, 2nd ed., CAB International, Wallingford.
12. Honger D., Leitold B., Schuller W., 1990. Serological studies of antibodies against maedi-visna virus in sheep in Austria. *Berl Munch Tierarztl*, 103, 39-41.
13. Kita J., Cutlip RC., Kempski W., Sachs J., 1990. Survey for antibodies against Maedi-Visna in sheep in Polands. *Pol Arch Weter*, 30, 5-11.
14. Simard C., Morley RS., 1991. Seroprevalence of Maedi-Visna in Canadian sheep. *Can J Vet Res*, 55, 269-273.
15. Cutlip RC., Lehmkuhl HD., Sacks JM., Weaver AL., 1992. Seroprevalence of ovine progressive pneumonia virus in sheep in the United States as assessed by analyses of voluntarily submitted samples. *Am J Vet Res*, 53, 976-979.
16. Bouljihad M., Leipold HW., 1994. Ovine lentiviral infection (Maedi-Visna) in Morocco: A serologic and postmortem survey. *J Vet Med A*, 41, 317-328.
17. Sihvonen L., Hirvela-Koski V., Nuotio L., Kokkonen U., 1999. Serological survey and epidemiological

- investigation of maedi-visna in sheep in Finland. *Vet Microbiol*, 65, 265-270.
18. Schaller P., Vogt HR., Strasser M., Nettleton PF., Peterhans E., Zanoni R., 2000. Seroprevalance of maedi-visna virus and border disease in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 142, 145-153.
  19. Seyoum Z., Bitew M., Teferi M., Gelaye E., 2011. Evaluation of control program of Maedi-Visna by foster feeding with cow colostrum and other measures. *Global Vet*, 6, 91-96.
  20. Giangaspero M., Tabbaa D., Nishikawa H., Vanopdenbosh E., 1993. Epidemiological survey of the Maedi Visna (MV) virus in Syrian Awassi sheep. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*, 46, 431-434.
  21. Norouzi B., Razavizadeh AT., Azizzadeh M., Mayameei A., Mashhadi VNN., 2015. Serological study small ruminant lentiviruses in sheep population of Horasan-e-Razavi province in Iran. *Vet Res Forum*, 6, 245-249.
  22. Azkur AK., Gazyagci S., Aslan ME., 2011. Serological and epidemiological investigation of Bluetongue, Maedi-Visna and Caprine Arthritis-Encephalitis Viruses in small ruminant in Kirikkale district in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 803-808.
  23. Garedew L., Ayelet G., Yilma R., Zeleke A., Gelye E., 2010. Isolation of diverse bacterial species associated with maedi-visna infection of sheep in Ethiopia. *Afr J Microbiol Res*, 4, 14-21.
  24. Muz D., Oguzoglu TC., Rosati S., Reina R., Bertolotti L., Burgu I., 2012. First molecular characterization of visna/maedi viruses from naturally infected sheep in Turkey. *Arch Virol*, 158, 3, 559-570.
  25. Pepin M., Vitu C., Russo P., Mornex JF., Peterhans E., 1998. Maedi-Visna virus infection in sheep: a review. *Vet Res*, 29, 341-367.
  26. Fournier D., Campbell JR., Middleton DM., 2006. Prevalence of maedi-visna infection in culled ewes in Alberta. *Can Vet J*, 47, 460-466.
  27. Benavides J., Garcia-Pariente C., Ferreras MC., Fuertes M., Garcia-Marin JF., Perez V., 2007. Diagnosis of clinical cases of the nervous form of Maedi-Visna in 4- and 6-month-old lambs. *Vet J*, 174, 655-658.
  28. Sigurdsson B., Palsson PA., Van Bogaert L., 1962. Pathology of visna. Transmissible demyelinating disease of sheep in Iceland. *Acta Neuropathol*, 1, 343-362.
  29. Pritchard GC., Done SH., Dawson M., 1995. Multiple cases of maedi and visna in a flock in the East Anglia. *Vet Rec*, 137, 443.
  30. Akkoc A., Kocaturk M., Alasonyalilar Demirer A., Senturk S., Renzoni G., Prezioso S., 2011. Maedi-Visna virus infection in a Merino lamb with nervous signs. *Turk J Vet Anim Sci*, 35, 467-470.



## Calf Metacarpal Fractures in Association with Bovine Dystocia: Case Series Among Calves

İbrahim AKIN<sup>1</sup>✉

1. Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Aydın, TURKEY.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
10.03.2017	15.05.2017	20.12.2017

**Abstract:** Metacarpal fractures related to excessive and/or inaccurately traction during delivery has been encountered in large animal livestock. The purpose of this study is presented of clinical features of metacarpal fractures in calves by regarding different applications and bone's biophysical risk factors. Medical records of metacarpal fractured calves between January 2006 and January 2013 were evaluated. After clinical and radiographically examinations, the types and localization of fractures were recorded. Regarding to the individual condition of calves and also attitude of owner, several treatment procedures were performed. Thirty-two metacarpal fractures in Holstein-Friesian calves related to extraction force were studied. All fractures were observed around that the place of the rope application. Most of the fractures [22 of 32 cases (68.75%)] were located distal 1/3 part (distal 33.3%) of the bone. Total 19 oblique, 10 transversal, 3 transversal comminuted fractures were determined. Soft tissue lesions (edema, subcutaneous and/or petechial hemorrhage) on the skin recorded concomitantly. By improving the design of fetal extraction tools and alternative applications for extraction, incidence of this complication may be reduced in the future.

**Keywords:** Assisting calving, Calf, Dystocia, Metacarpal fracture.

## Sığırlarda Güç Doğum ile İlişkili Buzağı Metakarpal Kırıkları: Buzağlar Arasından Olgu Serisi

**Öz:** Büyükbaş hayvancılık işletmelerinde, doğum sırasında aşırı çekme ve/veya yanlış uygulamalar sonucunda metakarpal kırıklara rastlanmaktadır. Bu çalışmanın amacı, farklı uygulamalara ve kemiğin biyofiziksel risk faktörlerine göre buzağılarda metakarpal kırıkların klinik özelliklerinin sunulmasıdır. Ocak 2006 ile Ocak 2013 arasında metacarpus kırığı olan buzağuların medikal kayıtları değerlendirildi. Klinik ve radyografik muayeneler sonrasında kırıkların tipleri ve lokalizasyonu kayıt altına alındı. Buzağuların bireysel koşulları ve sahibinin tutumu ile ilişkili olarak tedavi prosedürleri uygulandı. Güç doğum sonucu 32 adet Holstein-Friesian ırkı buzağıda oluşan metacarpal kırık incelendi. Tüm kırıklar halatın uygulandığı bölgenin etrafında görüldü. Kırıkların büyük bir bölümü [32 vakanın 22'si (%68.75)] kemiğin distal 1/3'ünde (distal %33.3) gözlemlendi. Toplamda 19 oblik, 10 transversal, 3 transversal parçalı kırık tespit edildi. Aynı zamanda deride yumuşak doku lezyonları (ödem, subkutaneöz ve/veya peteşiyal hemorajiler) kayıt altına alındı. Fetal ekstraksiyon araçlarının tasarımını ve ekstraksiyon için alternatif uygulamaları geliştirerek, gelecekte bu komplikasyonun insidansı azaltılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, Doğuma yardım, Güç doğum, Metakarpal kırık.

## INTRODUCTION

**E**xtremity fractures are common than other fractures (skull, spine, pelvis, sacrum etc.) in cattle (1-3) and various treatment techniques have been described (4-7). Metacarpus and metatarsus are the most fractured bones of the calves, generally occurred during dystocia (1). Dystocia may occur if there is failure in one or more of the three main components of calving; expulsive forces, birth canal adequacy and fetal size and position. Risk factors of dystocia have been categorized as maternal factors (breed, age, parity, body weight and pelvic size), fetal factors (birth weight, sex, presentation, position, posture and anomalies etc.) gestation length and sire effects. Bovine dystocia cases are associated with high economic losses in dairy farms (8). In order of descending financial importance, dystocia in confinement systems impacts production (41% of costs) and calf morbidity and mortality (25%), excluding costs associated with increased culling, veterinary costs and other management costs (9).

Inaccurately applications in dystocia have an effect on the vigour of the calf (10,11). Several researchers have been reported that inaccurately or excessive tractions during assisting calving are resulted with traumatic disorders in muscles, bones, joints, nerves and other soft tissues firstly on metacarpus and metatarsus (12-14). Metacarpal fracture is the most encountered fractures followed by metatarsal, femoral, radial and tibial fractures, respectively (13,15).

To decrease the fetal orthopedic complications and also economic losses related to bovine dystocia, retrospective evaluation of clinical cases should be considered. The aim of this study was to present the type, localization and clinical findings of metacarpal fractures that encountered in newborn calves during dystocia.

## MATERIALS and METHODS

The materials of this study were selected from patients referred as metacarpal fracture to Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Adnan Menderes University, Aydin-Turkey, between 2006 and 2013. Totally 53 metacarpal fractures were found between 2006 and 2013, and 32 cases of these patients were undergone excessive and/or inaccurately extraction in delivery. All of these 32 calves (11 female/21 male) were Holstein-Fresian and between 1-60 days old ( $13.56 \pm 19.87$ ). They were clinically examined and recorded as exposed to the extraction force with rope on metacarpus during delivery. Fractures were recorded as on the 13 right forelimbs and 19 left forelimbs. Twelve calves from the study materials, aged between 8-60 days ( $33.91 \pm 19.73$ ), were treated inappropriately, and ensued pseudoarthrose. Remainder 20 calves of the study materials were referred directly to our clinic.

Following clinic and radiographic examination, the configurations of fractures were detected. The localizations of fractures were also calculated as: "distal fragment length/total metacarpus length" on radiographs. Three treatment procedures (PVC bandage, plate osteosynthesis and external fixation) were performed according to type of fracture, health and housing conditions of animals.

The study is conducted in accordance with ethical principles of animal experiments.

## RESULTS

Age, gender, weight, limb, localization configurations of fractures are presented in Table 1. All fractures were located on the distal bone (minimum, distal 14.3%; maximum, 41.2%; mean, distal 29.01%), and 22 of 32 fractures (68.75%) were located distal 1/3 part (distal 33.3%) of the bone (Table 1), where the first loop place of the rope (Figure 1).

Total 19 oblique, 10 transversal, 3 transversal comminuted fractures were determined. Intense swelling and bruises on the surrounding soft tissues

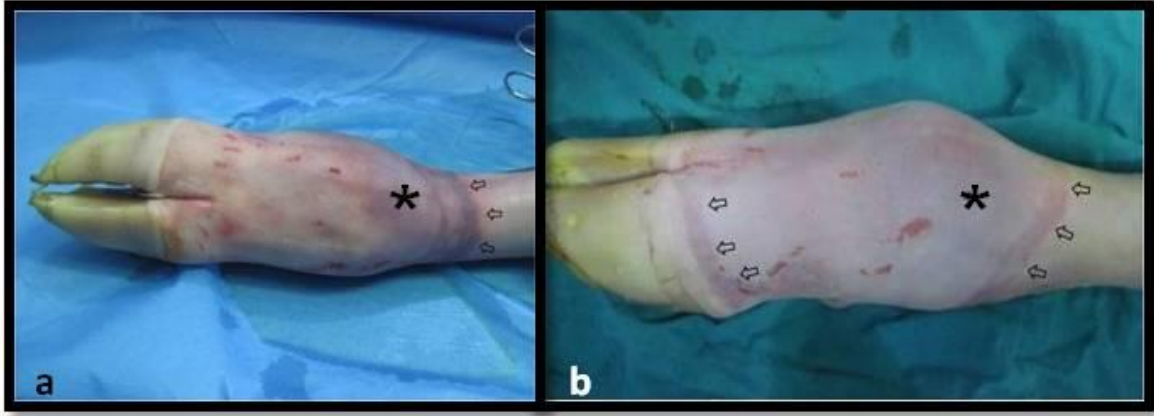
were confirmed. After shaving, soft tissue lesions (edema, subcutaneous and/or petechial hemorrhage) also demonstrated concomitantly (Figure 1a,b). Moreover, squeezed area around the fracture location caused by applied rope, impress area (Figure 1a,b), and slightly hypothermic lower limbs were recognizable during palpation. Wrong or empirical bandage applications, ensued pseudoarthrosis, were detected in oldest 12 calves (Figure 2a). One of the cases is referred with open

fracture and infection (case 32); external fixation had proposed; but owner did not bring the calf on the surgery day (Figure 2b). PVC bandage (18/32), plate osteosynthesis (11/32) and external fixation (2/32) were preferred as a treatment of the cases. Calves were monitored during next 60 days in different intervals. In post treatment controls, it was observed that 31 metacarpus fractures were recovered successfully.

**Table 1:** Characteristics of calves and fractures.

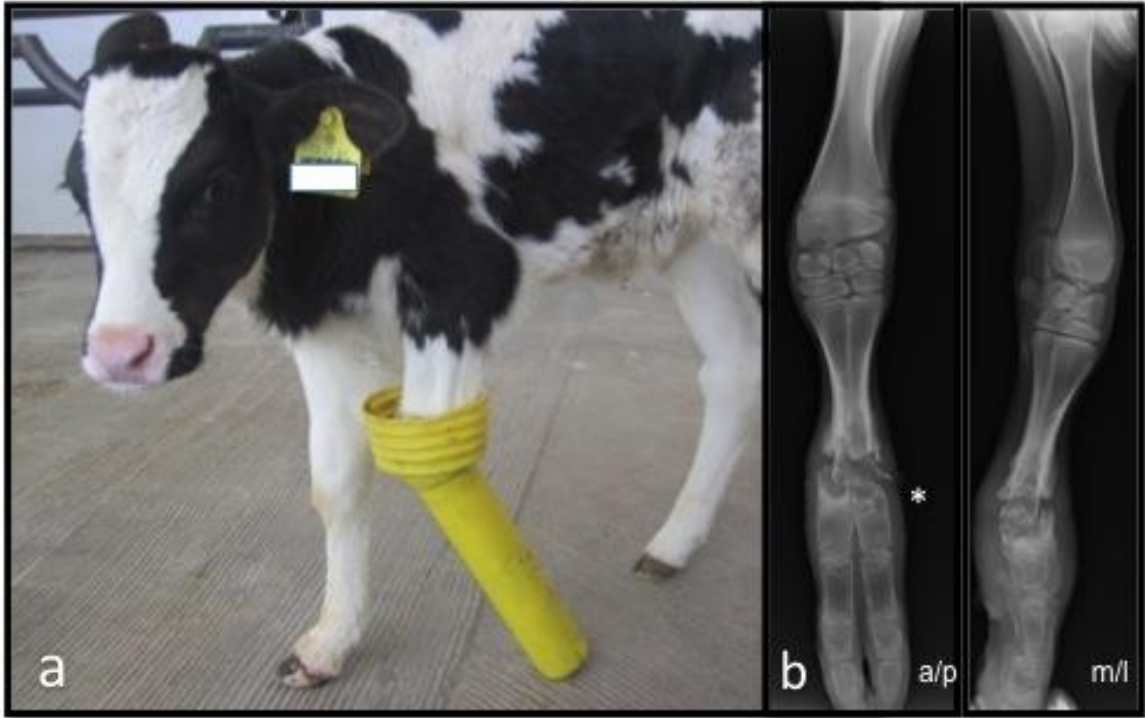
**Tablo 1:** Buzağılar ve kırıklara ait özellikler.

Case no	Gender	Age (day)	Weight (kg)	Side	Localization and configuration of fractures
1	M	1	36	L	Distal 36.1% oblique, closed
2	M	60	42	L	Distal 20.7% transversal, closed
3	M	1	38	R	Distal 17.9% oblique, closed
4	M	1	45	L	Distal 14.3% oblique, closed
5	M	2	47	R	Distal 14.3% oblique, closed
6	M	1	39	R	Distal 30.0% transversal, closed
7	M	2	45	L	Distal 33.3% transversal comminuted, closed
8	M	8	45	L	Distal 36.6% oblique, closed
9	F	1	38	L	Distal 19.4% transversal, closed
10	M	45	42	L	Distal 33.3% oblique, closed
11	M	1.5	45	L	Distal 33.3% transversal, closed
12	M	2	45	L	Distal 34.1% transversal, closed
13	M	1	40	L	Distal 35.3% transversal, closed
14	M	17	45	L	Distal 35.5% oblique, closed
15	F	1	40	R	Distal 31.4% oblique, closed
16	M	2	47	L	Distal 33.5% oblique, closed
17	M	11	35	R	Distal 37.8% oblique, closed
18	F	1	35	L	Distal 27.2% oblique, closed
19	M	60	38	R	Distal 24.5% transversal, closed
20	M	1	40	R	Distal 31.5% oblique, closed
21	F	1	35	R	Distal 30.0% oblique, closed
22	M	1	38	R	Distal 29.8% oblique, closed
23	F	34	40	R	Distal 25.8% oblique, closed
24	F	1	38	R	Distal 28.4% transversal, closed
25	F	60	34	L	Distal 15.5% oblique, closed
26	F	30	34	L	Distal 34.1% oblique, closed
27	M	22	35	L	Distal 27.0% oblique, closed
28	M	1	47	L	Distal 41.2% transversal, closed
29	M	15	40	L	Distal 35.0% transversal comminuted, closed
30	F	3	40	R	Distal 16.1% oblique, closed
31	F	1	41	R	Distal 32.1% transversal, closed
32	F	45	34	L	Distal 33.3% transversal comminuted, open



**Figure 1:** Impressed skin by the rope (arrows) on distal metacarpus (a, b) and above the hoof (b), swelling and hemorrhage (\*) on the distal metacarpus (a, b).

**Şekil 1:** Distal metacarpus (a, b) bölgesinden ip ile çekilen ayağın derisindeki şişlik ve hemorajiler (\*).



**Figure 2:** Empirical bandage applications on metacarpal fracture by owner (a), radiography (b) of transversal comminuted, open (\*) metacarpal fracture.

**Şekil 2:** Hayvanın sahibi tarafından yapılan ampirik bandaj (a), röntgen görüntüsü (b) transversal parçalı açık (\*) metacarpal kırık.

#### DISCUSSION and CONCLUSION

The west region of Turkey has considerable dairy farms where Holstein-Friesian is the principal breed. Similarly, in this study all the calves were

Holstein breed. According to our clinic records, total 53 metacarpal fractures were found between 2006 and 2013, and 60.37% of the patients were undergone excessive and/or inaccurate extraction during delivery.

Dystocia is a problem especially in first-calf heifers and cattle (8). It results many complications of calves and one of them is metacarpal fracture (11,13,14). Although birth complications with fractures are commonly encountered, limited researches are found in the literature. Seven of 27 cases (12), 108 of 181 cases (14), 21 of 31 cases (16) and 8 of 20 cases during dystocia (17) were reported metacarpal fractures in different regions of Turkey. Comparably, metacarpal fractures are the most encountered fractures during bovine dystocia (1,13).

Male calves, oversized calves and higher birth weight are in the high-risk group for the second phase of the parturition evidently (8). Similarly, 65.62% of calves was male in this study and they had higher body weight (mean, 41.62 kg) than females (mean, 37.18 kg). Based on the author's experience, breeders generally prefer female calves because of their advantages like breeding and milk yield. Due to possible relationship, female calf owners were prone to accept all offered treatment procedures, on the contrary male calf owners preferred cheaper options (PVC bandage). Additionally, probably to make a cheaper treatment, the oldest 12 calves (8 male, 4 female) had already been incorrectly bandaged. Therefore, in this study, being male calf was evaluated as a disadvantage.

The interval between the first and the last case in this study is relatively long. Therefore, some information could not have evaluated because of the missing/incomplete records (such as evaluation of lower extremity circulation, size and parity of the mother cow). The incidence of dystocia is higher in heifers than cows (8). Choosing lower birth weight bulls for to heifers' insemination may reduce the calf birth weight and dystocia, consequently the risk of metacarpal fractures. If the records of parity of mothers were completed in this study, accurate assessment might be of beneficial.

Chains, cotton, nylon ropes and mechanical calf pullers are commonly proposed for using in the extraction force (18). Metacarpal fractures occur when pulling the calf in anterior presentation. The

loop located anywhere on the metacarpus habitually slides downwards to reach up to fetlock joint and allows better emplacement. Two loops, one above the fetlock joint and the other half-hitch below the fetlock joint (above the hoof) are suggested during extraction force. These two loops, placing directly on the skin, distributes pressure when pulling the calf, and reduce the possibility of fracture than a single loop. Comparing to rope, chain application has more advantages; such as, less prevention of the blood circulation, easy to clean, sanitize and also handle (18). All calves of this study were extracted with nylon ropes; however, full information about the properties of the ropes (thickness, texture, length and suitability for extraction force) could not be recorded. The pressure zone, subcutaneous hemorrhage, hypothermic distal limbs caused by rope application were seen clearly in some cases of the study (Figure 1). Soft tissues are responsible for the blood supply through fractured bones (19), disorders of local circulation have a negative effect on the healing of fracture. Pulling period and length of extraction time should also be considered in future researches, which have not been studied in this study. In these regards, choosing of chain can reduce the recovery time of fracture.

In a previous study (20) reported that, the thinnest cortical bone and weakest section of the metacarpus are at the distal part of the bone. All fractures examined in current study were located on distal part of the metacarpus (mean, distal 29.01%). This part of the bone (above the fetlock joint) is also the area, where the compact bone changes to spongy bone and the place for the first loop of the rope. Sevil and Ocal (20) also indicated that, lateral and medial sides of the metacarpal bone is thicker than other side and may be more resistant to trauma. Regarding to this data, it may be important to prevent metacarpal fractures via applying loops by rope or chain on the placing lateral or medial sides of the bone before the extraction force. In order to reduce the pressure and prevent metacarpal fractures, the enlarged and thickened rope or chain

may be used on the above loop area. Using enlarged and thickened rope may provide to the spread and distribute to the stress on the distal part of the bone. Combination with enlarged and thickened rope and chain may be developed by the researchers and/or practitioners. Calf fractures are still an important issue in cattle breeding. Therefore, metacarpal geometry and biomechanical properties of the calf metacarpus should be investigated in laboratory or field conditions for new traction materials, models and methods. This subject would be the goal of future research for both scientists and private sector, or their cooperation.

As a conclusion, calves with lower vigour, and highly-risked ones for complications during healing of fracture increase the economic losses in dairy farms. Reconsidering the clinical cases may help to provide preventive and early treatment applications. To avoid metacarpal fractures during dystocia, developing new instruments and suggestions to proper extraction force on metacarpus would be examined. Additionally, due to the mainly fractures caused by dystocia were occurred distal part of the metacarpus, biomechanical factors of the bone should be evaluated in new born calves.

## REFERENCES

1. St Jean G., Anderson DE., 2014. Decision Analysis for Fracture Management in Cattle. *Vet Clin Food Anim* 30, 1-10.
2. Yamagishi N., Devkota B., Takahashi M., 2014. Outpatient treatment for humeral fractures in five calves. *J Vet Med Sci*, 76, 1519-1522.
3. Marchionatti E., Fecteau G., Desrochers A., 2014. Traumatic Conditions of the Coxofemoral Joint: Luxation, Femoral Head-Neck Fracture, Acetabular Fracture. *Vet Clin Food Anim*, 30, 247-264.
4. Mulon PY., Desrochers A., 2014. Indications and Limitations of Splints and Casts. *Vet Clin Food Anim*, 30, 55-76.
5. Baird AN., Adams SB., 2014. Use of the thomas splint and cast combination, walker splint, and spica bandage with an over the shoulder splint for the treatment of fractures of the upper limbs in cattle. *Vet Clin Food Anim*, 30, 77-90.
6. Nuss K., 2014. Plates, pins, and interlocking nails. *Vet Clin Food Anim*, 30, 91-126.
7. Vogel SR., Anderson DE., 2014. External skeletal fixation of fractures in Cattle. *Vet Clin Food Anim*, 30, 127-142.
8. Abdela N., Ahmed WM., 2016. Risk factors and economic impact of dystocia in dairy cows: A systematic review. *J Reprod Infertility* 7, 63-74.
9. Dematawewa CMB., Berger PJ., 1997. Effect of dystocia on yield, fertility, and cow losses and an economic evaluation of dystocia scores for Holsteins. *J Dairy Sci*, 80, 754-761.
10. Barrier AC., Ruelle E., Haskell MJ., Dwyer CM., 2012. Effect of a difficult calving on the vigour of the calf, the onset of maternal behaviour, and some behavioural indicators of pain in the dam. *Prev Vet Med*, 103, 248-256.
11. Murray CF., Leslie KE., 2013. Newborn calf vitality: Risk factors, characteristics, assessment, resulting outcomes and strategies for improvement. *Vet J*, 198, 322-328.
12. Aksoy O., Ozaydin I., Kilic E., Ozturk S., Gungor E., Kurt B., Oral H., 2009. Evaluation of fractures in calves due to forced extraction during dystocia: 27 cases (2003-2008). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 339-344.
13. Arican M., Erol H., Esin E., Parlak K., 2014. A retrospective study of fractures in neonatal calves: 181 Cases (2002-2012). *Pak Vet J*, 34, 247-250.
14. Akin I., 2014. Comparison of the mid-shaft bone geometry between fractured and non fractured femora in newborn calves. *Acta Sci Vet*, 42, 1-6.
15. Bilgili H., Kurum B., Olcay B., 1999. Researches on treatment options for long bone fractures in calves by Ilizarov technique. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 46, 299-308.
16. Gorgul OS., Seyrek-Intas D., Celimli N., Cecen G., Salci H., Akin I., 2004. Evaluation of fractures in calves: 31 cases (1996-2003). *Vet Cer Derg*, 10,



- 16-20.
17. Yanmaz LM., Kaya M., Dogan E, Okumus Z., 2014. Siğır ve buzağılardaki kırık olgularının değerlendirilmesi. Van Vet J 25, 23-26.
  18. Norman S., Youngquist RS., 2007. Parturition and Dystocia. In "Current Therapy in Large Animal Theriogenology", Ed., RS Youngquist and WR Threlfall, 2nd ed, 310-335, Elsevier, St. Louis.
  19. Anderson DE., Desrochers A., 2004. Surgery of the Bovine Musculoskeletal System. In "Farm Animal Surgery", Ed., S Fubini and NG Ducharme, 1st ed, 283-350, Elsevier, USA.
  20. Sevil F., Ocal MK., 2006. Cross-sectional geometry of the metapodial bones in the calf and ox. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 113, 423-428.





## Sıcaklık Stresine Maruz Kalan Broilerlerin Rasyonuna Katılan Vitamin C ve $\alpha$ -Lipoik Asidin Karaciğer ile But Etinde Antioksidan Metabolizma Üzerine Etkisi

Recep GÜMÜŞ<sup>1</sup>, Halit İMİK<sup>2</sup>, Hüseyin Serkan EROL<sup>3</sup>, Seçkin ÖZKANLAR<sup>3</sup>, Mesut HALICI<sup>3</sup>

1. Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received  
13.02.2017

Kabul Tarihi/Accepted  
04.04.2017

Yayın Tarihi/Published  
20.12.2017

**Öz:** Bu çalışmada sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerlerin rasyonlarına katılan vitamin C (L-askorbik asit) ve  $\alpha$ -lipoik asidin karaciğer ve but eti dokularında antioksidan metabolizma üzerine etkileri araştırıldı. Araştırmada 4 grup oluşturuldu; Kontrol (bazal rasyon + 24°C sıcaklık), Stres (bazal rasyon + 34°C sıcaklık), Vit C (bazal rasyon + 250 mg askorbik asit/kg rasyon + 34°C sıcaklık) ve ALA (bazal rasyon + 250 mg  $\alpha$ -lipoik asit/kg rasyon + 34°C sıcaklık). Araştırmanın sonunda kesilen hayvanların karaciğer ve but eti dokularında katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ile lipid peroksidasyon (LPO) ve glutatyon (GSH) seviyeleri belirlendi. Sıcaklık stresinin karaciğer ve but etinde CAT ve SOD aktiviteleri ile LPO ve GSH seviyelerini olumsuz etkilediği tespit edildi. Vitamin C'nin karaciğerde CAT ve SOD aktiviteleri ile LPO seviyesini, but etinde CAT ve SOD aktiviteleri ile GSH seviyesini önemli oranda düzelttiği belirlendi.  $\alpha$ -lipoik asidin ise karaciğerde SOD aktivitesi ile LPO ve GSH seviyelerini, but etinde LPO ve GSH seviyelerini önemli oranda düzelttiği görüldü. Sonuç olarak stres karaciğer ve but eti dokularında antioksidan metabolizmayı olumsuz etkilerken, vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit katkılarının antioksidan etkilerinin dokulara göre değişebileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:**  $\alpha$ -lipoik asit, Antioksidan metabolizma, Broiler, Sıcaklık stresi, Vitamin C.

## Effects of Dietary Vitamin C and $\alpha$ -Lipoic Acid Supplementation on Antioxidant Metabolism in Liver and Drumstick Meat Tissues for Heat Stress-Exposed Broilers

**Abstract:** The present study was aimed to investigate the effect of adding vitamin C (L-ascorbic acid) or  $\alpha$ -lipoic acid to the diet of broilers exposed to heat stress on antioxidant metabolism in liver and drumstick muscle tissues. In the study, four groups were established: Control (basal diet + 24°C temperature), Stress (basal diet + 34°C temperature), Vit C (basal diet + 250 mg L-ascorbic acid/kg ration + 34°C temperature and ALA (basal diet + 250 mg  $\alpha$ -lipoic acid/kg ration + 34°C temperature). Catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities with lipid peroxidation (LPO) and glutathione (GSH) levels were determined in the liver and drumstick meat tissues of the animals slaughtered at the end of the study. It was determined that heat stress negatively affected CAT and SOD activities with LPO and GSH levels in liver and drumstick meat tissues. Vitamin C significantly restored hepatic CAT and SOD activities with LPO levels, and drumstick CAT and SOD activities with LPO levels.  $\alpha$ -lipoic acid significantly restored hepatic SOD activity with LPO and GSH levels, and drumstick LPO and GSH levels. In conclusion, while heat stress negatively affects antioxidant metabolism in liver and drumstick meat tissues, it has been determined that the antioxidant effects of vitamin C and  $\alpha$ -lipoic acid supplementation may vary depending on the tissues.

**Keywords:**  $\alpha$ -lipoic acid, Antioxidant metabolism, Broiler, Heat stress, Vitamin C.

## GİRİŞ

**K**anatlılar için termonötral (konfor) sıcaklık aralığı 18-27 °C arasında olup ortam sıcaklığı bu değerlerin üzerine çıktığında sıcaklık stresi oluşmaktadır (1). Sıcaklık stresi en önemli çevresel faktörlerden biri olup besinlerin kullanımını olumsuz etkileyerek performans ve verimliliğin azalmasına, antioksidan savunma sistemini zayıflatarak hastalıkların insidansının artmasına ve tüm bunların sonucunda da kanatlı endüstrisinde ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2). Stres nedeniyle vücuttan vitamin-mineral atılımının artması sonucu düşük seviyedeki vitamin-mineral eksiklik derecesinin arttığı bildirilmiştir (3). Normal de vücuda giren besinlerin paylaşımı üreme payı (%30), büyüme payı (%30), sağlık payı (%10) ve yaşam payı (%30) şeklinde olurken; strese maruz kalındığında bu durumun sağlık payı (%80) ve yaşam payı (%20) şeklinde olduğu belirtilmiştir (4). Tavukların C vitaminini sentezleyebildiği bilinirken, bazı stres durumlarında bu özelliklerinin azaldığı ve dışarıdan vitamin C desteğinin çok önemli olduğu bildirilmiştir (5). Yine kanatlılarda yapılan çalışmalarda sıcaklık stresinin plazmada antioksidan vitaminlerden E, A ve C'nin konsantrasyonunu azaltarak oksidatif hasarın artmasına yol açtığı belirtilmiştir (3,6).

Vitamin C suda çözünebilen en önemli doğal antioksidanlardan biri olup, peroksidasyon başlamadan önce sulu fazda peroksil radikallerini ortamdan uzaklaştırarak lipid peroksidasyonuna karşı biyomembranları korumaktadır (7). Yine  $\alpha$ -lipoik asit hem yağda hemde suda çözünebilme özelliğine sahip olup; mitokondrial ezimler için esansiyel bir kofaktör ve serbest radikalleri yok etmek için kullanılan doğal bir antioksidandır (8). Broylelerde yapılan bir çalışmada rasyona katılan C vitamininin ette C vitamini konsantrasyonunu arttırdığı ve lipid oksidasyonunu azalttığı belirtilmiştir (9) Yine rasyona katılan  $\alpha$ -lipoik asidin broyleler etinde antioksidan metabolizma üzerinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir (10). Ayrıca  $\alpha$ -lipoik asidin kendisinin ve

indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asidin metal bağlama aktivitesine sahip oldukları için C veya E vitamini gibi doğal antioksidanları radikal veya aktif olmayan formlarından yeniden üretebildikleri belirtilmiştir (11). Yapılan çalışmalarda rasyona katılan vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit gibi doğal antioksidanlar sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiği veya tamamen ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (6,12,13).

Bu çalışmada, hayvanların serumunda yapılmış birçok araştırmadan farklı olarak but eti ve karaciğer dokularının kronik ısı stresine tepkisi ile rasyona katılan vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asidin bu tepkilere karşı oluşturdukları etkileri tespit edilmeye çalışılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Hayvanlar ve Deneme Dizaynı

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Karar No: 2007/5f). Çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Biriminde yürütüldü. Çalışmada toplam 80 adet günlük erkek broyleler (Ross 308) kullanıldı ve 4 deneme grubu (Kontrol, Stres, Vit C ve ALA) oluşturuldu. Denemenin 14. gününe kadar bütün hayvanlara konfor sıcaklığı uygulandı (sıcaklık dereceli olarak 36 °C'den 24 °C'ye düşürüldü). Denemenin 15. gününden itibaren denemenin sonuna kadar Kontrol grubuna 24 °C sıcaklık, Stres, Vit C ve ALA grupları ise ayrı odaya alınarak günün 08:00-16:00 saatleri arasında 34°C, 16:00-08:00 saatlerin de 24 °C sıcaklık uygulandı. Ayrıca deneme süresince Vit C grubunun bazal rasyonuna vitamin C (250 mg L-askorbik asit/kg rasyon), ALA grubunun bazal rasyonuna  $\alpha$ -lipoik asit (250 mg  $\alpha$ -lipoik asit/kg rasyon) ilave edildi. Tüm gruplara 42 gün süren deneme süresince 17 saat ışık uygulandı. Bazal rasyonun içeriği ve kimyasal kompozisyonu NRC (14) göre ayarlandı (Tablo 1). Rasyonun kimyasal analizleri AOAC (15)'de bildirilen metotlara göre yapıldı.

**Tablo 1.** Denemede kullanılan bazal rasyonun içeriği ve besin madde kompozisyonu.  
**Table 1.** Ingredient of basal feed and nutrient composition of experimental ration.

İçerik, %	Başlangıç 1-15. gün	Büyüme 16-28. gün	Bitiş 29-42. gün
Mısır (8.5% HP)	56.99	58.74	64.16
Mısır gluteni (60% HP)	20.00	20.00	20.00
Buğday kepeği*	7.00	7.00	7.00
Soya yağı	0.78	3.72	3.22
Soya unu (48% HP)	11.53	7.14	1.99
Kalsiyum karbonat	1.36	1.23	1.18
Dikalsiyum fosfat	1.06	0.91	1.00
L-Lizin	0.40	0.42	0.56
Tuz	0.26	0.27	0.27
Vitamin-mineral karışımı 0.2%**	0.20	0.20	0.25
Toksin bağlayıcı	0.10	0.10	0.10
Antikoksidiyal	0.10	0.10	0.10
Sodyum bikarbonat	0.10	0.09	0.09
Büyüme faktörü	0.05	0.05	0.05
Phyzyme XP TPT	0.03	0.03	0.03
DL-Metiyonin 98%	0.04	-	-
<b>Besin İçerikleri</b>			
Metabolik enerji (kcal/kg)	3000	3200	3200
Ham protein %	23	21	19

\*Rasyonuna vitamin C ve  $\alpha$ - lipoik asit katılan gruplarda katıldığı miktar kadar buğday kepeğinden düşülmüştür.

\*\*vitamin-mineral karışımı (her kg için): all-transretil asetat 1.8 mg; all-rac- $\alpha$ -tokoferol asetat 1.25 mg; menadion sodyum bisülfat 1.1 mg; riboflavin 4.4 mg; tiamin (tiamin mononitrat) 1.1 mg; vitamin B6 2.2 mg; niasin 35 mg; Ca-pantotenat 10 mg; vitamin B12 0.02 mg; folik asit 0.55 mg; d-biotin 0.1 mg; kolin klorür 175 mg; manganez (manganez oksitten) 40 mg; demir (demir sülfattan) 12.5 mg; çinko (çinko oksitten) 25 mg; bakır (bakır sülfattan) 3.5 mg; iyot (potasyum iyodürden) 0.3 mg; selenyum (sodyum selenitten) 0.15 mg.

### Biyokimyasal Analizler

Denemenin sonunda (42. gün) her gruptan rastgele seçilen altı adet broyler uygun ortamda kesilerek karaciğer ve but eti dokuları alındı. Karaciğer ve but eti dokuları sıvı azot kullanılarak homojen hale getirildi ve daha sonra biyokimyasal analiz yapılacağı güne kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

Dokulardaki SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH ve LPO miktarları belirlendi. Karaciğer ve but eti dokuları bir havanda sıvı azot ile dövülerek doku homojenatları hazırlandı. 0.5 gr doku üzerine uygun tampon maddeden 4.5 ml uygulandı (SOD: pH 7.4/0.2 mM Tris-HCl tamponu, CAT: pH 7/50 mM fosfat tamponu, GSH: pH 7.4/50 mM Tris-HCl tamponu, LPO: %10 KCl solusyonu). Karışımlar buz üzerinde ultra-turaks homojenizatör kullanılarak 15 dakika homojenize edildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzildükten sonra soğutmali santrifüjte  $4^{\circ}\text{C}$ ' de santrifüj edildi ve hazırlanan bu

süpernatantlarda UV-Vis spektrofotometre kullanılarak biyokimyasal ölçümler gerçekleştirildi.

### SOD Aktivitesi

SOD aktivitesi Sun ve ark. (16) tarafından tarif edilen yöntemle ölçüldü. SOD tahmini, nitro blue tetrazolium (NBT) ile reaksiyona girerek formazan oluşturan ksantin ve ksantin oksidaz tarafından süperoksit radikallerinin üretilmesine dayanmaktadır. SOD aktivitesi daha sonra bu reaksiyonun inhibisyon derecesine göre 560 nm'de ölçüldü ve sonuçlar mmol/dk/mg doku olarak ifade edildi.

### CAT Aktivitesi

Katalaz aktivitesi Aebi'nin belirttiği yöntemle ölçüldü (17). CAT varlığında  $\text{H}_2\text{O}_2$  ayrışımı 240 nm'de takip edildi. CAT aktivitesi, pH 7.8'de ve  $25^{\circ}\text{C}$ ' de dakikada 1 mmol  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'yi ayrıştırmak için gereken enzim miktarı olarak tanımlandı. Sonuçlar mmol/dk/mg doku olarak ifade edildi.

**Total GSH**

Dokulardaki GSH miktarı Sedlak ve Lindsay (18) tarafından geliştirilen yöntem esas alınarak belirlendi. Dokular pH 7.5'te 20 mM EDTA içeren 2 ml 50 mM Tris-HCl tamponunda homojenize edildi. Daha sonra 2 ml etanol ilave edildi (proteinleri çöktürmek için) ve homojenat 3000g 4 °C'de 40 dakika süreyle santrifüj edildi. Süpernatantlar 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) (DTNB) kullanılarak GSH seviyesinin belirlenmesinde kullanıldı. Absorbans 412 nm'de ölçüldü ve dokuların GSH düzeyi nmol/g doku olarak ifade edildi.

**LPO Seviyesinin Belirlenmesi**

Dokularda LPO seviyesi, tiyobarbitürik asit testi kullanılarak malondialdehit (MDA) miktarı tahmin edilerek belirlendi (19). Dokular kazındı, tartıldı ve 10 ml 100 g/l KCl çözeltisi kullanılarak homojenize edildi. Homojenata (0.5 ml), 80g/l sodyum laurilsülfattan 0.2 ml, 200g/l asetik asitten 1.5 ml, 1.5 ml 8g/l 2-tiyobarbitürattan 1.5 ml ve 0.3 ml distile su ihtiva eden bir çözelti ilave edildi. Karışım, 98 ° C'de 1 saat inkübe edildi. Soğutulduktan sonra, 5 ml n-bütanol:

piridin (15: 1) ilave edildi. Karışım 1 dakika vortekslenildi ve sonra 30 dakika 4000 devir/dk hızında santrifüj edildi. Süpernatantın absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standart eğrisi 1,1,3,3-tetrametoksipropan kullanılarak elde edildi. Geri kazanım oranı %99'un üzerindeydi. Sonuçlar nmol MDA/g doku olarak ifade edildi.

**İstatistiksel Analiz**

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 20 (20) paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önem kontrolü için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulandı.

**BULGULAR**

Sıcaklık stresi karaciğer ve but eti dokularında CAT aktivitesini önemli oranda düşürürken, C vitamininin her iki dokudada düşen CAT aktivitesini önemli derecede arttırdığı (P<0.01), fakat α-lipoik asidin etkisinin olmadığı belirlendi (P>0.05) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Sıcaklık stresi uygulanan broylerlerin rasyonuna katılan Vitamin C ve α-lipoik asidin antioksidan metabolizma üzerine etkileri.

**Table 2.** Effects of vitamin C and α-lipoic acid dietary supplementations on antioxidant metabolism of broilers to heat stress.

Parametreler	Gruplar				P değeri
	Kontrol	Stres	Vit C	ALA	
CAT, mmol/dk/mg doku					
Karaciğer	3.500±0.110 <sup>b</sup>	2.572±0.052 <sup>c</sup>	5.372±0.264 <sup>a</sup>	2.437±0.059 <sup>c</sup>	**
But eti	1.375±0.065 <sup>a</sup>	0.192±0.023 <sup>c</sup>	0.319±0.008 <sup>b</sup>	0.184±0.009 <sup>c</sup>	**
SOD, mmol/dk/mg doku					
Karaciğer	0.127±0.005 <sup>c</sup>	0.190±0.010 <sup>a</sup>	0.152±0.007 <sup>b</sup>	0.154±0.007 <sup>b</sup>	**
But eti	0.170±0.008 <sup>c</sup>	0.257±0.011 <sup>a</sup>	0.214±0.016 <sup>b</sup>	0.252±0.002 <sup>a</sup>	**
GSH, nmol/g doku					
Karaciğer	0.113±0.001 <sup>c</sup>	0.152±0.002 <sup>b</sup>	0.154±0.002 <sup>b</sup>	0.335±0.017 <sup>a</sup>	**
But eti	0.265±0.021 <sup>a</sup>	0.161±0.001 <sup>c</sup>	0.186±0.009 <sup>b</sup>	0.207±0.011 <sup>b</sup>	**
LPO, nmol MDA/g doku					
Karaciğer	0.628±0.029 <sup>d</sup>	1.895±0.066 <sup>a</sup>	1.370±0.023 <sup>b</sup>	0.868±0.050 <sup>c</sup>	**
But eti	1.496±0.051 <sup>b</sup>	2.637±0.037 <sup>a</sup>	2.871±0.123 <sup>a</sup>	1.690±0.100 <sup>b</sup>	**

Bütün değerler ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. (n=6).

a, b, c, d: Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arası fark önemlidir (\*\*: P<0.01)

CAT; Katalaz, SOD; Süperoksit dismutaz, GSH; Glutasyon ve LPO; Lipid peroksidasyon. Kontrol; bazal rasyon + 24 °C sıcaklık, Stres; bazal rasyon + 34 °C sıcaklık, Vit C; bazal rasyon + 250 mg L-askorbik asit/kg rasyon +34 °C sıcaklık, ALA; bazal rasyon + 250 mg α-lipoik asit/kg rasyon +34 °C sıcaklık.

Karaciğer dokusunda sıcaklık stresinin arttırdığı SOD aktivitesini vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asidin önemli oranda düşürdüğü görüldü ( $P<0.01$ ) (Tablo 2). But eti dokusunda sıcaklık stresi ile artan SOD aktivitesini C vitamininin önemli derecede azalttığı ( $P<0.01$ ),  $\alpha$ -lipoik asidin ise etkisinin olmadığı tespit edildi ( $P>0.05$ ) (Tablo 2).

Karaciğer dokusunda GSH seviyesinin en düşük kontrol grubunda, en yüksek ALA grubunda olmak üzere stres ve Vit C gruplarında yükseldiği belirlendi. ( $P<0.01$ ) (Tablo 2). Sıcak stresinin but etinde GSH seviyesini önemli derecede düşürdüğü, vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit uygulamalarının düşen GSH seviyesini önemli derecede arttırdığı tespit edildi ( $P<0.01$ ) (Tablo 2).

Sıcak stresinin karaciğer ve but eti dokularında LPO oranını önemli derecede arttırdığı ( $P<0.01$ ),  $\alpha$ -lipoik asidin her iki dokuda artan LPO oranını önemli derecede azalttığı belirlendi ( $P<0.01$ ) (Tablo 2). Vitamin C'nin ise karaciğerde artan LPO oranını önemli derecede azalttığı ( $P<0.01$ ), ancak but etinde etkisinin olmadığı tespit edildi ( $P>0.05$ ) (Tablo 2).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik ısı stresi broyler yetiştiriciliğinde çok sık karşılaşılan problemlerden biri olup hayvanların ısı stresine adaptasyonunu kolaylaştırmak için rasyona anti-stres ve antioksidan özellik gösteren yem katkı maddeleri ilave edilmektedir (21). Singlet oksijen, hidroksil radikalleri, peroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS), mitokondriyal solunum sırasında elektron kaybı ile oluşan süperoksit anyonunun formunun bozulması nedeniyle hücreler içinde çeşitli oksidaz enzimleri tarafından sürekli olarak üretilir (22). Yine sıcaklık ile birlikte birçok kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonun hızı artacağı için vücut sıcaklığı yükseldiğinde hücrelerde ve dokulardaki hızlanan metabolik reaksiyonların sonucunda ROS oluşumu da artmaktadır (23). Memeli hücreleriyle yapılan çalışmada, hiperterminin (45 °C, 20 dk) hücresel serbest radikallerin üretimini arttırdığı belirtilmiştir

(24). Ayrıca sıcaklık stresi hücrelerde (Çin hamsterı yumurtalık hücreleri) redoks dengesizliği ve oksidatif stres GSH/GSSG oranını azaltmakta ve sıcaklık şoku nedeniyle oksidanların sitotoksitesini arttırılabilmektedir (25). Ayrıca sağlam hayvanlar üzerinde yapılan araştırmada hipertermik farelerin portal dolaşımında ROS oluşumunun arttığı bildirilmiştir (23). Bu nedenle, oksijen merkezli serbest radikal oluşumunun ve sitotoksik oksidanların üretimi arttığında ortaya çıkan oksidatif stresin kısmen sıcaklık kaynaklı hücre hasarına aracılık edebileceği öne sürülmektedir (25). Yine yapılan bir çalışmada tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerin (TBARS) konsantrasyonunun karaciğerde önemli ölçüde artması ancak kalpte değişmemesi, karaciğerin sıcaklık maruziyeti sırasında oksidatif strese kalpten daha fazla duyarlı olduğunu göstermektedir (26). Muhtemel sebep, karaciğerin yüksek miktarda doymamış yağ asidi içermesi ve antioksidan sistemdeki göreceli değişikliklerle ilişkili olabilir. Çalışmamızda sıcaklık stresinin karaciğer dokusunda LPO seviyesini kontrol grubuna göre önemli miktarda arttırdığı, vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit uygulamalarının da artan LPO seviyesini düşürdüğü görüldü. But etinde de stres LPO seviyesini yükseltirken, C vitamininin etkisinin olmadığı ancak  $\alpha$ -lipoik asidin artan LPO seviyesini önemli düzeyde düşürdüğü belirlendi. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak; broyler rasyonuna ilave edilen 150 mg/kg  $\alpha$ -lipoik asidin ette TBARS düzeyini azalttığı, etin antioksidan durumunu iyileştirdiği bildirilmiştir (27). Bıldırcınlarda yapılan çalışmada rasyona katılan vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asidin göğüs etinde sıcaklık stresinin arttırdığı LPO seviyesini önemli düzeyde düşürdüğü tespit edilmiştir (6). Yine ratlarda (28) ve broylerlerde yapılan çalışmalarda  $\alpha$ -lipoik asidin ette serbest radikal üretimini ve MDA konsantrasyonunu azalttığı belirtilmiştir (29). Wang ve ark. (30) yaptıkları çalışmada rasyona katılan 300 ve 600 mg/kg dozundaki  $\alpha$ -lipoik asidin keçilerin serumunda MDA seviyesini önemli düzeyde düşürdüğünü, total antioksidan kapasitesini ise arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ve diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında rasyona katılan

vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asidin stres nedeniyle yükselen LPO seviyesini önemli oranda düzelttiği söylenebilir.

Yem takviyesi olarak vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit birçok biyolojik fonksiyona sahiptirler (31).  $\alpha$ -lipoik asit ve indirgenmiş formu olan dihidrolipoik asit, singlet oksijen, hidroksil radikalleri, süperoksit anyon radikalleri, peroksil radikalleri ve hidrojen peroksit gibi oksidasyonlarla reaksiyona girerek hücre hasarların en aza indirgenmesini sağladığı, aynı zamanda memeli hücrelerinde en çok bulunan antioksidan olan GSH'ın hücre içi seviyesini arttırdığı belirtilmiştir (32). Yine  $\alpha$ -lipoik asit uygulamasının broylerlerde stres nedeniyle düşen serum (33) ve karaciğer GSH seviyelerini önemli düzeyde iyileştirdiği tespit edilmiştir (10). Halıcı ve ark. (6) sıcaklık stresi uygulanan bıldırcınların göğüs etinde düşen GSH seviyesini  $\alpha$ -lipoik asidin önemli düzeyde arttırdığını ancak C vitamininin etkili olmadığını bildirmişlerdir. Lu ve ark. (33)'da ortamdaki amonyak miktarını yükselterek strese sokulan broylerlerde  $\alpha$ -lipoik asidin serumda düşen GSH-Px aktivitesini önemli düzeyde arttırdığını tespit etmişlerdir. Wang ve ark. (30)'da rasyona katılan 600 mg/kg dozundaki  $\alpha$ -lipoik asidin keçilerin serumunda GSH seviyesini önemli düzeyde arttırdığını bildirmişlerdir. Bu bulgulara benzer olarak bu çalışmada da  $\alpha$ -lipoik asit hem karaciğer hem de but eti dokusunda stresin düşürdüğü GSH seviyesini önemli düzeyde yükseltmiştir. Vitamin C ise karaciğer dokusunda etkili olmaz iken but eti dokusunda GSH seviyesini olumlu etkilemiştir. Sonuçlara bakıldığında kullanılan katkıların metabolik faaliyetlerin en yoğun olduğu karaciğerin yanında et dokusunda da belirgin antioksidan etkilerinin olduğu ve bu etkilerinin etlerin raf ömrü süreleri üzerinde önemli olabileceği düşünülmektedir.

Stres karaciğer ve but eti dokularında CAT aktivitesini baskımlarken vitamin C uygulamasının her iki dokuda da olumlu etkisinin olduğu,  $\alpha$ -lipoik asidin ise etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Yine karaciğer ve but eti dokularında stresin arttırdığı SOD aktivitesini C vitamininin düşürdüğü,  $\alpha$ -lipoik asidin ise sadece karaciğer dokusunda düşürdüğü

belirlenmiştir. Sonuçlarımızdan farklı olarak Guo ve ark. (10) broylerlerde yaptıkları çalışmalarında rasyona katılan 500 mg/kg  $\alpha$ -lipoik asidin karaciğer dokusunda CAT ve SOD aktiviteleri ile total antioksidan kapasitesini önemli düzeyde iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Wang ve ark. (30) rasyona katılan 600 mg/kg dozundaki  $\alpha$ -lipoik asidin keçilerin serumunda SOD ve CAT aktivitelerini önemli düzeyde iyileştirdiğini belirtmişlerdir. Yine sıcaklık stresi uygulanan bıldırcınların göğüs etinde azalan CAT enzim aktivitesi üzerine C vitamininin etkisinin olmadığı ancak  $\alpha$ -lipoik asidin azalan CAT enzim aktivitesini önemli düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (6). Castellini ve ark. (34) tavşanlara uygulanan C vitamininin (500 ve 1000 mg/kg rasyon) kaslardaki E vitamininin miktarını arttırarak ette oksidatif süreci geciktirdiğini bildirmişlerdir. Bu bilginin aksine Lauridsen ve ark. (35) rasyona ilave edilen 420-840 mg/kg C vitamininin, donmuş etlerde depolama esnasında oksidatif stabiliteyi etkilemediğini bildirmişlerdir. Skşivan ve ark. (9) broyler rasyonuna ilave edilen 280-560 mg/kg rasyon dozlarındaki C vitamininin depolanan etlerde 5. gündeki TBARS seviyesini önemli düzeyde düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında C vitamininin her iki dokuda stres nedeniyle baskılanan CAT aktivitesini önemli düzeyde iyileştirdiği ve stres nedeniyle hayvanda oluşabilecek olumsuzlukların (verim kaybı, hastalık vb.) önlenmesinde kullanılan sentetik katkıların yerine kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, çok sayıda etken tarafından meydana getirilen stres, kanatlı hayvanlarda pek çok doku ve sistemi etkileyerek önemli verim kayıplarına yol açmaktadır. Söz konusu olumsuz etkilerin azaltılması ya da ortadan kaldırılabilmesi için ya stres unsurunun yok edilmesi ya da hayvanın strese karşı daha dirençli olması gerekmektedir. Bu çalışmada sıcaklık stresine maruz bırakılan broylerin rasyonuna C vitamini ve  $\alpha$ -lipoik asit katılmasının antioksidan metabolizmada enzimatik savunmada görevli olan SOD ve CAT enzim aktiviteleri ile GSH seviyesi üzerine olumlu etkilerinin olduğu ve dokularda lipid oksidasyonunun göstergesi olarak



bilinen LPO seviyesini önemli oranda düşürdüğü görülmüştür. Genel olarak, sıcaklık stresinin broylerler üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerin giderilmesinde C vitamini ve  $\alpha$ - lipoik asidin antioksidan yem katkı maddesi olarak katılmalarının faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. McKee JS., Harrison PC., Riskowski GL., 1997. Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal. *Poult Sci*, 76, 1278-1286.
2. Bollengier-Lee S., Mitchell MA., Utomo DB., Williams PE., Whitehead CC., 1998. Influence of high dietary vitamin E supplementation on egg production and plasma characteristics in hens subjected to heat stress. *Br Poult Sci*, 39, 106-112.
3. Siegel HS., 1985. Immunological responses as indicators of stress. *Worlds Poult Sci J*, 41, 36-44.
4. Siegel BP., Gross WB., 2000. General principles of stress and well-being. In 'Livestock Handling and Transport', Ed., T Gandin, 2nd ed., pp. 27-41, Fort Collins, CO: CABI publishing
5. Pardue SL., Thaxton JP., 1986. Ascorbic acid in poultry: a review. *Worlds Poult Sci J*, 42, 107-123.
6. Halıcı M., Imik H., Koç M., Gümüş R., 2012. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid, vitamins E and C upon the heat stress in Japanese quails. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 96, 408-415.
7. McDowell LR., 2000. Vitamin C. In: *Vitamins in animal and human nutrition*. Second edition. Iowa State University Press/Ames, pp 597-640.
8. Bergamini CM., Gambetti S., Dondi A., Cervellati C., 2004. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr Pharm Des*, 10, 1611-1626.
9. Skrivan M., Marounek M., Englmaierova M., Skrivanova E., 2012. Influence of dietary vitamin C and selenium, alone and in combination, on the composition and oxidative stability of meat of broilers. *Food Chem*, 130, 660-664.
10. Guo ZY., Li JL., Zhang L., Jiang Y., Gao F., Zhou GH., 2014. Effects of alpha-lipoic acid supplementation in different stages on growth performance, antioxidant capacity and meat quality in broiler chickens. *Br Poult Sci*, 55, 635-643.
11. Bilska A., Wlodek L., 2005. Lipoic acid - the drug of the future? *Pharmacol Rep*, 57, 570-577.
12. Sohaib M., Anjum FM., Khan MI., Arshad MS., Yasin M., Shahid M., 2013. Effect of  $\alpha$ -lipoic acid and  $\alpha$ -tocopherol acetate enriched broiler diet on oxidative stability and quality of broiler leg meat and meat products. *J Food Process Technol*, 4, 243-250.
13. Khan MI., Shehzad K., Arshad MS., Sahar A., Shabbir MA., Saeed M., 2015. Impact of dietary  $\alpha$ -lipoic acid on antioxidant potential of broiler thigh meat. *J Chem*, 2015, 1-8.
14. NRC., 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*, 9th revision & edition. National Academy Press, Washington, DC.
15. AOAC., 1990. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Vol. I, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists Publishing, Arlington, VA.
16. Sun Y., Larry WO., Ying L., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, 497-500.
17. Aebi H., 1984. Catalase. *Methods enzymol*, 105, 121-126.
18. Sedlak J., Lindsay RH., 1968. Estimation of total, protein-bound, and non-protein sulfhydryls groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*, 25, 192-205.
19. Ohkawa H., Ohishi H., Yagi K., 1979. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, 351-358.
20. SPSS., 2011. *Statistical Packages for the Social Sciences*, 20 ed. IBM Inc., Chicago.
21. Imik H., Ozlu H., Gumus R., Atasever MA., Urcar S., Atasever M., 2012. Effects of ascorbic acid and  $\alpha$ -lipoic acid on performance and meat quality of broilers subjected to heat stress. *Br Poult Sci*, 53, 800-808.
22. Fridovich I., 1978. *The biology of oxygen radicals*.

- Science, 201, 875-880.
23. Hall DM., Buettner GR., Matthes RD., Gisolfi CV., 1994. Hyperthermia stimulates nitric oxide formation: electron paramagnetic resonance detection of. NO-heme in blood. *J App Physiol*, 77, 548-553.
  24. Flanagan SW., Moseley PL., Buettner GR., 1998. Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia: detection by electron paramagnetic resonance spin trapping. *FEBS letters*, 431, 285-286.
  25. Lord-Fontaine S., Averill-Bates DA., 2002. Heat shock inactivates cellular antioxidant defenses against hydrogen peroxide: protection by glucose. *Free Radic Biol Med*, 32, 752-765.
  26. Lin H., Decuypere E., Buyse J., 2006. Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 144, 11-17.
  27. Arshad MS., Anjum FM., Asghar A., Khan MI., Yasin M., Shahid M., El-Ghorab AH., 2011. Lipid stability and antioxidant profile of microsomal fraction of broiler meat enriched with  $\alpha$ -lipoic acid and  $\alpha$ -tocopherol acetate. *J Agric Food Chem*, 59, 7346-7352.
  28. Savitha S., Tamilselvan J., Anusuyadevi M., Panneerselvam C., 2005. Oxidative stress on mitochondrial antioxidant defense system in the aging process: Role of DL- $\alpha$ -lipoic acid and L-carnitine. *Clin Chim Acta*, 355, 173-180.
  29. Hamano Y., 2014. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid supplementation on sexual difference of growth performance, heat exposure-induced metabolic response and lipid peroxidation of raw meat in broiler chickens. *Br Poult Sci*, 55, 343-350.
  30. Wang D., Zhou L., Zhou H., Hou G., Shi L., 2017. Effects of dietary  $\alpha$ -lipoic acid on carcass characteristics, antioxidant capability and meat quality in Hainan black goats. *Italian J Anim Sci*, 16, 61-67.
  31. Mahmoud KZ., Edens FW., Eisen EJ., Havenstein GB., 2004. Ascorbic acid decreases heat shock protein 70 and plasma corticosterone response in broilers (*Gallus gallus domesticus*) subjected to cyclic heat stress. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 137, 35-42.
  32. Packer L., Witt EH., Tritschler HJ., 1995. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic Biol Med*, 19, 227-250.
  33. Lu M., Bai J., Wei F., Xu B., Sun Q., Li J., Wang G., Tang X., Zhang H., Yin Q., Li S., 2017. Effects of alpha-lipoic acid supplementation on growth performance, antioxidant capacity and biochemical parameters for ammonia-exposed broilers. *Anim Sci J*, 88, 1220-1225.
  34. Castellini C., Dal Bosco A., Bernardini M., 2001. Improvement of lipid stability of rabbit meat by vitamin E and C administration. *J Sci Food Agric*, 81, 46-53.
  35. Lauridsen C., Jensen C., Jakobsen K., Engberg RM., Andersen JO., Jensen SK., Bertelsen G., 1997. The influence of vitamin c on the antioxidative status of chickens in vivo at slaughter and on the oxidative stability of broiler meat products. *Acta Agr Scand A An Sci*, 47, 187-196.



## Civcivlerde Adrenal Bezin Gelişimi Üzerine Farklı Fotoperiyotların Etkisi

Zekeriya ÖZÜDOĞRU<sup>1</sup>✉, Derviş ÖZDEMİR<sup>1</sup>, Hülya BALKAYA<sup>1</sup>, Hülya KARA<sup>1</sup>, Seval ÖZÜDOĞRU<sup>2</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
01.03.2017	04.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu çalışma civcivlerde böbreküstü bezlerinin gelişimi üzerine çeşitli aydınlatma programlarının etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 144 broyler (ROS 308) civciv kullanıldı. Civcivlerin kuluçkadan çıktıktan hemen sonra cinsiyetleri belirlenerek, erkek ve dişi olmak üzere iki gruba ayrıldıktan sonra, 16 saat (16A-8K) ve 24 saat (24A-0K) olmak üzere iki aydınlatma grubuna ayrıldı. Bu çalışmada, toplam 288 adrenal bezin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıklarının morfolojik özellikleri ölçüldü. Morfolojik analizde, 1 ve 8 günlük civcivlerin sağ ve sol adrenal bez ağırlıkları, 24 saatlik aydınlatma grubundaki civcivlerden istatistiksel olarak farklıydı ( $P<0.05$ ). Ayrıca 16 saatlik aydınlatma grubu (16A-8K) ve 24 saatlik aydınlatma grubu (24A-0K) içinde 14 ve 42 günlük civcivlerin sol böbreküstü bezi kalınlığı kontrol grubuna göre (16A-8K) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ( $P<0.01$ ). Erkeklerde sağ adren'in ağırlığına bakıldığında dişilerden daha ağır olduğu belirlenmiştir ( $P<0.01$ ).

**Anahtar Kelimeler:** Adrenal bez, Anatomi, Civciv, Fotoperiyot.

## The Effects of Various Photoperiods on Development of Adrenal Gland in Chicks

**Abstract:** This study was carried out to investigate the effects of various photoperiods on development of adrenal gland in chicks. The study population was consisted of 144 broiler (ROS 308) chicks. As soon as they hatched, the sex of chicks were determined. The chicks were divided into two groups as male and female. Then the chicks were assigned into two photoperiod groups as 16 hours (16L-8D) and 24 hours (24L-0D). In this study, a total of 288 adrenal glands morphologic characteristics such as the diameters and weights were measured. In the morphologic analysis, right and left adrenal gland weight of the first and eighth days old chicks were statistically different from related aged chicks in 24 h photoperiod group ( $P<0.05$ ). In addition, left adrenal gland width of 14 and 42 days old animals in 16 hours photoperiod group (16L-8D) and in 24 hours photoperiod group (24L-0D) were significantly increased compared with control group ( $P<0.01$ ). Right adrenal gland weight of males groups were heavier than females groups ( $P<0.01$ ).

**Keywords:** Adrenal gland, Anatomy, Chick, Photoperiod.

## GİRİŞ

**B**öbreküstü bezleri (glandula suprarenalis, adren) bütün hayvanlarda önemli organlardır. Bu bezler her türlü strese karşı vücudun dengesinin sağlanmasında önemli bir yardımcı rol oynar ve ürettikleri hormonlara gündelik hayatta pek çok yönden ihtiyaç duyulur (1,2).

Kuşların glandula suprarenalis'lerinin korteksinde glukokortikoidler (kortikosteron) ve mineralokortikoidler (aldosteron), medullasında katekolaminler (norepinefrin ve epinefrin) üretilir. Kuşlarda adrenal bezin deneysel olarak alınması ölümlü sonuçlanmıştır (3).

Glandula suprarenalis'ler, kanatlılarda karın boşluğunun dorsalinde (4), aorta abdominalis (5-6) ve vena cava caudalis'in (7) her iki tarafındaki böbreklerin cranial'inde (8-10) bulunurlar. Bezin şekli çok değişkendir. Türler arasında hatta bireyler arasında da değişiklikler görülebilir. Tavuk (4,6,7), güvercin (6) ve ördeklerin (4) sağ adrenal bezleri üç köşeli bir piramit, soldaki ise düzensiz veya yumurta şeklindedir. Adrenal bezin, tavukta Kahvecioğlu ve Çalışlar (6) kırmızımsı sarı veya açık kahverengi, Özkan ve ark. (4) sarımsı-bej, Humayun ve ark. (7) ise krem sarısından kahverengiye kadar değişen renklerde olduğunu, Fitzgerald (8) bildirdiğinde, Tang ve ark. (10) devekuşu civcivlerinde, Carsia ve Harvey (11) kuşlarda sarı renkli olduğunu bildirmişlerdir.

Adren tavuklarda 13 mm uzunluğunda, 8 mm yüksekliğinde ve 4.5 mm kalınlığındadır. Ağırlığı 0.08-0.46 gr arasındadır. Erkeklerde daha ağır olabilmektedir (6). Humayun ve ark. (7) tavuklarda sağ adrenal bezin soldan daha kalın ve daha geniş, sol adrenal bezin ise sağdan daha uzun ve daha ağır olduğunu bildirmişlerdir. Özkan ve ark. (4) tavuk-horoz ve ördekte sağ adrenal bezin soldan daha büyük olduğunu rapor etmişlerdir.

Çeşitli fotoperiyot programlarının, hayvanların karkas özellikleri ve vücut gelişimi üzerine etkileri ile ilgili bazı çalışmalar (12,13) mevcut olmasına karşın,

adren üzerine farklı fotoperiyotların etkisi ile ilgili kapsamlı morfolojik bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Sunulan bu çalışma ile adrenal bezin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıkları üzerine aydınlatma programları ve cinsiyetin etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Deneme, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Birimi Kanatlı Ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Hayvan materyali olarak 144 adet Ross-308 broyler civciv kullanılmıştır. Civcivlerin bir günlük yaşta, kanat tüylerine bakılarak cinsiyet tayinleri yapılmış ve sekiz gün süreyle ana makinelerinde barındırılmışlardır. Sekizinci günden sonra civcivler iki farklı ışıklandırma programının uygulandığı farklı iki kümese aktarılmıştır. Birinci küme, sürekli aydınlatma programı (24A: 0K) ve ikinci küme, sabit aydınlatma programı (16A: 8K) uygulanmıştır. Civcivlerin organ gelişimlerini belirlemek amacıyla, kuluçka çıkışından hemen sonra ve sekizinci günde 12 erkek ve 12 dişi civciv olmak üzere toplam 24 tanesi usulüne uygun olarak kesilmiştir. Sürekli ve sabit aydınlatmanın yapıldığı kümeslerde çalışmanın 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde canlı ağırlıklar tespit edilmiştir. Her iki muamele grubuna ait bölmelerden alt grup ortalamasına en yakın olan 6 erkek ve 6 dişi olmak üzere toplam 120 adet broyler usulüne uygun olarak kesilmiştir. Kesilen broylerlerden böbrek üstü bezleri ayrılmıştır. Organ ağırlıkları 0.01 g ve 0.1 g hassasiyetli terazi yardımıyla tartılmıştır. İsimlendirme için kullanılan terimlerde Nomina Anatomica Avium (14) esas alınmıştır. Çalışma için gerekli izin Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Alt Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 22.02.2017, sayı:2017/10).

**İstatistiksel Analiz**

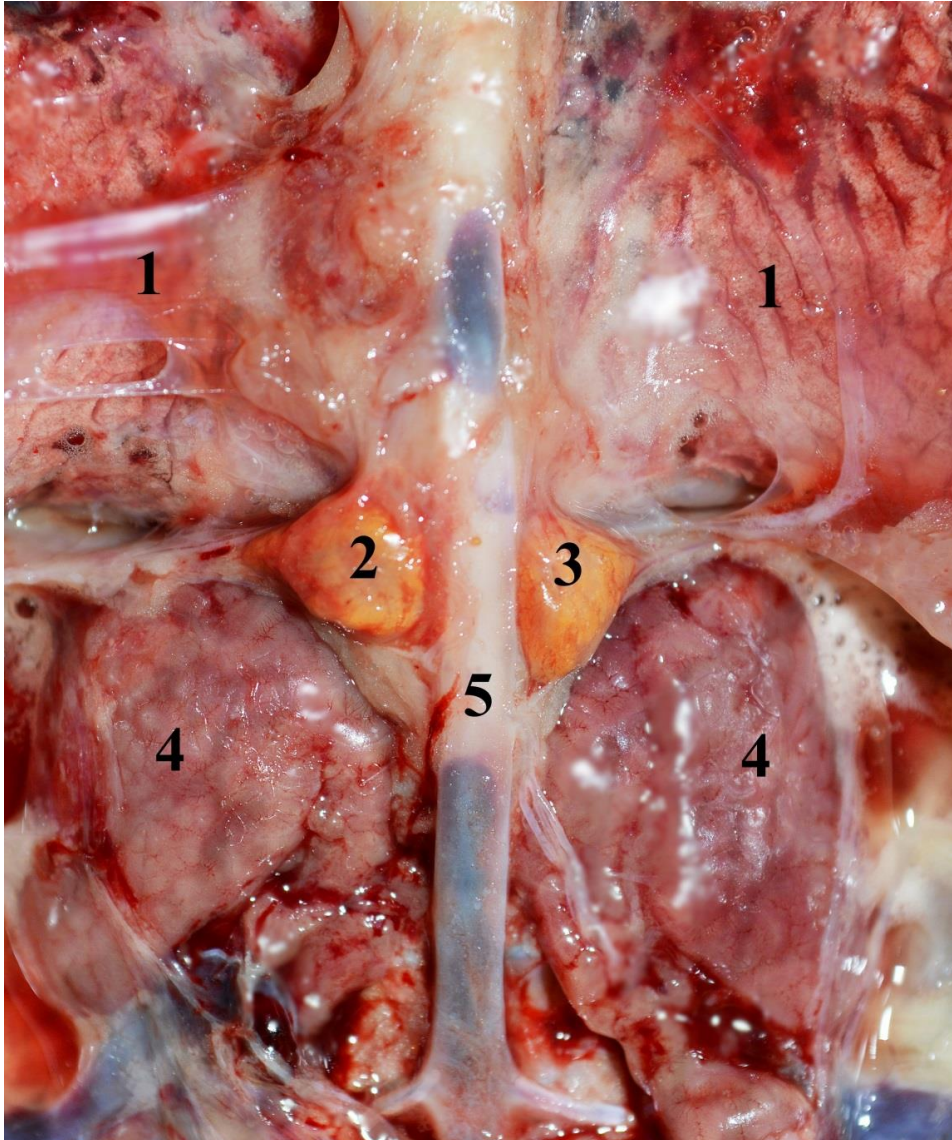
Çalışmada deneme gruplarında organ ağırlıklarının vücut ağırlığına oranları ve adrenal bezin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıkları üzerine aydınlatma programları ve cinsiyetin etkilerini belirlemek amacıyla iki yönlü varyans analizi ve günün etkisinin de eklendiği veri setlerinde üç yönlü varyans analiz metodu kullanılmıştır. Verilerin istatistik analizinde SPSS paket programı kullanılmıştır.

**BULGULAR**

Böbrek üstü bezlerin (şekil 1/2,3-2/1,2) vena cava caudalis'in (şekil 1/5) ve median hattın her iki yanında, böbreklerin (şekil 1/4) cranio-medial'inde bir çift organ olarak bulunduğu tespit edildi. Sarı renkte olan bu iki bezin şekilleri birbirinden farklıydı. Sağ adren'ler (şekil 1/2, 2/1) piramide benzerken sol adren'ler (şekil 1/3, 2/2) düzensiz bir şekle sahipti.

**şekil 1.** Sağ ve sol adrenal bezlerin ventral'den görünümü. 1. Akciğerler, 2. Sağ adrenal bez, 3. Sol adrenal bez, 4. Böbrekler, 5. Vena cava caudalis.

**Figure 1.** The view of the ventral face of the right and left adrenal gland. 1. Lungs, 2. Right adrenal gland, 3. Left adrenal gland, 4. Kidneys, 5. Caudal vena cava.





**Şekil 2.** Sağ ve sol adrenal bezler. 1.Sağ adrenal bez, 2. Sol adrenal bez.**Figure 2.** Right and left adrenal gland. 1.Right adrenal gland, 2. Left adrenal gland.**Tablo 1.** Bir ve sekizinci günlerde sürekli aydınlatma uygulanan civcivlerin sağ ve sol adrenal bezlerinin morfolojik özelliklerine ait varyans analiz sonuçları**Table 1.** Results of variance analysis of the morphological characteristics of the right and left adrenal glands of chicks applied continuous lighting (24L:0D) on the first and eighth days.

				P		
Sol Adren		Erkek	Dişi	Cinsiyet	Gün	Cinsiyet* Gün
Uzunluk (mm)	1.gün	2.883±0.225	2.733±0.318	0.487	0.322	0.879
	8.gün	3.200±0.194	2.967±0.318			
Kalınlık(mm)	1.gün	2.150±0.15	2.200±0.212	0.570	0.511	0.767
	8.gün	1.975±0.13	2.133±0.212			
Yükseklik(mm)	1.gün	1.250±0.086	0.933±0.122	0.040*	0.029*	0.422
	8.gün	1.413±0.075	1.267±0.122			
Ağırlık(gr)	1.gün	0.003±0.001	0.003±0.001	0.232	0.029*	0.327
	8.gün	0.006±0.001	0.004±0.001			
Sağ adren		Erkek	Dişi	Cinsiyet	Gün	Cinsiyet* Gün
Uzunluk (mm)	1.gün	2.333±0.164	3.433±0.232	0.149	0.611	0.001**
	8.gün	3.238±0.142	2.733±0.232			
Kalınlık(mm)	1.gün	1.617±0.132	2.400±0.187	0.032	0.370	0.019
	8.gün	2.175±0.114	2.133±0.187			
Yükseklik(mm)	1.gün	1.233±0.154	1.267±0.218	0.885	0.885	0.973
	8.gün	1.213±0.133	1.233±0.218			
Ağırlık(gr)	1.gün	0.003±0.001	0.004±0.001	0.463	0.007**	0.171
	8.gün	0.006±0.002	0.005±0.002			

\*\*P<0,01 (Çok önemli), \*P<0,05( Önemli), Ö.D. P>0,05 (Önemsiz).

Yapılan çalışmada 1. ve 8. güne kadar uygulanan ışığın glandula suprarenalis'lerin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıkları üzerine etkisi tablo 1'de gösterildi. Tabloda da gösterildiği gibi sol adren'lerin ortalama yükseklikleri erkeklerde 1. günde 1.250±0.086 mm, 8. günde 1.413±0.075 mm; dişilerde 1. günde 0.933±0.122 mm, 8. günde

1.267±0.122 mm olarak ölçülmüştür. Elde edilen bu sonuçlara göre, cinsiyet ve günün sol adren'lerin yükseklikleri üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05).

Sol adren'lerin ortalama ağırlıkları ile ilgili olarak erkeklerde 1. günde 0.003±0.001gr, 8. günde 0.006±0.001gr; dişilerde 1. günde 0.003±0.001 gr, 8.

günde  $0.004 \pm 0.001$  gr olarak, sağ adren'lerin ortalama ağırlıkları ile ilgili olarak erkeklerde 1. günde  $0.003 \pm 0.001$ gr, 8. günde  $0.006 \pm 0.002$ gr; dişilerde 1. günde  $0.004 \pm 0.001$ gr, 8. günde  $0.005 \pm 0.002$  gr olarak

belirlenmiş ve bu artışa göre, günün istatistiksel olarak sol adrende önemli ( $P < 0.05$ ), sağ adrende ise çok önemli ( $P < 0.01$ ) olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 2.** Ondördüncü ve 42. günler arasında civcivlere uygulanan farklı fotoperiyotların sol adrenal bezin gelişimi üzerindeki etkisine ait varyans analiz sonuçları

**Table 2.** Results of variance analysis of the effects of various photoperiods on the development of left adrenal glands of the between days 14 and 42. of the chicks.

	16L8D		24L0D		Fotoperiyot	P		Gün
	Gün	Erkek	Dişi	Erkek		Dişi	Cinsiyet	
Uzunluk (mm)	14	$5.12 \pm 0.33$	$4.78 \pm 0.36$	$4.63 \pm 0.33$	$4.20 \pm 0.46$	0.871	0.195	0.000**
	21	$5.59 \pm 0.30$	$4.65 \pm 0.40$	$5.24 \pm 0.30$	$4.92 \pm 0.36$			
	28	$5.90 \pm 0.36$	$5.60 \pm 0.30$	$5.43 \pm 0.33$	$5.96 \pm 0.36$			
	35	$5.82 \pm 0.27$	$5.83 \pm 0.46$	$6.77 \pm 0.30$	$6.78 \pm 0.40$			
	42	$7.32 \pm 0.33$	$7.66 \pm 0.36$	$7.60 \pm 0.40$	$6.99 \pm 0.30$			
Kalınlık (mm)	14	$2.82 \pm 0.27$	$2.58 \pm 0.30$	$2.82 \pm 0.27$	$3.43 \pm 0.38$	0.010**	0.698	0.000**
	21	$3.91 \pm 0.25$	$3.80 \pm 0.33$	$3.44 \pm 0.25$	$3.66 \pm 0.30$			
	28	$3.94 \pm 0.30$	$3.96 \pm 0.25$	$4.05 \pm 0.27$	$4.38 \pm 0.30$			
	35	$3.70 \pm 0.22$	$3.87 \pm 0.38$	$4.67 \pm 0.25$	$4.53 \pm 0.33$			
	42	$4.33 \pm 0.27$	$4.62 \pm 0.30$	$5.30 \pm 0.33$	$4.67 \pm 0.25$			
Yükseklik (mm)	14	$1.87 \pm 0.19$	$1.50 \pm 0.20$	$1.58 \pm 0.19$	$1.53 \pm 0.26$	0.690	0.086	0.000**
	21	$2.14 \pm 0.17$	$1.93 \pm 0.23$	$1.93 \pm 0.17$	$1.84 \pm 0.20$			
	28	$2.70 \pm 0.20$	$2.37 \pm 0.17$	$2.77 \pm 0.19$	$2.40 \pm 0.20$			
	35	$2.87 \pm 0.15$	$2.30 \pm 0.26$	$2.79 \pm 0.17$	$2.93 \pm 0.23$			
	42	$2.55 \pm 0.19$	$2.82 \pm 0.20$	$2.45 \pm 0.23$	$2.47 \pm 0.17$			
Ağırlık (gr)	14	$0.013 \pm 0.004$	$0.011 \pm 0.004$	$0.014 \pm 0.004$	$0.011 \pm 0.006$	0.265	0.064	0.000**
	21	$0.026 \pm 0.004$	$0.019 \pm 0.005$	$0.018 \pm 0.004$	$0.016 \pm 0.004$			
	28	$0.041 \pm 0.004$	$0.029 \pm 0.004$	$0.034 \pm 0.004$	$0.028 \pm 0.004$			
	35	$0.048 \pm 0.003$	$0.045 \pm 0.006$	$0.052 \pm 0.004$	$0.050 \pm 0.005$			
	42	$0.058 \pm 0.004$	$0.058 \pm 0.004$	$0.052 \pm 0.005$	$0.050 \pm 0.004$			

\*\* $P < 0,01$  (Çok önemli), \* $P < 0,05$  (Önemli), Ö.D.  $P > 0,05$  (Önemsiz).

Yapılan çalışmada 14. ve 42. güne kadar kontrol grubunun (16K-8A) ve sürekli ışık uygulanan grubun (24A-0K) sol adren'lerinin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıkları üzerine etkisi tablo 2'de gösterildi. Tabloda da gösterildiği gibi sol adren'lerin ortalama kalınlıklarının ışığa bağlı olarak kontrol grubuna göre çok belirgin bir seviyede artış gösterdiği ve bu sonucun istatistiksel olarak çok önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.01$ ). Sol adren'lerin uzunluk,

yükseklik ve ağırlık özellikleri üzerine uygulanan aydınlatma programının etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ( $P > 0.05$ ). Sol adren'lerin uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlık özellikleri erkek ve dişi broylerler arasında farklılık oluşturmamıştır ( $P > 0.05$ ). Günlere göre, sol adren'lerin hem kontrol grubunda (16A-8K) hemde sürekli ışık uygulanan grupta (24A-0K) uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlık artışının istatistiksel olarak çok önemli olduğu gözlemlendi ( $P < 0.01$ ).

**Tablo 3.** Ondördüncü ve 42. günler arasında civcivlere uygulanan farklı fotoperiyotların sağ adrenal bezin gelişimi üzerindeki etkisinin ait varyans analiz sonuçları.

**Table 3.** Results of variance analysis of the effects of various photoperiods on the development of right adrenal glands of the between days 14 and 42. of the chicks.

	16A-8K		24A-0K		Fotoperiyot	P		Gün
	Gün	Erkek	Dişi	Erkek		Dişi	Cinsiyet	
Uzunluk (mm)	14	4.60±0.30	3.58±0.33	4.22±0.30	3.70±0.43	0.304	0.017*	0.000**
	21	5.54±0.28	5.03±0.37	5.09±0.28	4.58±0.33			
	28	5.68±0.33	5.27±0.28	5.83±0.30	5.92±0.33			
	35	6.24±0.25	5.60±0.43	6.36±0.28	6.03±0.37			
	42	7.28±0.30	7.32±0.33	6.33±0.37	6.60±0.28			
Kalınlık (mm)	14	2.85±0.25	2.84±0.28	3.43±0.25	3.13±0.36	0.136	0.307	0.000**
	21	3.93±0.23	4.03±0.31	3.84±0.23	3.70±0.28			
	28	4.36±0.28	4.14±0.23	4.45±0.25	4.12±0.28			
	35	3.91±0.21	3.90±0.36	4.53±0.23	4.63±0.31			
	42	4.67±0.25	4.40±0.28	4.60±0.31	4.43±0.23			
Yükseklik (mm)	14	2.15±0.19	1.58±0.21	1.77±0.19	2.37±0.27	0.615	0.055	0.000**
	21	2.37±0.18	2.30±0.24	2.31±0.18	2.16±0.21			
	28	3.10±0.21	2.90±0.18	3.02±0.19	2.68±0.21			
	35	2.79±0.16	2.87±0.27	3.36±0.18	2.88±0.24			
	42	2.98±0.19	3.02±0.21	3.35±0.24	2.64±0.18			
Ağırlık (gr)	14	0.017±0.003	0.012±0.004	0.016±0.003	0.011±0.005	0.132	0.001**	0.000**
	21	0.026±0.003	0.022±0.004	0.022±0.003	0.019±0.004			
	28	0.045±0.004	0.035±0.003	0.041±0.003	0.033±0.003			
	35	0.051±0.003	0.042±0.005	0.052±0.003	0.048±0.004			
	42	0.066±0.003	0.055±0.004	0.050±0.004	0.055±0.003			

\*\*P<0,01 (Çok önemli), \*P<0,05 (Önemli), Ö.D. P>0,05 (Önemsiz).

Sağ adren'lere uygulanan aydınlatma programının uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlıkları üzerine etkisinin olmadığı saptandı (P>0.05).

Sağ adren'lerin hem kontrol grubunda (16A-8K) hem de sürekli ışık uygulanan grupta (24K-0K) erkeklerde dişilere göre uzunluklarındaki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlemlendi (P<0.05).

Tablo 3'te erkeklerde sağ adren'lerin ortalama ağırlığına bakıldığında dişilerden daha ağır olduğu belirlendi (P<0.01).

Sağ adren'lerinin kalınlık ve yükseklik değerleri üzerine cinsiyetin etkisinin olmadığı tespit edildi (P>0.05).

Yaşın ilerlemesi ile birlikte sağ adren'in hem kontrol grubunda (16A-8K) hem de sürekli ışık uygulanan grupta (24K-0K) uzunluk, kalınlık, yükseklik ve ağırlık artışının istatistiksel olarak çok önemli olduğu gözlemlendi (P<0.01).



**Tablo 4.** Farklı aydınlatma programlarında yetiştirilen civcivlerin vücut ağırlıkları ile vücut ağırlığının sağ ve sol adrenal bezlerin ağırlıkları oranına ait varyans analizi.**Table 4.** Body weights of chickens grown in various photoperiods and variance analysis of ratio of body weight to weight right and left adrenal glands.

	16L8D		24L0D		Fotoperiyot	P		Gün
	Gün	Erkek	Dişi	Erkek		Dişi	Cinsiyet	
Vücut ağırlığı(gr)	14	232.5±50.8	210.0±55.7	235.8±50.8	205.0±71.9	0.061	0.094	0.000**
	21	485.7±47.0	475.0±62.2	471.4±47.0	460.0±55.7			
	28	830.0±55.7	800.0±47.0	833.3±50.8	780.0±55.7			
	35	1388.9±41.5	1383.3±71.9	1407.1±47.0	1262.5±62.2			
	42	1830.8±50.8	1853.0±55.7	1748.8±62.2	1618.6±47.0			
Sol adren ağırlığı/ Vücut ağırlığı	14	0.006±0.002	0.005±0.002	0.013±0.002	0.006±0.003	0.499	0.181	0.021*
	21	0.005±0.002	0.004±0.002	0.004±0.002	0.004±0.002			
	28	0.005±0.002	0.004±0.002	0.004±0.002	0.004±0.002			
	35	0.003±0.001	0.003±0.003	0.004±0.002	0.004±0.002			
	42	0.003±0.002	0.003±0.002	0.003±0.002	0.003±0.002			
Sağ adren ağırlığı/ Vücut ağırlığı	14	0.007±0.003	0.006±0.003	0.019±0.003	0.006±0.004	0.496	0.184	0.066
	21	0.005±0.003	0.005±0.004	0.005±0.003	0.004±0.003			
	28	0.005±0.003	0.004±0.003	0.005±0.003	0.004±0.003			
	35	0.004±0.002	0.003±0.004	0.004±0.003	0.004±0.004			
	42	0.004±0.003	0.003±0.003	0.003±0.004	0.003±0.003			

\*\*P&lt;0,01 (Çok önemli), \*P&lt;0,05( Önemli), Ö.D. P&gt;0,05 (Önemsiz).

Etlik piliçlerde uygulanan aydınlatma programının günlük canlı ağırlık artışları bakımından farklılık oluşturmadığı sonucuna varıldı (P>0.05).

Yaşın ilerlemesi ile ortalama adren ağırlıkları, vücut ağırlığına oranlandığında, fotoperiyod'un etkisinin olmadığı tespit edildi (P>0.05).

Vücut ağırlığı artışının günlere göre hem kontrol grubunda (16A-8K) hem de sürekli ışık uygulanan grupta (24K-0K) istatistiksel olarak çok önemli olduğu gözlemlendi (P<0.01).

Ortalama adren ağırlıkları vücut ağırlığına oranlandığında, cinsiyete göre istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir (P>0.05). Çalışmamızda tüm gruplarda istatistiki önemde olmasa da sağ adren ağırlıklarının sola göre daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca, bütün gruplarda ortalama adren ağırlıkları erkeklerde dişilerden daha fazlaydı.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışmada glandula suprarenalis'lerin, Nickel ve ark.'nın (10) bildirdikleri gibi böbreklerin cranial ucunda ve medial tarafta buldukları belirlenmiştir.

Tavuk (5,7,8), güvercin (7) ve ördek (5) bildirimlerine uygun olarak sağ adrenal bezlerin üç

köşeli bir piramit, soldakinin ise düzensiz bir şekle sahip olduğu tespit edilmiştir. Adrenal bezlerin tavukta, Kahvecioğlu ve Çalışlar (7) kırmızımsı sarı veya açık kahverengi, Özkan ve ark. (5) sarımsı-bej, Humayun ve ark. (8) ise krem sarısından kahverengiye kadar değişen renklerde olduğunu, Carsia ve Harvey (12) kuşlarda, Tang ve ark. (11) devekuşu civcivlerinde, Fitzgerald (9) bıldırcında sarı renkte olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada bezlerin sarı renkte oldukları tespit edilmiştir.

Sunulan bu çalışmada her iki grupta adren'lerin uzunluk, kalınlık ve yükseklik ile ilgili olarak elde edilen değerlerin daha önce yapılan çalışmaların (5,8, 15,16) tavuklarda bildirdikleri uzunluk (7.2-13 mm), kalınlık (3-5mm) ve yükseklik (4.5-8mm) ile ilgili değerlerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada 42. günde 16 saat aydınlık 8 saat karanlık uygulanan grupta Humayun ve ark.'nın (8) bildirdiği gibi sağ adrenal bezin soldan daha kalın ve daha geniş, sol adrenal bezin ise sağdan daha uzun olduğu belirlenmiştir.

Kahvecioğlu ve Çalışlar (7) adren'in tavuklarda ağırlığının 0.08-0.46 gr arasında olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada her iki grupta da

adren'lerin ortalama ağırlıkları  $0.066 \pm 0.003$ - $0.050 \pm 0.004$  arasında bulunmuştur.

Humayun ve ark. (8), Wells ve Wight (17) ve Sarkar ve ark (18) tavuklarda, sol adrenal bezin her iki cinsiyette de sağdan daha ağır, Özkan ve ark. (5), Salwa ve Elbajory (16) ve Çötelioglu ve ark. (19) ise sağ adrenal bezin soldan daha ağır olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, tüm gruplarda istatistiki önemde olmasa da sağ adrenal bezlerin ortalama ağırlıklarının sola göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Bayram A (20) kanatlılara uygulanan ışığın şiddeti, rengi ve aydınlatma süresinin, hayvanların fizyolojik fonksiyonlarını etkileyen çevresel faktörler olduğunu ve strese sebep olabileceğini bildirmiştir.

Çötelioglu ve ark. (19), yüksek ısı uygulamasının broylerlerde sağ ve sol adrenin ağırlıklarında artışa neden olduğunu rapor etmişlerdir. Sunulan bu çalışmada, uygulanan aydınlatma programlarının adrenal bezlerin ağırlıklarına herhangi bir etkisinin olmadığı, ancak sol adrenal bezlerin ortalama kalınlıklarının ışığa bağlı olarak (24A-OK) kontrol grubuna (16A-8K) göre çok belirgin bir seviyede artış gösterdiği ve bu sonucun istatistiksel olarak çok önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.01$ ).

Sonuç olarak, Wells and Wight'in (17) belirttikleri gibi tavuklarda adrenal bezlerin ağırlık, uzunluk, genişlik ve kalınlığı gibi faktörlerin, tür, cins, yaş, sağlık ve çevreye bağlı olarak değişebileceği kanısına varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

- Freeman BM., 1985. Stress and the domestic fowl: Physiological fact or fancy. *World's Poult J*, 41, 45-51.
- Randall D., Burggren W., French K., 2002. Glands and Hormones. In: *Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations*, Fifth Edition. pp. 332-339. Freeman and Company. New York.
- Peng KM., Chen YX., Liang ZS., et al., 2005. *Anatomy of the Domestic Animals and Fowls*. Higher Education Press, Beijing, pp. 286 (in Chinese).
- Özkan ZE., Dinç G., Aydın A., 1996. Comparative morphological investigations on the adrenal gland in Hens Cocks (*Gallus Domesticus*) and Ducks (*Anas Domestica*). *F Ü Sağ Bil Derg*, 10, 165-168.
- Cronshaw J., Holmes WN., Loeb SL., 1974. Fine structure of the adrenal gland in the duck (*Anas platyrhynchos*). *The Anat Rec*, 180, 385-405.
- Kahvecioğlu O., Çalışlar T., 2004. Ürogenital ve endokrin sistem. Dursun N, editör. *Evcil Kuşların Anatomisi*. Medisan, Ankara.
- Humayun KAKM., Aoyama M., Sugita SA., 2012. Morphological and histological studies on the adrenal gland of the chicken (*Gallus domesticus*). *J Poult Sci*, 49, 39-45.
- Fitzgerald TC., 1969. The coturnix quail, anatomy and histology. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Nickel R., Schummer A., Seifirle E., 1977. *Anatomy of the domestic birds*. 40-61, Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg.
- Tang L., Peng KM., Wang JX., Luo HQ., Cheng JY., Zhang GY., Sun YF., Liu HZ., Song H., 2009. The morphological study on the adrenal gland of African ostrich chicks. *Tissue and Cell*, 41, 231-238.
- Carsia RV., Harvey S., 2000. Adrenals. In: *Sturkie's avian physiology*. Whittow GC ed. 5nd ed., 489-537, Academic Press, New York.
- Coban O., Lacin E., Sabuncuoglu N., Ozudogru Z., 2009. Effect of self-photoperiod on live weight, carcass and growth traits in quails (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Asian-Australas J Anim Sci*, 22, 410-415.
- Coban O., Lacin E., Genç M., 2014. The effect of photoperiod length on performance parameters, carcass characteristics and heterophil/lymphocyte-ratio in Broilers. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20, 863-870.
- Baumel JJ., King SA., Breazile JE., Evans HE., Vanden Berge JC., 1993. *Handbook of avian anatomy*. Nomina Anatomica Avium, 2nd ed., Published By the Club, Cambridge,

- Massachusetts.
15. Aire TA., 1980. Morphometric study of the avian adrenal gland. *J Anat*, 131, 19-23.
  16. Elbajory SIA., 2012. Morphometric study of the adrenal gland of the adult Sudanese Chicken (*Gallus domesticus*) and Duck (*Anas platyrhynchos*). *Cur Res J Biol Sci*, 4, 239-241.
  17. Wells JW., Wight PAL., 1971. The adrenal glands. In: *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*. Bell DJ and Freeman GM eds., 489-520, Academic Press, London.
  18. Sonjoy S., Nazrul I., Gitaindro NA., Bashudeb P., Nayan B., 2014. Morphological and histological studies on the adrenal gland in male and female chicken (*gallus domesticus*). *Inter J of Biologic Pharm Res*, 5, 715-718.
  19. Çöteliöğlu Ü., Dağlioğlu S., Belge F., Armutak A., Mutuş R., 1994. Broylerlerde yüksek ısı stresi ve yeme katılan askorbik asitin canlı ağırlık kazancı, adrenal doku üzerine etkileri. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 20, 317-325.
  20. Bayram A., 2006. Sürekli ve kısa gün aydınlatma programlarının etlik piliçlerde gelişme ve davranış özelliklerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.





## Köpeklerde Perineal Fıtıkların Sağaltımında Dört Tekniğin Bir Arada Kullanılmasının Nüksleri Önlemedeki Etkinliği: Obturator Internus Kas Transpozisyonu, Kastrasyon, Sistopeksi ve Kolopeksi

Murat KARABAĞLI<sup>1</sup>✉

1. İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
23.02.2017	26.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Perineal fıtık, pelvik diyaframı oluşturan bileşenlerin güçsüzlüğü sonucu, idrar kesesi, bağırsaklar, retroperitoneal yağ doku veya prostat gibi intraabdominal yapı ve organların perineal bölgeye fıtıklaşmasıdır. Tedavisinde klasik herniorafi dışında farklı kasların transpozisyonu, çeşitli prostetik implantlar ve biomateriyaller kullanılmaktadır. Çalışmamıza farklı ırk ve yaşta 11 adet erkek köpek dahil edildi. Hastalar, perineal bölgede şişlik, ağrılı defekasyon, dışkıda kan ve strangüri gibi şikayetlerle getirilmişlerdi. Perineal fıtık tanısı, klinik muayene ve rektal palpasyon bulgularına göre kondu. Perineal fıtık tanısı konan 11 hastadan 10 'u, obturator internus kas transpozisyonu, kastrasyon, sistopeksi ve kolopeksi işlemleri aynı seansta uygulanarak sağaltıldı ve hastalar kısa ve uzun dönem nüks ve diğer bazı komplikasyonlar açısından değerlendirildi. Bir hastada ise hasta sahibi yavru almak istediği için kastrasyon yapılamadı. Çalışmanın sonucunda 11 hastanın 10 'unda uzun dönem nüks şekillenmedi. Önemli sayılabilecek bir postoperatif komplikasyonla karşılaşılmadı. Sonuç olarak, postoperatif nüks oranları %36-48 lere kadar ulaşabilen perineal fıtıkların sağaltımında, obturator internus kas transpozisyonu, kastrasyon, sistopeksi ve kolopeksinin eş zamanlı uygulanmasının postoperatif uzun dönem nüksleri engellemede faydalı olabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Kastrasyon, Köpek, Obturator internus kası, Organopeksi, Perineal fıtık.

## Prevention of Perineal Hernia Recurrences by Four-In-One Procedure in Dogs: Obturator Internus Muscle Transposition, Castration, Cystopexy and Colopexy

**Abstract:** Perineal hernia is caudal displacement of intraabdominal structure and organs such as the urinary bladder, intestines, retroperitoneal fat or prostate to the perineal region because of weakness and deficiency of pelvic diaphragm. In treatment, different muscle transposition techniques, various prosthetic implants and biomaterials are used beside of traditional herniography. Eleven male dog with different age and breed was included in this study. These patients were brought by the complaints of perineal swelling, blood in feces, painful defecation and stronguria. Perineal hernia diagnosis was made by clinical examination and rectal palpation. Perineal hernias was treated by obturator internus muscle transposition, castration, cystopexy and colopexy in the same session in 10 of 11 patient and the postoperative complications and short and long term recurrence was evaluated. In one patient, owner of the dog did not give permission to castration since he wanted to use his dog for breeding. At the end of the study, postoperative long term recurrence was not determined in 10 of 11 patient. No significant postoperative complications were noted. As a result, in the treatment of perineal hernias that have postoperative recurrence rates up to 36-48%, it was concluded that simultaneous using of obturator internus muscle transposition, castration, cystopexy and colopexy can be useful in preventing postoperative long term recurrence in dogs.

**Keywords:** Castration, Dog, Obturator internus muscle, Organopexy, Perineal hernia.

## GİRİŞ

**P**erineum anal ve ürogenital sistemi çevreleyen ve pelvisin caudal kısmını kaplayan vücut bölgesidir (1). Dorsalde 3. kuyruk omuru, lateralde sakrotuberous ligament, ventralde ise arcus ischiadicum ile sınırlanmıştır (2). Perineumun ana çatısını, pelvik çıkışın destek yapılarını barındıran pelvik diyafram oluşturur. Bu destek yapılar, levator ani ve coccygeus kası, perineal fasya ve bazı yazarlara göre eksternal anal sfinkterdir (1).

Perineal fıtık, pelvik diyaframı oluşturan bileşenlerin güçsüzlüğü sonucu oluşur. Pelvik diyafram desteğinin ortadan kalkması, rektumun dilatasyonu ve deviasyonuna müsaade eder ve prostat, kistik prostat dokusu, idrar kesesi ve bağırsaklar gibi birçok organın caudal protrüzyonuna neden olur (3-8).

Nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen multifaktoriyel bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Kongenital predispozisyon, rektal anomaliler, hormonal dengesizlikler, prostat hiperplazisi ve pelvik diyaframın yapısal güçsüzlüğü nedenler arasında sayılmaktadır (3,4,6,9-13). En yaygın gözlenen klinik belirtiler, unilateral veya bilateral perineal şişlik, dışkı yapmada güçlük ve konstipasyondur (4,8,9,14). Prostat veya idrar kesesinin retrofleksiyonu sonucu idrar yapmada güçlük de şekillenebilir. Dışkı kaçırma ve kuyruğu normalden farklı bir şekilde taşıma da görülebilir. Kesin tanı, klinik bulgular ve rektal muayene ile normal pelvik diyafram yapısının ortadan kalkması ve fıtık kesesi içerisinde pelvik ve abdominal organların varlığının tespit edilmesiyle konur (15).

Perineal fıtıkların tedavisi cerrahi yollarla yapılır. Dışkı kıvamını yumuşatan bazı ilaçların kullanılması, biriken dışkının belli aralıklarla boşaltılması veya lavmanların, liften zengin gıda tüketimi ile kombine edilerek tedavi maksadıyla kullanılabileceği de söylenmektedir. Ancak medikal tedavi ve diyet değişimi, genel durumu bozuk, ameliyatı ve

anesteziyi kaldıramayacak hastalarda, hastalığın kontrol edilmesine yetmeyen konservatif seçeneklerdir (16).

Perineal fıtıkların cerrahi tedavisinde bizim geleneksel herniorafi olarak bildiğimiz teknik 1940 'lı yıllarda Farquharson (17) tarafından tanımlanmıştır ve pelvik diyafram kaslarının onarılmasıdır. Internal obturator (7,18), supeficial gluteal (8,12) veya semitendinöz (19) kaslarının transpozisyonu ve çeşitli prostetik implantlar ve biomateryallerin kullanıldığı (20-24) farklı alternatif teknikler de zaman içerisinde tanımlanmıştır. Perineal fıtık onarımı sonrası nüks, sadece geleneksel teknik kullanıldığında %48 lere kadar ulaşabilirken, internal obturator kas transpozisyonu sonrası %36 seviyesine kadar çıkabilmektedir (4,10,25,26). Çalışmamızda internal obturator kas transpozisyonu ile eş zamanlı olarak kastrasyon, sistopeksi ve kolopeksi yapılan perineal fıtıklı köpeklerde postoperatif komplikasyonlar ve kısa ve uzun dönem nüks varlığı değerlendirilmiştir.

## MATERYAL ve METOT

Çalışmamıza, perineal bölgede şişlik, dışkı yaparken ağrı duyma, zorlanma ve dışkıda kan gibi şikayetlere sahip farklı ırk ve yaşta 11 adet kısırlaştırılmamış erkek köpek dahil edildi. Hastalara cerrahi prosedür olarak, obturator internus kas transpozisyonu, kastrasyon, sistopeksi ve kolopeksi bir arada uygulandı. Sadece bir hastada (Olgu no 2) hasta sahibi yavru almak istediği için kastrasyon yapılmasına onay vermedi. Çalışma süresince yerel etik kurulun ilkelerine uygun olarak davranıldı.

## Klinik Muayene

Öncelikle hastaların yaşı, ırkı, cinsiyeti, hastasının şikayeti, hastanın kısırlaştırılma durumu, daha önceden aynı şikayetle bir ameliyat geçirip geçirmediği hasta sahibine sorularak kaydedildi. Anamnez bilgileri toplandıktan sonra, inspeksiyon, palpasyon ve rektal muayene gerçekleştirildi.

Perineal bölgede şişlik, bu şişliğin unilateral ya da bilateral oluşu, reponibilite varlığı/yokluğu, rektum deviasyonu ve dilatasyonu varlığı/yokluğu tespit edilerek kaydedildi.

#### Preoperatif Hazırlık

Hastalarda IV kanülasyon sonrası 6-8 mg/kg dozda propofol (Pofol®, Sandoz) IV yolla uygulanarak indüksiyon sağlandı. Intratrakeal entübasyon sonrası anesteziye %2-3 izofluran ve %100 oksijenle devam edildi. Perineal bölge, preskrotal bölge ve abdomenin ventrali tıraş edildi. İlk olarak sternal pozisyonda yatırılan hastalarda kuyruk, kraniale doğru çekilip sabitlenerek perineal bölgeden uzaklaştırıldı. Sternal pozisyonda yatan hastanın caudal abdominal bölgesi ile operasyon masası arasına bir destek konarak perineal bölge yükseltildi. Arka bacaklar, gerdirilmeksizin operasyon masasına sabitlendi. Deviyeye olan rektum kısmındaki dışkı parmakla boşaltıldı ve bölge aseptik olarak operasyon için hazırlandı. Örgüsüz emilmeyen 2/0 numara propilen dikiş ipliği ile (Prolen®, TIPKİMSAN) anüs çevresine tütün kesesi dikişi konarak operasyon sırasında olabilecek dışkı sızıntısı ihtimali düşürüldü. Hastalara operasyondan yaklaşık yarım saat önce seftriakson sodyum (Novasef®, Zentiva) 20 mg/kg dozda IV olarak, meloksikam (Melox®, Nobel) 0.2 mg/kg dozda SC olarak ve ranitidin (Ulcuran®, Abfar) 0.5 mg/kg dozda SC olarak uygulandı.

#### Obturator Internus Kas Transpozisyonu

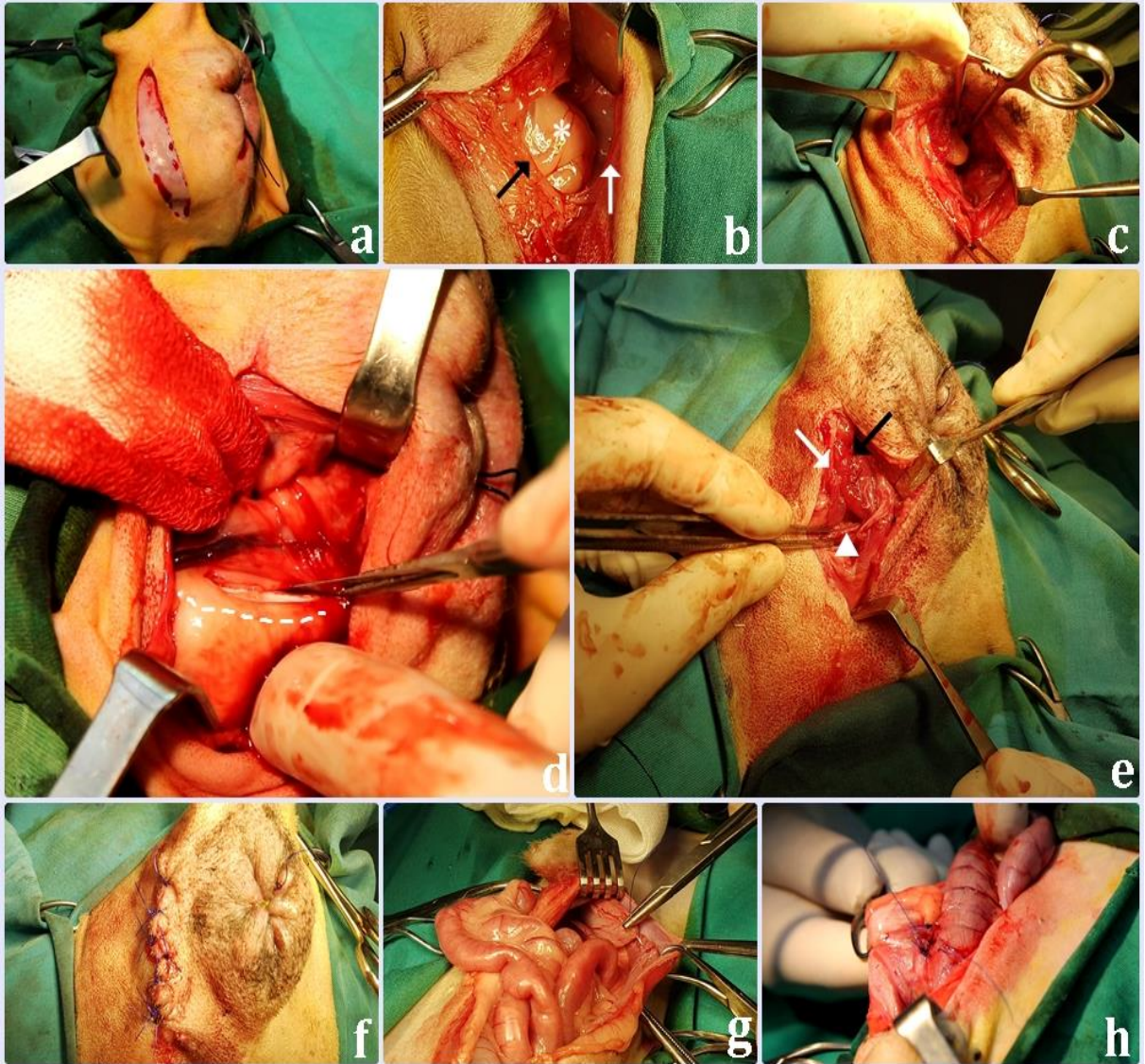
Fıtık üzerinde, kuyruğun vücutla birleştiği noktaya yakın bir yerden başlayan ve ventralde tuber ischii 'ye kadar uzanan bir deri ensizyonu yapıldı (Şekil 1-a). Ensizyonun anüs hizasına gelen kısmının,

anüse 2-3 cm den daha yakın bir noktadan geçmemesine özen gösterildi. Deri altı dokuların diseksiyonu sonrası fıtık kesesine ulaşıldı. Fıtık kesesi deri ensizyonu ile aynı hat üzerinden ve genelde küt bir diseksiyon makası kullanılarak açıldı ve fıtık içeriği görünür hale getirildi (Şekil 1-b) ve akabinde abdomen içerisine reddedildi (Şekil 1-c). Sonraki aşamada ischiinin pelvik kanala bakan iç yüzünü örten obturator internus kası, ischii 'nin kaudo dorsal kısmından ensize edilerek ayrıldı (Şekil 1-d). Bir periostal elevator vasıtasıyla ischi 'nin pelvik kanala bakan iç yüzünden foramen obturatoruma doğru küt olarak ayrılan obturator internus kası transpozisyona hazır hale getirildi (Şekil 1-e). Bu kasın küt olarak ayrılması esnasında foramen obturatorumun caudalinden geçen obturator arter ve sinire zarar vermeye özen gösterildi. Coccygeus kası levator ani veya eksternal anal sfinktere; obturator internus kası ise medialde levator ani veya eksternal anal sfinktere, lateralde ise coccygeus kasına monofilament örgüsüz emilebilir dikiş materyali (Monocryl®, ETHİCON) kullanılarak dikildi ve pelvik diyaframın onarılması tamamlandı. Deri altı ve deri uygun şekilde kapatılarak perineal bölgedeki işlem sonlandırıldı (Şekil 1-f).

#### Kastrasyon, Kolopeksi ve Sistopeksi

Pelvik diyafram onarıldıktan sonra hasta dorsal yatış pozisyonunda yatırıldı. Preskrotal bölge ve abdomenin ventrali aseptik tekniğe uygun olarak dezenfekte edildi ve örtüldü. İlk olarak kastrasyon ve kriptorşidik testislerin uzaklaştırılması literatüre uygun olarak yapıldı (27).





**Şekil 1.** Deri ensizyonu, **a.** Fıtık kesesi açıldıktan sonra görünür hale gelen fıtık içeriği; retroperitoneal yağ (\*), levator ani kası (siyah ok), coccygeus kası (beyaz ok), **b.** Fıtık içeriğinin abdomen içerisine reddedilmesi, **c.** Ischii 'nin pelvik kanala bakan iç yüzünü örten obturator internus kasının, ischii 'nin kaudo dorsal kısmından ensize edilerek ayrılması, ischii (kesik çizgi), **d.** Obturator internus kasının ischii 'den ayrıldıktan sonraki görüntüsü (beyaz ok başı), levator ani kası (siyah ok), coccygeus kası (beyaz ok), **e.** Bölgenin deri altı ve deri kapatıldıktan sonraki görüntüsü, **f.** Sistopeksi, **g.** Kolopeksi, **h.**

**Figure 1.** Skin incision, **a.** The hernia content that becomes visible after opening of the hernia sac; retroperitoneal fat (\*), musculus levator ani (black arrow), musculus coccygeus (white arrow), **b.** Rejection of the hernia content into the abdomen, **c.** Incision of musculus obturator internus from caudo-dorsal side of the ischii which cover the inner surface of the bone, ischii (dashed line), **d.** View of the musculus obturator internus after separation from the ischii (white arrow head), musculus levator ani (black arrow), musculus coccygeus (white arrow), **e.** The appearance of the perineal region after suturing the subcutaneous tissue and skin, **f.** Cystopexy, **g.** Colopexy, **h.**



Kolopeksi ve sistopeksi için göbek deliğinden pubise doğru yapılan median ve paramedian deri ensizyonuna takiben linea alba kesilerek abdomen içerisine girildi. İdrar kesesinin ventro-lateralinde, apekse yakın yaklaşık 1-2 cm<sup>2</sup> lik bir alana yüzlek koterizasyon yapıldı. Aynı işlem idrar kesesinin tutturulacağı karın duvarı bölgesinde 1-2 cm<sup>2</sup> lik bir alana uygulandıktan sonra bu bölgeler monofilament, örgüsüz, emilmeyen 2/0 numara polipropilen dikiş materyali (Prolen® TIPKİMSAN) kullanılarak basit ayrı teknikte atılan 2-3 dikişle birbirine tutturuldu (Şekil 1-g). Kolon da aynı aşamalardan sonra karın duvarına tutturularak kolopeksi ve sistopeksi işlemi tamamlandı (Şekil 1-h). Hem kolopeksi hem de sistopekside dikiş materyalinin ilgili organların mukoza katmanlarından geçmemesine özen gösterildi. Rektus abdominis, deri altı bağ doku ve deri kapatılarak operasyon sonlandırıldı.

#### Postoperatif Bakım ve Değerlendirme

Hasta reanimasyonda, hasta sahibine teslim edilmeden önceki dönemde, şiddetli ağrı bulguları ile ilgili tarafta siyatik sinir parezi veya paralizisi varlığı açısından değerlendirildi. Hastalar anesteziden tam olarak uyandırıldıktan sonra, yakalık takılarak hasta sahiplerine teslim edildi. Hastalara postoperatif 5 gün kullanılmak üzere seftriakson sodyum (Novasef®, Zentiva) 20 mg/kg dozda IM olarak, 3 gün kullanılmak üzere meloksikam (Melox®, Nobel) 0.1 mg/kg dozda SC ve ranitidin (Ulcuran®, Abfar) 0.5 mg/kg dozda SC olarak reçetelendirildi. Ayrıca hastalara postoperatif dönemde en az 30 gün boyunca liften zengin diyetle besleme önerildi. Hastalar postoperatif 10. Gün kontrole çağrıldı. Perineal bölge, preskrotal bölge ve abdomendeki dikişlerde açılma, deri altı seroma birikimi, enfeksiyon varlığı gibi komplikasyonlar açısından değerlendirildi ve dikişler uzaklaştırıldı. Ayrıca nüks varlığı inspeksiyon ve palpasyonla değerlendirilerek kaydedildi. Hasta sahipleri operasyondan 1 yıl sonra telefonla aranarak nüks oluşup oluşmadığı soruldu.

#### BULGULAR

Çalışmamıza, perineal bölgede şişlik (Şekil 2-a), dışkı yaparken ağrı duyma, dışkıda kan gibi şikayetlerle getirilen 11 kısırlaştırılmamış erkek köpek dahil edildi. Köpeklerin hiç biri daha önce benzer bir şikayetten ötürü operasyon geçirmemişti. Köpeklerin yaşları 7 ay ile 14 yaş arasında değişmekte (ort. 8,1 yaş) idi. Irk dağılımı 4 terrier, 3 pekingese, 1 yorkshire terrier, 1 giant schnauzer, 1 husky ve 1 melez ırk şeklindeydi. Klinik muayenede köpeklerin 5 'inde (%45) sağ, 5 'inde (%45) sol, 1 tanesinde (%10) ise bilateral perineal fitik tespit edildi. Hastaların beşinde ağırlı dışkılama ve rektum deviasyonu, 1 hastada dışkıda kan ve strangüri ve hastaların tamamında reddedilebilir perineal şişlik mevcuttu. Bilateral perineal fitik tespit ettiğimiz 3 numaralı olguda (Şekil 2-b) sağ tarafta kolon, sol tarafta ise idrar kesesinin fitiklaştığı görüldü. Diğer 10 olgumuzda ise fitik içeriği sadece retroperitoneal yağ dokudan müteşekkil idi. Hastaların iki tanesinde aynı zamanda inguinal kriptorşidi tespit edildi (Şekil 2 e-f). Bu hastalardan birinde inguinal kriptorşidi bilateral (Olgu no 4) iken, diğer hastada (Olgu no 1) ise unilateral karakterdeydi. Akut postoperatif dönemde operasyon yapılan tarafta, arka ekstremitede sinirsel iletim kaybına ve uyanırken şiddetli ağrı bulgularına rastlanmadı. Postoperatif 10. Gün kontrolünde hastaların tümünde perineal refleks mevcuttu, dikişlerde açılma, enfeksiyon, dışkı kaçırma ve nüks gibi komplikasyonlarla karşılaşmadı. Sadece bir hastada postoperatif 10. Gün kontrolde laparotomi dikişleri çevresinde fluktuant bir şişkinlik tespit edildi. Bu hastada seroma punksiyonla uzaklaştırıldı ve bu durumla ilişkili başka bir komplikasyon oluşmadı. Rektumda preoperatif dönemde var olan deviasyon (Şekil 2-c) ve dilatasyonun postoperatif 10. Gün kontrolde tüm hastalarda ortadan kalktığı görüldü. Bir yıl sonra yapılan telefon görüşmesinde ise sadece bir olguda (Olgu no 2) operasyondan 11 ay sonra nüks şekillendiği öğrenildi (Tablo 1).



**Şekil 2.** Sol perineal fitik preoperatif görüntü (ok), 7 numaralı olgu, **a.** Bilateral perineal fitik preoperatif görüntü (oklar), 3 numaralı olgu, **b.** Sol perineal fitiği olan 1 numaralı olguda rektum deviasyonu, **c.** Yine 1 numaralı olguda sağlam olan sağ perineal bölgede deviasyon gözlenmedi, **d.** Unilateral inguinal kriptorşidi (ok), 1 numaralı olgu, **e.** Bilateral inguinal kriptorşidi (oklar), 4 numaralı olgu, **f.** Postoperatif 10. Gün görüntüsü, 6 numaralı olgu, **g.** Postoperatif 10. Gün görüntüsü, 1 numaralı olgu, **h.** Postoperatif 10. Gün görüntüsü, 7 numaralı olgu, **i.**

**Figure 2.** Preoperative view of left perineal hernia (arrow), case no 7, **a.** Preoperative view of bilateral perineal hernia (arrows), case no 3, **b.** Rectum deviation in rectal examination in left perineal hernia, case no 1, **c.** No rectal deviation was observed on right perineal region in case no 1, **d.** Unilateral inguinal cryptorchidism (arrow), case no 1, **e.** Bilateral inguinal cryptorchidism (arrows), case no 4, **f.** Postoperative 10th Day view, case no 6, **g.** Postoperative 10th Day view, case no 1, **h.** Postoperative 10th Day view, case no 7, **i.**

**Tablo 1.**Çalışma popülasyonuna ait preoperatif ve postoperatif veriler.**Table 1.** Preoperative and postoperative data belongs to the study population.

Olgu No	İrk	Yaş	Fıtığın oluştuğu perineal bölge	Klinik Bulgular	Fıtık İçeriği	Rastlanılan Diğer Anomaliler	Nüks
1	Yorkshire Terrier	4 yaş	Sol perineal bölge	Ağrılı dışkılama, rektum deviasyonu, perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	Unilateral inguinal kriptorşidi	-
2	Giant Schnauzer	7 yaş	Sağ perineal bölge	Ağrılı dışkılama, rektum deviasyonu, perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	-	Postoperatif 11. ay
3	Husky	7 yaş	Bilateral perineal bölge	Ağrılı dışkılama, strangüri, dışkıda kan, perineal şişlik	Sağ kolon, Sol idrar kesesi	-	-
4	Pekingese	5 yaş	Sol perineal bölge	Perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	Bilateral inguinal kriptorşidi	-
5	Terrier	10 yaş	Sağ perineal bölge	Ağrılı dışkılama, perineal şişlik Rektum deviasyonu	Retroperitoneal yağ	-	-
6	Terrier	7 aylık	Sağ perineal bölge	Perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	-	-
7	Pekingese	10 yaş	Sol perineal bölge	Perineal şişlik Rektum deviasyon	Retroperitoneal yağ	-	-
8	Terrier	13 yaş	Sağ perineal bölge	Perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	-	-
9	Pekingese	11yaş	Sol perineal bölge	Ağrılı dışkılama, perineal şişlik Rektum deviasyonu	Retroperitoneal yağ	-	-
10	Melez	8 yaş	Sol perineal bölge	Perineal şişlik, rektum deviasyonu	Retroperitoneal yağ	-	-
11	Terrier	14yaş	Sağ perineal bölge	Perineal şişlik	Retroperitoneal yağ	-	-

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Perineal fıtıklar çok büyük bir çoğunlukla kısırlaştırılmamış erkek köpeklerde görülen ve prevalansı %0.1 ila %0.4 arasında değişen bir hastalıktır (15).

Perineal hernilerin daha çok kısırlaştırılmamış erkek köpeklerde görülmesi, hormonların bu hastalığın oluşmasında önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle fıtık onarımı esnasında kastrasyon da yapılması önerilmektedir. Yapılan çalışmalar, fıtık onarımı esnasında kastre edilmeyen köpeklerde nüks ihtimalinin 2.7 kat arttığını ve kastrasyonun nüks ihtimalini %23 ila %43 arasında azalttığını ortaya koymuştur (25,28). Çalışmamızda da literatürle benzer şekilde, köpeklerin tamamı kısırlaştırılmamış erkek köpeklerdi ve sadece operasyondan 11 ay sonra nüks şekillenen hastamıza (Olgu no 2) hasta sahibinin rızası olmadığı için kastrasyon yapılmamıştı.

Perineal fıtıklar genelde 7 ila 13 yaş arasındaki köpeklerde, en çok ise 7 ila 9 yaş arasında görülmektedir (5,8-10,16). Çalışmamıza dahil ettiğimiz köpeklerin yaş ortalaması ise 8.1 yaşdır. Ancak hasta popülasyonumuz arasında 7 aylık kısırlaştırılmamış erkek bir terrier de mevcuttu. Bu hastamızın klinik muayenesinde sürekli havlayarak intra-abdominal basıncı arttırdığı anamnez bilgisi olarak verilmiş ve perineal fıtık gelişimine bu davranış bozukluğunun neden olduğu düşünülmüştür. Hasta sahipleri de perineal fıtık gelişimine sebep olacak başka bir nedeni anamnez bilgisi olarak tarafımıza bildirmemiştir. Bu hastada postoperatif olarak diğer hastalarımızdan farklı olarak 1 mg/kg dozda fluoksetin hidroklorür (Prozac®, Şurup, Lilly) PO yolla günde 1 kez 15 gün boyunca kullanılmış ve herhangi bir postoperatif komplikasyon veya kısa ve uzun dönem nüks şekillenmemiştir.

Çalışmamızda iki olguda (Olgu no 1 ve 4) klinik muayenede inguinal kriptorşidi varlığı tespit edilmiştir. Bu hastalarımızdan birinin yaşı 4 iken diğerinin yaşı 5 dir. Aslında, perineal fıtıkların en çok gözlemlendiği yaş aralığı olan 7-13 yaştan daha genç bir yaşta, bu köpeklerde perineal fıtık geliştiği tespit

edilmiştir. Yapılan bir çalışma, inguinal kriptorşidili köpeklerin kan testosteron düzeyinin, kriptorşidik olmayan köpeklere kıyasla anlamlı derecede yüksek seyrettiğini ortaya koymuştur (29). Bu bağlamda bu iki hastamızda daha erken yaşta perineal fıtık şekillenmiş olması, hastaların sürekli daha yüksek düzeyde testesterona maruz kalmalarına bağlanabilir. Her ne kadar köpeklerde kriptorşidizm ve perineal fıtık oluşma yaşı arasındaki korelasyon ayrı bir çalışma konusu olsa da, kriptorşidizm tanısı genç yaşta konan köpeklerin sahiplerine, kriptorşidik testisin bir an önce uzaklaştırılmasının önerilmesi, perineal fıtık profilaksisi açısından da bir anlam ifade ediyor olabilir.

Perineal fıtıklar, unilateral (%47-%66) veya bilateral olarak şekillenebilir. Unilateral olgularda en çok sağ tarafın etkilendiği (%59-84) bildirilmekle birlikte (10,14,30) çalışmamızda her iki tarafın da eş düzeyde etkilendiği görülmüştür.

Internal obturator kas transpozisyonunun, geleneksel herniorafi ile karşılaştırıldığında, dikişler üzerindeki gerginliği ve eksternal anal sfinkterin distorsiyon oranını azaltması, bölgenin kanlanmasını artırarak daha çabuk iyileşmesini sağlaması gibi avantajları vardır (30). Sistopeksi ve kolopeksi ise, idrar kesesi retrofleksiyonu ve rektum prolapsusu ile komplike perineal herni varlığında herniorafi ile birlikte veya birkaç onarım girişimi başarısız olmuşa tek başına tedavi prosedürü olarak kullanılabilen yöntemlerdir (15). Ancak bu yöntemlerin daha çok abdominal içeriğin tekrar fıtıklaşmasını önlemek için kullanıldığı da bilinmektedir (30). Çalışmamızda, obturator internus kas transpozisyonu ve kastrasyon ile birlikte kolopeksi ve sistopeksi de rutin cerrahi tedavi prosedürüne dahil edilmiştir. Sonuçta bu basamakların tamamının uygulandığı hasta popülasyonunda postoperatif 1 yıl içerisinde nüksle karşılaşmamıştır. Nüks görülen tek hastamız (Olgu no 2) da ise bu durumun hastanın kastre edilememesi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Çalışmanın sonuçları tüm tedavi prosedürlerinin bir arada kullanıldığı 10

hastamız üzerinden değerlendirildiğinde hiçbir hastada nüks komplikasyonu ile karşılaşmamıştır.

Sonuç olarak, perineal herni onarımında, internal obturator kas transpozisyonu ile aynı seansta kastrasyon, sistopeksi ve kolopeksinin bir arada uygulanması ile postoperatif nükslerin önlenebileceği ve rutin tedavi prosedürü olarak kullanılmasının faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Al-Akraa AM., 2015. Standard herniorrhaphy, polypropylene mesh and tension band for repair of perineal hernia in dogs. *Int J Adv Res*, 3, 174-181.
2. Khatri-Chhetri N., Khatri-Chhetri R., Chung CS., Chern RS., Chien CH., 2016. The spatial relationship and surface projection of canine sciatic nerve and sacrotuberous ligament: A perineal hernia repair perspective. *PLoS One*, 11, 1-12.
3. Shaughnessy M., Monnet E., 2015. Internal obturator muscle transposition for treatment of perineal hernia in dogs: 34 cases (1998-2012). *J Am Vet Med Assoc*, 246, 321-326.
4. Villamil CS., Carrera AE., 2016. Perineal herniorrhaphy in a dog using a cone-shaped polypropylene mesh implant. *Vet Rec Case Rep*, 4, 1-5.
5. Sharma AK., Kumari Chandrakala LK., Singh S., Kumar S., Kumar P., 2016. Successful surgical management of recurrent perineal hernia using colopexy and cystopexy in a dog. *Int J Livest Res*, 6, 105-109.
6. Saberi M., Akhtardanesh B., Shojaeepour S., 2014. Bilateral perineal hernia with urinary bladder retroflexion in a terrier dog. *Onderstepoort J Vet Res*, 18, 359-363.
7. Morello E., Martano M., Zabarino S., Piras LA., Nicoli S., Bussadori R., Buracco P., 2015. Modified semitendinosus muscle transposition to repair ventral perineal hernia in 14 dogs. *J Small Anim Pract*, 56, 370-376.
8. Snell WL., Orsher RJ., Larenza-Menzies MP., Popovitch CA., 2015. Comparison of caudal and pre-scrotal castration for management of perineal hernia in dogs between 2004 and 2014. *N Z Vet J*, 63, 272-275.
9. Reddan S., 2014. Herniorrhaphy of a unilateral perineal hernia and castration. *VNJ*, 29, 14-16.
10. Pirker A., Brandt S., Seltenhammer M., Skalitzky M., Dupre G., 2009. Relaxin expression in the testes of dogs with and without perineal hernia. *Vet Med Austria*, 96, 34-38.
11. Seim HB., 2009. Surgical management of perineal hernia. *Proceedings of NAVC Conference*, 1571-1573.
12. Spreull JSA., Frankland AL., 1980. Transplanting the superficial gluteal muscle in the treatment of perineal hernia and flexure of the rectum in the dog. *J Small Anim Pract*, 21, 265-278.
13. Walker RG., 1965. Perineal hernia in the dog. *Vet Rec*, 77, 93-94.
14. Hosgood G., Hedlund CS., Pechman RD., Dean PW., 1995. Perineal herniorrhaphy: perioperative data from 100 dogs. *JAAHA*, 31, 331-342.
15. Aronson LR., 2012. Rectum, Anus, and Perineum. In: "Veterinary Surgery Small Animal", Eds., KM Tobias, SA Johnston, 1564-1600, Elsevier Saunders, Missouri.
16. Harvey CE., 1977. Treatment of perineal hernia in the dog-a reassessment. *J Small Anim Pract*, 18, 505-511.
17. Farquharson J., 1947. Surgical treatment of perineal hernias. *Proceeding of American Animal Hospital Association*. Tulsa, OKLAHAMA.
18. Hardie EM., Kolota RJ., Earley TD., Rawlings CA., Gorgacz EJ., 1983. Evaluation of internal obturator muscle transposition in treatment of perineal hernia in dogs. *Vet Surg*, 12, 69-72.
19. Doust R., 2003. Semitendinosus muscle transfer flap for external anal sphincter incompetence in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 222, 1385-1387.
20. Clarke RE., 1989. Perineal herniorrhaphy in the dog using polypropylene mesh. *AVP*, 19, 8-14.
21. Frankland AL., 1986. Use of porcine dermal collagen in the repair of perineal hernia in dogs-a

- preliminary report. *Vet Rec*, 119, 13-14.
22. Kang EH., Chang HS., Yang HT., Chung DJ., Lee JH., Yang WJ., Choi CB., Kim HY., 2006. The use of polypropylene mesh for perineal herniorrhaphy in the dog. *J Vet Clin*, 23, 461-464.
23. Stoll MR., Cook JL., Pope ER., Carson WL., Kreeger JM., 2002. The use of porcine small intestinal submucosa as a biomaterial for perineal herniorrhaphy in the dog. *Vet Surg*, 31, 379-390.
24. Vnuk D., Maticic D., Kreszinger M., Radisic B., Kos J., Lipar M., Babic T., 2006. A modified salvage technique in surgical repair of perineal hernia in dogs using polypropylene mesh. *Vet Med Czech*, 51, 111-117.
25. Bellenger CR., 1980. Perineal hernia in dogs. *Aust Vet J*, 56, 434-438.
26. Hayes HM., Wilson GP., Tarone RE., 1978. The epidemiologic feature of perineal hernias in 771 dogs. *JAAHA*, 14, 703-707.
27. Towle HA., 2012. Testes and Scrotum. In "Veterinary Surgery Small Animal", Eds., KM Tobias, SA Johnston, 1913-1916, Elsevier Saunders, Missouri.
28. Canfield RB., 1985. Perineal hernia. In "Textbook of Small Animal Surgery", Ed., D Slatter, 487-498, Saunders, Philadelphia.
29. Matteeuws D., Comhaire FH., 1989. Concentrations of oestradiol and testosterone in peripheral and spermatic venous blood of dogs with unilateral cryptorchidism. *Domest Anim Endocrinol*, 6, 203-209.
30. Snow LA., 2016. Perineal Herniorrhaphy. In "Complications in Small Animal Surgery", Eds., D Griffon, A Hamaide, 388-395, Wiley Blackwell, Singapore.



## Koyunlarda Doğum Sonrası Erken Laktasyon Döneminde Leptin ve Ghrelin Seviyelerinin Değişimleri

Duygu UDUM KÜÇÜKŞEN<sup>1</sup>✉

1. Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Bursa, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
22.03.2017	27.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Laktasyon, ruminantlarda enerji metabolizmasında önemli değişimlerin olduğu bir dönemdir. Leptin ve ghrelin enerji homeostazisinin düzenlenmesinde kritik rol oynayan hormonlardır. Bu çalışmada koyunlarda erken laktasyon döneminde oluşan enerji metabolizması değişimlerinde görev alan leptin ve ghrelin hormon seviyeleri incelendi. Hormon ölçümleri spesifik ticari elisa kitleri kullanılarak belirlendi. Doğumdan sonra 10 koyunun erken laktasyon döneminin 4. ve 6. haftalarındaki plazma leptin ve ghrelin seviyeleri ölçüldü. Leptin ve Ghrelin düzeyleri 4. haftada 6. haftaya göre anlamlı olarak düşük bulunduğu gözlemlendi ( $P<0.05$ ). Ayrıca 6. haftada bu seviyelerin arttığı gözlemlendi. Ayrıca leptin ve ghrelin seviyeleri arasında yüksek düzeyde anlamlı korelasyon tespit edildi. Bu sonuçlar leptin ve ghrelin peptitlerinin erken laktasyonda meydana gelen enerji değişimlerine cevaben metabolizmada birlikte rol oynadıkları ve eş zamanlı azalıp arttıklarını göstermiştir. Bu durum doğum ve doğum sonrası emzirme ile beraber, artan enerji ihtiyacı, kilo kayıpları ve adipoz dokudaki lipitlerin mobilizasyonu ya da enerji metabolizmasında görev alan başka hormonal düzenleme mekanizmaları ile ilgili olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Erken Laktasyon, Ghrelin, Koyun, Leptin.

## Changes of Leptin and Ghrelin Levels in the Early Lactation Period After Birth in Sheep

**Abstract:** Lactation is a period, which involves important changes of energy metabolism in ruminants. Leptin and ghrelin are hormones that play a critical role in the regulation of energy homeostasis. In this study we investigated levels of leptin and ghrelin hormones, which have roles on changes of energy metabolism, during early lactation period in sheep. Leptin and ghrelin levels of 10 sheep after birth were measured at the 4th and 6th weeks of the early lactation period. Hormone measurements were analyzed with using specific commercial ELISA kits. Leptin and Ghrelin levels were significantly lower in the 4th week than in the 6th week ( $P<0.05$ ). There was also a high level of significant correlation between leptin and ghrelin levels. These results have shown that leptin and ghrelin peptides play a role in metabolism in response to energy changes in the early lactation and are simultaneously decreasing or increasing. This may be related to increased energy needs, weight loss, mobilization of adipose tissue lipids, or other hormonal regulatory mechanisms involved in energy metabolism as well as birth and postpartum breastfeeding.

**Keywords:** Early Lactation, Ghrelin, Leptin, Sheep.

## GİRİŞ

**G**hrelinin asile edilmiş 28 amino asitten oluşan bir peptittir (1) ve hormonal sekresyon, adipogenezis, kısa dönemli gıda tüketimini artırması, pozitif enerji dengesi oluşturması, gastro-intestinal motilite, hücre proliferasyonu, kemik metabolizması ve reproduksiyon üzerine etkilerinin mevcut olduğu rapor edilmiştir (2). Ghrelinin aynı zamanda rodentlere periferik ya da merkezi olarak verildiğinde vücut ağırlık artışı ve gıda alımını uyardığı, in vitro primer rat hipofiz hücrelerinden GH salınımına da neden olduğu bildirilmiştir (1,3,4,5). Ghrelinin, insan ve rodentlerin midelerinde, sıgırların abomasum ve rumen dokularında oksintik bezler tarafından sentez edildiği bilinmekte (6,7) ve ruminantlarda gıda tüketimi veya enerji dengesinin düzenlenmesinde görev alabileceği öne sürülmektedir (6). Bununla birlikte insan ve rodentlerde çok iyi açıklanmış olan ghrelinin salınımı ve etkisinin ruminantlarda da benzer olup olmadığı hala tartışma konusudur.

Leptin adipoz doku tarafından sentezlenen obez geninin (ob) bir ürünüdür ayrıca gıda tüketimi ve enerji homeostazisinde rol oynar. Ruminantlarda plazma leptin konsantrasyonlarının vücut yağı ile ilişkili olduğu (8), büyüme ve beslenme durumlarından etkilendiği ve istemli gıda tüketimini azalttığı rapor edilmiştir (9,10). Ayrıca ghrelinin, hipotalamik nöropeptit Y/Y1 reseptörünün aktivasyonunu antagonize edebileceği rapor edilmiştir (11). Plazma ghrelin seviyesindeki değişimlerin leptin seviyeleri ile orantılı olduğu bulunmuştur (12). Açlık süresince plazma ghrelin konsantrasyonları artarken leptin konsantrasyonları da eş zamanlı olarak düşmekte, gıda alımı sırasında ise bu durum tersine dönmektedir. Leptin ve ghrelin arasındaki bu zıt etkiler çok iyi analiz edilmiş ve leptinin dolaşımdaki ghrelin seviyeleri üzerinde bir etkiye sahip olduğu öne sürülmüştür. Bunun yanı sıra ghrelinin kronik olarak verilmesi sonucunda adipoziteyi uyarak vücut ağırlığını artırdığı ve enerji

harcanması, yağ yıkımı ve lipolizisi azalttığı gözlenmiştir (13).

Laktasyon sırasında anneden yavruya, hayatta kalması için gerekli olan önemli miktardaki enerji aktarılır. Laktasyonun başlamasıyla, meme bezinin de eklenen metabolik aktiviteleri toplam enerji gereksinimlerini yaklaşık dört kat artırmaktadır. Gebelikten laktasyona geçiş sürecinde vücutta metabolizmayı düzenleyici komplekste ve enerji dengesinin dinamik değişimlerinde leptin ve ghrelin peptitlerinin rolüne ait çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ayrıca insan ve rodentlere göre daha çok enerji açığa çıkan çiftlik hayvanlarında, doğumdan sonra artmış enerji metabolizmasında görev alan bu metabolik hormonlara ait ulaşılabilir bilgi çok azdır.

Bu çalışmada erken laktasyondaki koyunlarda plazma leptin ve ghrelin konsantrasyonları belirlenerek, enerji homeostazisinde görev alan bu hormonlar ve doğum sonrası düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırma materyalini 2. ve 3. doğumlarını gerçekleştirmiş, toplam 10 baş Kıvırcık ırkı koyun oluşturmuştur. Çalışma Bursa'daki ticari bir koyun yetiştiricisinin sürüsünde gerçekleştirilmiş ve koyunlar doğurdukları tarihe göre kaydedilerek aynı tarihte doğuranlar çalışmaya alınmıştır. Koyunların doğum ağırlığı ortalaması 2.86 kg'dır. Çalışma boyunca su ve yulaf kuru otu koyunlara ad-libitum olarak verilmiştir ve günlük olarak hayvan başına 500 g konsantre yem (koyun süt yemi) sunulmuştur. Koyunlara verilen süt yeminin besin maddesi içeriği Tablo 1'de belirtilmiştir. Doğumu takiben ilk bir hafta koyunlar meraya çıkartılmamış ve kuzular annelerinin yanında kalmışlardır. Doğumu takiben bir hafta sonrasında koyunlar sabah meraya çıkartılıp ortalama günde 6 saat merada kaldıktan sonra ertesi gün tekrar meraya çıkana kadar yavruları ile beraber barındırılmışlardır. Çalışmanın deneysel kısmında



koyunların hormon seviyelerini tespit etmek üzere belirlenen koyunlardan, doğum sonrası 4. ve 6. haftalarda birer kez olmak üzere toplam 2 kez vena jugularisden heparinli tüplere kan alınmıştır. Analizler, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Alınan kan örnekleri soğuk zincir koşullarında kısa süre içerisinde laboratuvara taşınarak 3000 rpm'de 10 dakika süresince santrifüj edilmiştir. Oluşan plazma numuneleri -20°C'de analiz gününe kadar depolanmıştır. Analiz gününde plazma örnekleri ghrelin ve leptin konsantrasyonları belirlenmek amacıyla koyun spesifik ticari elisa kitleri kullanılmıştır (Eastbiopharm Sheep Ghrelin Elisa kit CK-E90718 ve Eastbiopharm Sheep Leptin Elisa kit CK-E90719). Laboratuvarda plazma numuneleri kit prosedürü doğrultusunda çalışılarak Biotek Epoch marka plate reader ile ölçümler gerçekleştirilmiştir. Çalışma, Uludağ Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 2013-09/03 karar numarası ile etik kurulu onaylanmıştır.

**Tablo 1.** Koyun süt yeminin besin maddesi içeriği<sup>1</sup>

**Table 1.** Nutrient content of sheep milk diet<sup>1</sup>

Besin maddesi	Koyun süt yemi (pelet formunda) <sup>2,3</sup>
Kuru madde, %	90.25
Ham protein, (% 100 KM <sup>4</sup> )	18.22
Ham yağ, (% 100 KM <sup>4</sup> )	4.08
Ham selüloz, (% 100 KM <sup>4</sup> )	9.82
Ham kül, (% 100 KM <sup>4</sup> )	9.49

<sup>1</sup> Yemin besin maddesi analizleri AOAC (1990)'da belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. <sup>2</sup> ProYem, Koyun Süt Yemi, Matlı Yem Fabrikası, Karacabey/TÜRKİYE. <sup>3</sup> Koyun süt yemi karomasında kullanılan hammaddeler: mısır, buğday kepeği, arpa, mısır gluten yemi, ayçiçeği tohumu küspesi, soya fasulyesi küspesi, melas, soya yağı, mineral-vitamin premiksi, kireç taşı, tuz. <sup>4</sup> Kuru madde.

## İstatistiksel Analiz

Hormonal verilerin karşılaştırılmasında Paired Sample t-test kullanılmış, Korelasyon analizleri için Pearson Korelasyon tercih edilerek önemlilik testi ise çift yönlü olarak yapılmıştır.

Önemlilik düzeyi P<0.05 olarak alınmıştır. Tüm istatistik analizler SPSS (Version 20.0) programından yararlanılarak yapılmıştır (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## BULGULAR

Doğumdan sonra 4. hafta plazma ghrelin konsantrasyonları 6. haftaya göre daha düşük seviyede seyrettiği, yine plazma leptin konsantrasyonlarının da aynı şekilde 4. haftada 6. haftaya göre daha düşük seviyede seyrettiği gözlenmiştir (Tablo 2). Bununla birlikte Kıvırcık ırkı koyunların ghrelin ve leptin hormonlarının haftalara göre ortalama seviyeleri istatistiki yönden önemli olmadığı saptanmıştır (P<0.47 ve P<0.22 sırasıyla). Ghrelin ve leptinin 4. ve 6. haftaya ait konsantrasyonları arasındaki korelasyon katsayıları pozitif (r=0.99) ve önemli bulunmuştur (Tablo 3) (P<0.01).

**Tablo 2.** Koyunlarda erken laktasyon döneminde leptin ve ghrelin hormonlarının haftalık ortalama seviyeleri

**Table 2.** Weekly average levels of leptin and ghrelin hormones in the early lactation period in sheep.

Hormon	Zaman (hafta)	Ortalama $\pm$ S.H.	P
Ghrelin G	4	224.12 $\pm$ 95.49	0.47
	6	287.90 $\pm$ 100.57	
Leptin Lep 4 Lep 6	4	2.15 $\pm$ 0.93	0.22
	6	3.48 $\pm$ 1.13	

**Tablo 3.** Koyunlarda erken laktasyon döneminde leptin ve ghrelin hormonlarının haftalık korelasyon analizi.  
**Table 3.** Weekly correlation analysis of leptin and ghrelin hormones in early lactation period in sheep.

Hormon		Lep 4	Gre 6	Lep 6	Doğum Ağırlığı
Gre 4	r	0.99	0.64	0.58	-0.62
	P	<0.01	0.12	0.17	0.14
Lep 4	r		0.62	0.57	-0.66
	P		0.13	0.18	0.11
Gre 6	r			0.99	-0.04
	P			<0.01	0.93
Lep 6	r				0.01
	P				0.98

Gre 4: 4. Hafta Ghrelin düzeyi, Gre 6: 6. Hafta Ghrelin düzeyi, Lep 4: 4. Hafta Leptin düzeyi, Lep 6: 6. Hafta Leptin düzeyi.

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Laktasyon ve meme bezinin metabolik aktiviteleri toplam enerji gereksinimlerini önemli düzeyde arttırmaktadır. Özellikle laktasyonun erken döneminde istemli yem tüketimi ile artan enerji harcamalarını karşılamak mümkün olmaz ve önemli bir enerji açığı gelişir. Bu enerji açığı beyaz yağ dokusundan lipidlerin mobilize edilmesi ile karşılanmaktadır (14,15,16). Gebelik ve laktasyon, hormonal değişikliklerle karakterize edilen fizyolojik durumlardır. Buna ilaveten, enerji homeostazisinde önemli rol oynayan leptin ve ghrelin gibi hormonların kandaki konsantrasyonları günlük, mevsimsel ve metabolik durumlarına göre değişimler göstermektedir. Çalışmada laktasyon döneminde de gerçekleşen enerji açığından bu hormonların plazma seviyelerinin ne düzeyde etkilendiği incelendi.

Çalışmada süt veriminin yükseldiği laktasyonun 4. haftasında leptin ve ghrelin seviyeleri düşük düzeyde seyrettiği oysa erken laktasyonun bitmesine yakın dönem olan 6. haftada bu hormonların plazma seviyelerinin biraz daha arttığı gözlenmektedir. Laktasyon döneminde süt üretiminin bir sonucu olarak, birtakım metabolik sinyaller tarafından yansıtılan enerji dengesinde bir değişiklik oluşmaktadır, tiroid hormonu seviyelerindeki düşüşler buna en güzel örnektir (17). Aslında artan enerji ihtiyacını karşılamak için laktasyonda gıda alımı

birkaç kat artmaktadır (18). Bununla birlikte gıda alımını önemli bir şekilde arttıran ghrelin, çalışmamızda erken laktasyon döneminde plazma seviyelerinde düşük seyirler göstermiştir. Shibata ve ark. (19), ratlarda gebelik ve laktasyon süresince plazma ghrelin konsantrasyonlarının önemli bir şekilde düştüğünü öne sürmüşlerdir ve bu çalışmamızda elde edilen bulgularımızla uygunluk göstermektedir. Ghrelinin dolaşımdaki seviyeleri laktasyondaki gıda alımı artışına paralel seyir göstermemesi, laktasyonda değişen enerji dengeleri ve metabolizmada kısmen bağımsız birkaç mekanizmayı kapsayabilir. Başka endojen ligandların veya muhtemelen çapraz reaksiyona giren diğer hormonların dolaşımdaki konsantrasyonu ghrelinin plazma seviyelerini etkileyebileceği rapor edilmiştir (20). Buna en güzel örnek; ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı etkisiyle beraber, ekzojen büyüme hormonu verilmesi, midedeki ghrelin mRNA ekspresyonunu ve plazma ghrelin düzeyini düşürdüğü görülmüştür (21). Yine başka bir çalışmada, ratlarda laktasyon süresince dolaşım ghrelin seviyelerinde bir değişiklik görülmemiş ve dolaşım büyüme hormonu üzerine ghrelinin bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir (19). Büyüme hormonunun erken laktasyon döneminde artması göz önüne alındığında (22); hipofiz büyüme hormonu, midedeki ghrelin üretimi üzerine bir feed-back düzenleme göstermekte ve ghrelin seviyelerini hipotalamik

olarak negatif etkilemektedir. Tüm bu bilgiler dikkate alındığında, çalışmamızda erken laktasyonda dolaşım ghrelin seviyelerinin etkilenmemesi hormonların birbirleri üzerine olan etkileri sonucu oluşabilir. Çalışmada plazma leptin konsantrasyonlarının ghrelina benzer şekilde laktasyonun 4. haftasında 6. haftaya göre daha düşük düzeylerde seyrettiği gözlenmiştir. Rodent ve insanlarda bildirildiği gibi (23,24,25,26) süt sığırlarında da (27) gebelikten erken laktasyona geçişte plazma leptin konsantrasyonlarında bir düşme görülmüştür. Deney türleri ve stratejilerinin farklı olmasına rağmen leptin düzeylerinde elde edilen bu benzer düşmeler, erken laktasyonun enerji ihtiyacını karşılama amacıyla açıklanabilir. Leptin, yem alımının ve enerji düzenlenmesindeki rolü nedeniyle, gebelikten laktasyona geçiş sırasında metabolizmanın koordinasyonuna katılabilir (27). Block ve ark. (27) süt ineklerinde yaptıkları çalışmada doğum ve laktasyonun 3. haftasında enerji ihtiyacının yaklaşık %33'ünü endojen lipit mobilizasyonu ile sağlandığını bildirmişlerdir. Buna göre adipoz dokudan salgılanan leptinin, doğum sonrası erken laktasyonda dolaşımdaki seviyesinin düşmesi, lipit mobilizasyonu sonucu adipoz doku kitlesinin azalması ile ilişkilendirilebilir.

Aydın ve ark. (28), laktasyon dönemindeki insanlarda yaptıkları çalışmada doğumdan sonra ghrelin seviyelerinin dereceli olarak arttığını ve bu dereceli artışın annenin doğum sonrası kilo kaybı ile bağlantılı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da doğumdan sonra koyun plazma ghrelin seviyelerinin dereceli olarak arttığını tespit ettik. Doğumdan sonra zamanla oluşan kilo kayıpları ve ghrelin peptidin kilo kayıplarına cevaben dolaşım seviyelerinin dereceli artışını açıklamaktadır. Doğum sonrası süt ineklerinde plazma leptin düzeylerinde meydana gelen değişimlerin çoğu beslenme ve adipozite arasındaki etkileşimi göstermektedir. Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada leptin ve diğer metabolik hormonlar arasında önemli bir korelasyon elde edilmiş ve bu yüksek korelasyonun enerji dengesindeki eşzamanlı

düzenlemeyi temsil edebileceği öne sürülmüştür (27). Bizim çalışmamızda da aynı şekilde doğum sonrası erken laktasyondaki koyunların plazma ghrelin ve leptin seviyelerine ait anlamlı korelasyonlar, bu iki önemli metabolik hormonun enerji homeostazisinde birlikte çalıştığını göstermektedir. Bunun yanı sıra çalışmamızda bir takım kısıtlamaların olduğuna ve özellikle materyal sayısının az olduğuna da dikkat edilmelidir. Ayrıca ruminantlarda doğum sonrası anne plazmasındaki leptin ve ghrelin seviyelerine ait araştırmaların az bulunması diğer çalışmalarla karşılaştırma yapılmasını zorlaştırmaktadır. Laktasyondaki koyunlarda ghrelin ve leptin hormon düzeylerinin tespiti önemli olmakla beraber bu çalışmaya ek olarak yavruların plazmasında ve anne sütündeki bu hormon seviyelerinin analizinin yapılmasına ve süt verimi, canlı ağırlık, kuzulardaki süt tüketimi gibi parametrelerin belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, çalışmada ghrelin ve leptin peptitlerinin plazma konsantrasyonlarının erken laktasyonda süt veriminin en yoğun olduğu 4. haftaya göre erken laktasyonun bitmesine yakın dönem olan 6. haftada daha yüksek olması, bu durumun annenin doğum ve doğum sonrası emzirme ile beraber oluşan kilo kayıpları ve adipoz dokudaki lipitlerin mobilizasyonu ya da enerji metabolizmasında görev alan başka hormonal mekanizmaların işe karışması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Bununla birlikte ghrelin ve leptin peptitleri arasındaki yüksek korelasyon koyunlarda erken laktasyonda oluşan enerji eksikliğine cevaben enerji homeostazisinde bu iki önemli metabolik peptidin birlikte görev aldıklarını göstermektedir.

#### TEŞEKKÜR

Bu çalışma, KUAP (V)-2013/78 numaralı Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri desteği ile yapılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa K., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402, 656-660.
2. Zizzari P., Hassouna R., Grouselle D., Epelbaum J., Tolle V., 2011. Physiological roles of preproghrelin-derived peptides in GH secretion and feeding. *Peptides*, 32, 2274-2282.
3. Nakazato M., Murakami N., Date Y., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., Matsukura S., 2001. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 409, 194-198.
4. Tschöp M., Smiley DL., Heiman ML., 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 407, 908-913.
5. Cummings DE., Shannon MH., 2003. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight. *Arch Surg*, 138, 389-396.
6. Hayashida T., Murakami K., Mogi K., Nishihara M., Nakazato M., Mondal MS., Horii Y., Kojima M., Kangawa K., Murakami N., 2001. Ghrelin in domestic animals: distribution in stomach and its possible role. *Domest Anim Endocrinol*, 21, 17-24.
7. Gentry PC., Willey JP., Collier RJ., 2003 Ghrelin, a growth hormone secretagogue, is expressed by bovine rumen. *J Anim Sci*, 81, 123.
8. Delavaud C., Ferlay A., Faulconnier Y., Bocquier F., Kann G., Chilliard Y., 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *J Anim Sci*, 80, 1317-1328.
9. Tokuda T., Kimura D., Fujihara T., 2001. The relationships between leptin and insulin in blood plasma of growing lambs. *Anim Sci*, 73, 71-76.
10. Tokuda T., Delavaud C., Chilliard Y., 2002. Effect of dietary energy levels on plasma leptin in sheep. *Anim Sci J*, 73, 471-478.
11. Shintani M., Ogawa Y., Ebihara K., Aizawa-Abe M., Miyanaga F., Takaya K., Hayash T., Inoue G., Hosoda K., Kojima M., Kangawa K., Nakao K., 2001. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes*, 50, 227-232.
12. Cummings DE., Foster KE., 2003 Ghrelin-leptin tango in body-weight regulation. *Gastroenterology*, 124, 1532-1535.
13. Ukkola O., 2003. Ghrelin and insulin metabolism. *Eur J Clin Invest*, 33, 183-185.
14. Bauman DE., Currie WB., 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J Dairy Sci*, 63, 1514-1529.
15. Bell AW., 1995. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J Anim Sci*, 73, 2804-2819.
16. Barber MC., Clegg RA., Travers MT., Vernon RG., 1997. Lipid metabolism in the lactating mammary gland. *Biochim Biophys Acta*, 1347, 101-126.
17. Van Haasteren GA., Van Toor H., Klootwijk W., Handler B., Linkels E., Van der Schoot P., 1996. Studies on the role of TRH and corticosterone in the regulation of prolactin and thyrotrophin secretion during lactation. *J Endocrinol*, 148, 325-336.
18. Ota K., Yokoyama A., 1967. Body weight and food consumption of lactating rats: effects of ovariectomy and of arrest and resumption of suckling. *J Endocrinol*, 38, 251-61.
19. Shibata K., Hosoda H., Kojima M., Kangawa K., Makino Y., Makino I., Kawarabayashi T., Futagami K., Gomita Y., 2004. Regulation of ghrelin secretion during pregnancy and lactation in the rat: possible involvement of hypothalamus. *Peptides* 25, 279-287.
20. Kojima M., Kangawa K., 2005. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev*, 85, 495-522.
21. Vasilatos R., Wangsness PJ., 1981. Diurnal variations in plasma, insulin and growth hormone associated with two stages of lactation in high producing dairy cows. *Endocrinology*, 108, 300-304.
22. Kawai M., Yamaguchi M., Murakami T., Shima K., Murata Y., Kishi K., 1997. The placenta is not the

- main source of leptin production in pregnant rat: gestational profile of leptin in plasma and adipose tissues. *Biochem Biophys Res Com*, 240, 798-802.
23. Brogan RS., Mitchell SE., Trayhurn P., Smith MS., 1999. Suppression of leptin during lactation: contribution of the suckling stimulus versus milk production. *Endocrinology*, 40, 2621-2627.
24. Woodside B., Abizaid A., Walker C., 2000. Changes in leptin levels during lactation: implications for lactational hyperphagia and anovulation. *Horm and Behav*, 37, 353-365.
25. Block SS., Butler WR., Ehrhardt RA., 2001. Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. *J Endocrinol*, 171, 339-348.
26. Aydin S., Ozkan Y., Erman F., Gurates B., Kilic N., Colak R., Gundoga T., Catak Z., Bozkurt M., Akin O., Sen Y., Sahn I., 2008. Presence of obestatin in breast milk: Relationship among obestatin, ghrelin, and leptin in lactating women. *Nutrition*, 24, 689-693.





## Farklı Işık Kaynaklarının (Monokrom Işık ve Floresan) Broilerlerde Besi Performansı Üzerine Etkisi

Murat GENÇ<sup>✉</sup>, Ekrem LAÇIN<sup>1</sup>, Nilüfer SABUNCUOĞLU<sup>1</sup>, Ömer ÇOBAN<sup>1</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
07.04.2017	27.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu çalışma, farklı ışık kaynaklarının (monokrom ve floresan) broilerlerde besi performansı parametreleri üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır. Toplam 216 adet günlük yaşta civciv (Ross-308) ilk 7 gün ana makinesinde barındırıldıktan sonra üç farklı aydınlatma programının uygulandığı kümeslere yerleştirilmiştir. Birinci deneme grubuna (SBKAL) soğuk beyaz renkli (5500 Kelvin) LED ışık kaynağı ile 14 saat aydınlatma yapılmış, ayrıca sabah ve akşam olmak üzere günde 2'şer kez 20 dakika kırmızı (1500 Kelvin) ve 40 dakika amber rengi (2500 Kelvin) LED ışık verilmiştir. İkinci kümeste (SBL) soğuk beyaz LED (5500 Kelvin), üçüncüde ise (BFL) beyaz floresan (4000 Kelvin) ışık kaynakları ile sabit aydınlatma programı (16A:8K) uygulanmıştır. Deneme gruplarına ait haftalık periyotlarla, canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem tüketimi değerleri karşılaştırılmıştır. Aydınlatma parametreleri bakımından deneme grupları arasında farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (SBKAL: 2389.39 g, SBL: 2338.22 g ve BFL: 2436.32 g), ( $P>0.05$ ). Denemenin 1, 2 ve 4. haftasında canlı ağırlık bakımından gruplar arasında farklılık tespit edilememiştir ( $P>0.05$ ). Ancak 3. haftada SBKAL ve 5. haftada BFL grubunda en hızlı büyümenin gerçekleştiği görülmüştür ( $P<0.05$ ). Denemenin 3. haftasında en yüksek yemden yararlanma oranı SBL grubunda (2.38) belirlenmiş ( $P<0.05$ ), denemenin diğer dönemlerinde yemden yararlanma oranları bakımından farklılık tespit edilememiştir ( $P>0.05$ ). Sonuç olarak broilerlerde değişik renklerde LED ve floresan aydınlatmanın karşılaştırılmasında, büyüme performans parametrelerine göre farklılık belirlenememiştir ancak enerji verimliliği göz önüne alındığında, LED aydınlatmanın kanatlı üretimi için uygun ve ekonomik bir ışık kaynağı olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Besi performansı, Broiler, Işık kaynağı.

## The Effects of Different Light Sources (Monochromatic Light and Fluorescent) on Fattening Performance in Broilers

**Abstract:** This study was undertaken to investigate the effect of different light sources (monochrome and fluorescent) on fattening performance parameters (body weight, live weight gain, feed consumption, feed conversion ratio) of broilers. Totally, 216 head one day old chicks (Ross-308) were kept in brooder for the first 7 d, then transferred into the cages, in which the animals were exposed to three lighting regimes: SBKAL [(2L (amber color and yellow) + 14L (cool white LED): 8D)], SBL [16L (cool white LED): 8D] and BFL [(16L (fluorescent) :8D)]. At weekly intervals, body weight (BW), live weight gain (LWG), feed consumption (FC) and feed conversion ratio (FCR) was recorded on group basis. The results indicated no differences in body weight in week 6 (SBKAL: 2389.39 g, SBL: 2338.22 g ve BFL: 2436.32 g), ( $P>0.05$ ). The effect of the different color of the LEDs and fluorescent bulbs on live weight gain were not statistically significant in first, second and fourth weeks of ages of the broilers ( $P>0.05$ ). However in the third and fifth weeks of experiment, the fastest growing group was found to be SBKAL and BFL groups ( $P<0.05$ ). The highest rate of feed conversion ratio in the third week of experiment was determined in the SBL group ( $P<0.05$ ) and no difference was found in the other periods of the experiment ( $P>0.05$ ). Consequently, the LED lighting in different colors, when compared to fluorescent light, did not impair broiler chicken growth performance parameters but considering energy efficiency, LED lighting may be suitable and economic for poultry production.

**Keywords:** Broiler, Fattening performance, Light source.

✉ Murat GENÇ

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
e-posta: vet.murat.genc@gmail.com

## GİRİŞ

**T**üm hayvansal üretim kollarında olduğu gibi kanatlı üretiminde de en iyi performans değerlerine ulaşabilmek optimum çevre şartlarının sağlanmasına bağlıdır. Bu çevre şartları içerisinde kümes yapısı, rasyonun bileşimi ve yemleme tekniği, bakım koşulları, genetik yapı ve aydınlatma programı gibi faktörler çok önemli yer tutmaktadır (1,2).

Işık, kanatlılarda birçok fizyolojik olay ve davranışı etkileyen önemli bir çevre faktörüdür (3-5). Çevre kontrollü kümeslerde genellikle yapay ışık kaynaklarından faydalandığı için kullanılan ışık kaynağının türü, yoğunluğu ve spektrumu çok önemlidir (6). Bu bağlamda, kümeslerde aydınlatma sistemlerinin uygun olarak dizayn edilmesi, istenilen performanslara ulaşılabilmesi için gerekli şartlardan biridir.

Işığın kümes hayvanlarında beslenme, yetiştirme, hormon konsantrasyonları, enzim aktiviteleri ve metabolizma üzerine etkileri yapılan çeşitli araştırmalarla ortaya konulmuş olup, ışık halen birçok araştırma konusunu oluşturmaktadır (7). Aydınlatmanın verim üzerine etkileri hem yumurtacı, hem de etlik piliç hibritler üzerinde araştırılmıştır (1). Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda aydınlatma sürelerinin etlik piliçlerin besi performansı ve immun sistem üzerine etkileri araştırılmıştır (8-11). Işık şiddetinin de benzer şekilde besi performansı ve hayvan davranışları üzerine etkileri yapılan bilimsel çalışmalarda ortaya çıkarılmıştır (2,12-14). Etlik piliçlerde kullanılan ışığın rengi ile çeşitli çalışmalar yürütülmüş (15,16), ışık renginin besi performansı ve davranış üzerine etkileri incelenmiştir. Ancak bu çalışmalarda kullanılan ışık kaynakları daha çok akkor ve floresan lambalardır. Son yıllarda ise LED (Light Emitting Diode) teknolojisinin tavukçuluğa adaptasyonu konularında çalışmalara başlanmıştır.

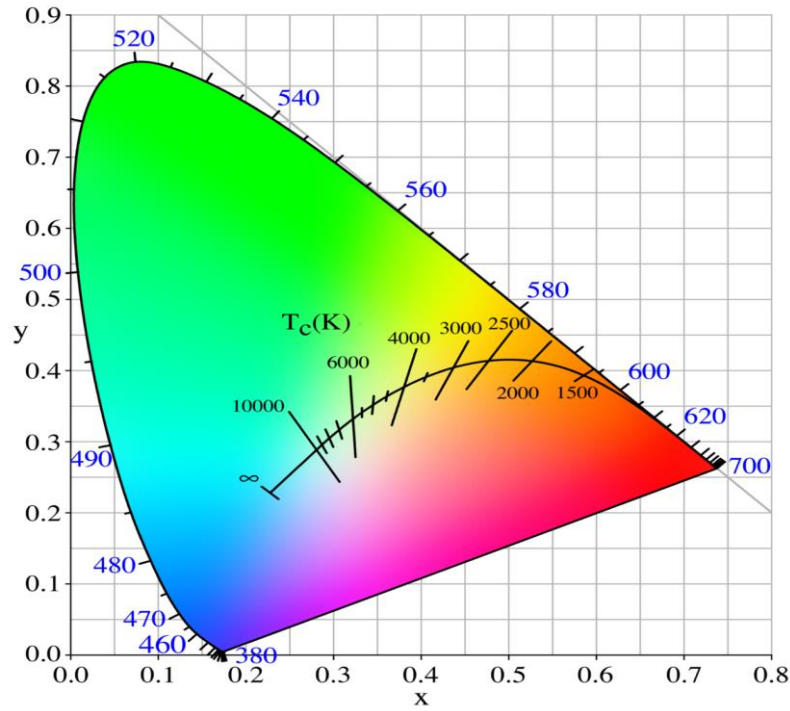
Kanatlı barınaklarında besleme, aydınlatma ve havalandırma amacıyla kullanılan elektrik tüketim miktarı, üretim maliyetlerinin kompozisyonunda büyük önem taşımaktadır (7,17). Enerji fiyatlarındaki artış, daha az enerji harcayan ışık kaynaklarına olan ilgiyi artırmaktadır. Bu bağlamda LED teknolojisi,

enerji tasarrufu sağlayan bir alternatif olarak kullanılabilir (16,18). LED teknolojisi ekonomik olmasının yanında, istenilen dalga boyunda ışık verebilme özelliğine de sahiptir. Bu bilgilerin ışığı altında mevcut çalışma, farklı ışık kaynaklarının (monokrom ışık ve floresan) etlik piliçlerde besi performansı parametreleri (ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı) üzerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Deneme, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Birimine ait Kanatlı Ünitesinde hayvan deneyleri etik ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür. Hayvan materyali olarak 216 adet karışık cinsiyette bir günlük yaştaki Ross-308 broyler civciv kullanılmıştır. Civcivler ilk hafta 32-33°C sıcaklık sağlayan termostatlı ana makinelerinde barındırılmış, daha sonra değişik ışık kaynağı ve rengi kullanılarak farklı ışıklandırma programlarının uygulandığı üç farklı kümese aktarılmıştır. Kümesler, civcivler nakil edilmeden önce ısıtılmaya başlanmış ve çevre sıcaklarının 30°C' de tutulmasına özen gösterilmiştir. Ortamın nispi nemi ise ortalama %50-60 arasında sabitlenmiştir. Birinci deneme grubuna soğuk beyaz (5500 Kelvin), kırmızı (1500 Kelvin) ve amber rengi (2500 Kelvin) LED ışık kaynaklarından yararlanılarak gökyüzündeki doğal renk değişimleri yapay olarak oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla soğuk beyaz renkli LED ışık kaynağı ile 14 saat aydınlatma yapılmış, ayrıca sabah ve akşam olmak üzere günde ikişer kez 20 dakika kırmızı ve 40 dakika amber rengi LED ışık verilmiştir. İkinci kümeste, soğuk beyaz LED (5500 Kelvin), üçüncüde ise beyaz floresan (4000 Kelvin) ışık kaynakları ile sabit aydınlatma programı (16A:8K) uygulanmıştır. Işık kaynaklarının rengi, şiddeti, Kelvin (K) değeri ve aydınlatma etkinliklerine ilişkin veriler Şekil 1'de sunulmuştur. Deneme planında her ışıklandırma programı için 6 tekerrür kullanılmış ve kümeslerdeki her bölmeye 12'şer civciv yerleştirilmiştir.





**Şekil 1:** Işık kaynaklarının rengi, şiddeti, Kelvin (K) değeri ve aydınlatma etkinliklerine ilişkin veriler (19).  
**Figure 1.** Data on color, intensity, Kelvin (K) value and lighting events of lighting sources (19).

Denemede altlık materyali olarak talaş kullanılmış, yem ve su ad libitum olarak sağlanmıştır. İlk 21 gün %23.6 ham protein ve 3060 kcal/kg metabolik enerji içeren etlik civciv yemi, 22-42. günler arasında %20.6 ham protein ve 3200 kcal/kg metabolik enerji içeren etlik piliç yemi kullanılmıştır. Canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışları her haftanın ilk günü saat 10:00'da yapılan tartımlarla saptanmıştır. Yemliklerde kalan yem miktarları haftalık olarak ölçülmüş ve deneme gruplarına ait yem tüketimleri ve yemden yararlanma oranları hesaplanmıştır.

**Tablo 1:** Deneme gruplarının haftalık ortalama canlı ağırlıkları ve standart hataları (g).

**Table 1:** Average weekly live weights and standard errors of the trial groups (g).

GÜN	CANLI AĞIRLIK (g)				SEM	P
	SBKAL	SBL	BFL	SEM		
7	98.79	98.49	97.87	1.37	0.889	
14	426.43	415.10	424.20	8.71	0.631	
21	795.60	766.84	772.09	13.92	0.325	
28	1337.12	1258.23	1290.66	22.13	0.069	
35	1809.17	1738.21	1798.61	30.95	0.248	
42	2389.39	2338.22	2436.32	39.73	0.249	

LED: Light Emitting Diode, SEM: Standart Hata

### İstatistiksel Analiz

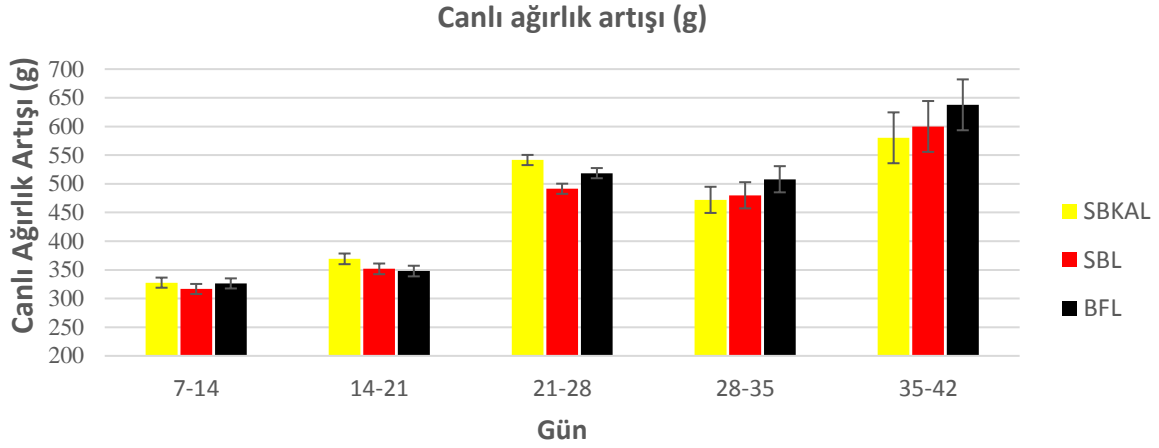
Denemede elde edilen verilerin analizinde SPSS paket programı kullanılmış ve OneWay ANOVA prosedürü uygulanmıştır.

### BULGULAR

Çalışmada kullanılan piliçlerin deneme sonuna kadarki (42 gün) haftalık canlı ağırlık değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'e göre aydınlatma grupları arasında istatistiksel farklılık olmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Deneme sonu canlı ağırlıkları SBKAL, SBL ve BFL grupları için sırasıyla 2389.39 g, 2338.22 g ve 2436.32 g olarak hesap edilmiştir.

Deneme süresince grupların haftalık ortalama canlı ağırlık artışları Şekil 2'de sunulmuştur. Denemenin ilk iki haftasında canlı ağırlık artışı bakımından gruplar arasında farklılık gözlenmemiş ( $P>0.05$ ), 3. haftasında (21-28. günler) en hızlı büyümenin SBKAL grubunda gerçekleştiği tespit

edilmiştir ( $P<0.05$ ). Dördüncü haftada (28-35) canlı ağırlık artışları bakımından gruplar arasında farklılık olmadığı belirlenirken ( $P>0.05$ ), son haftada (35-42. gün) en hızlı canlı ağırlık artışı BFL grubunda bulunan etlik piliçlerde saptanmıştır ( $P<0.01$ ).



**Şekil 2:** Deneme gruplarının haftalık ortalama canlı ağırlık artışları (g).

**Figure 2:** Average weekly weight gains of the trial groups (g).

Deneme materyalini oluşturan piliçlerin muamele gruplarına göre günlük yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları Tablo 2'de verilmiştir. SBKAL grubundaki piliçlerin günlük ortalama yem tüketimleri daha yüksek bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Ancak denemenin 5. haftasında SBKAL ve SBL grubunda bulunan piliçlerin yem tüketimleri azalmış, en yüksek yem tüketimi BFL grubunda gerçekleşmiştir ( $P<0.05$ ). (Tablo 2).

**Tablo 2:** Deneme gruplarının haftalara göre ortalama günlük yem tüketim (g/piliç) ve yemden yararlanma oranları (g/g) ve bu değerlerin standart hataları.

**Table 2:** Groups according to the week of the trial, average daily feed intake (g/chick) and feed efficiency ratios (g/g) and standard errors of the values.

GÜNLER	Günlük yem tüketimi (g/piliç)			SEM	P	Yemden yararlanma oranı (g/g)			SEM	P
	SBKAL	SBL	BFL			SBKAL	SBL	BFL		
7-14	67.52	67.20	58.69	3.28	0.132	1.44	1.49	1.26	0.07	0.086
14-21	66.77 <sup>a</sup>	64.40 <sup>ab</sup>	59.60 <sup>b</sup>	1.64	0.022	1.27	1.28	1.20	0.02	0.055
21-28	173.08 <sup>a</sup>	167.31 <sup>ab</sup>	161.01 <sup>b</sup>	2.61	0.017	2.24 <sup>b</sup>	2.38 <sup>a</sup>	2.18 <sup>b</sup>	0.05	0.016
28-35	140.58	137.83	147.47	2.90	0.084	2.09	2.02	2.07	0.09	0.827
35-42	200.56 <sup>b</sup>	201.75 <sup>b</sup>	220.15 <sup>a</sup>	5.42	0.038	2.58	2.37	2.47	0.23	0.534
7-42*	4539.61	4469.40	4528.47	81.79	0.811	1.98	1.99	1.94	0.04	0.534

LED: Light Emitting Diode, SEM: Standart Hata, \*: Kümülatif yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları

Yemden yararlanma oranları incelendiğinde, denemenin 3. haftasında en yüksek yemden yararlanma oranı SBL grubunda (2.38) belirlenmiş,

SBKAL ve BFL gruplarının yemden yararlanma oranları benzer bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Denemenin

diğer dönemlerinde yemden yararlanma oranları bakımından farklılık tespit edilememiştir ( $P>0.05$ ).

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Yıldırım ve ark. (20) ışık yayan diotlar (led) ile monokromatik aydınlatma yapılan etlik piliçlerde, normal tip akkor ampul ile aydınlatılan kontrol grubuna göre canlı ağırlık ve canlı ağırlık kazancında bir artış gözlemlendiğini saptamışlardır. Ancak, mevcut çalışmada, canlı ağırlıklar bakımından floresan ve LED aydınlatma grupları arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Santana ve ark. (18) floresan ve LED aydınlatma uygulanan broylerlerde kümülatif ağırlık artışları arasında farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Kompakt floresan ve LED ışık kaynakları kullanılarak benzer planlanan bir başka çalışmada Huth ve Archer (21), 45. gün canlı ağırlığının ışık kaynağına göre değişmediğini saptamışlardır. Halevy ve ark. (22) normal tip akkor ampul ve monokrom kırmızı ışık altında barındırılan broylerlerin 35. gün canlı ağırlıkları arasında fark olmadığını ancak kas liflerinde bulunan uydu hücrelerinin sayısının yeşil ve mavi LED gruplarında yaklaşık iki kat daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu durumun, kas büyümesi üzerine olumlu etki yaptığını ileri sürmüşlerdir. Olanrewaju ve ark. (23) ise, LED aydınlatma uygulanan etlik piliçlerin 42. gün ağırlıklarının, normal tip ampul ile aydınlatılanlara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Deneme sonunda floresan aydınlatmanın uygulandığı grupta yem tüketiminin daha fazla olduğu bulunmuş, yemden yararlanma oranları bakımından farklılık olmadığı sonucuna varılmıştır. Benzer olarak Santana ve ark. (18) yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları bakımından farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Farklı bir çalışmada yem tüketimi ve yemden yararlanma oranları bakımından denemenin herhangi bir döneminde gruplar arasında farkın olmadığı belirlenmiştir (24). Elde edilen sonuçlardan farklı olarak Huth ve Archer (21) etlik piliçlerde kompakt floresan ampullerin LED lambalara göre yem tüketimi ve yemden yararlanma

oranlarını artırdığını saptamışlardır. Yıldırım ve ark. (20) monokromatik aydınlatma yapılan etlik piliçlerin yem tüketimlerinde bir artış gözlemlendiğini saptamışlardır. Benzer şekilde, Karakaya ve ark. (25) normal tip ampul ile aydınlatılan kontrol grubundaki broylerlerin, yeşil ve mavi LED ampuller kullanılarak aydınlatılanlardan daha az yem tükettiklerini ve 42. gün ağırlıklarının daha düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Yürütülen çalışmanın 28. gününde gökyüzündeki doğal renk değişimlerinin taklit edildiği SBKAL grubunda barındırılan etlik piliçler, SBL grubunda olanlardan daha yüksek canlı ağırlık artışına sahip olmuş ama deneme sonunda bu fark ortadan kalkmıştır. Yürütülen deneme ile paralel olarak Sharideh ve Zaghari (26) farklı renk sıcaklığındaki LED ve normal tip ampullerinin vücut ağırlığı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı ve ölüm oranı üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı; bununla birlikte, marjinal vücut ağırlığı ve yem tüketiminin sıcak beyaz ışık altında yetiştirilen broylerlerde, diğer yöntemlere kıyasla en yüksek; yemden yararlanma oranının ise en düşük seviyede olduğu; sıcak beyaz ışığın, ticari broyler kümeslerinde optimum seviyede bağışıklık ve enerji tasarrufu sağlamak için yarar sağladığı sonucuna varmışlardır. Farklı olarak Olanrewaju ve ark. (23), soğuk beyaz (5000 K) ve sıcak beyaz (2700 K) LED aydınlatma uygulanan broylerler için 56. gün canlı ağırlıklarını sırasıyla 4.245 g ve 4.148 g; 56. gün canlı ağırlık kazancını 4.105 g ve 4.202 g olarak belirlemişler ve bu sonuçlar ışığında soğuk beyaz LED aydınlatmanın sıcak beyaza göre canlı ağırlık ve canlı ağırlık kazancını artırdığını tespit etmişlerdir. Riber (16), iki farklı renk skalasına sahip LED ışık ile günde 16 saat aydınlatma yapılan kümeslerde yürüttüğü çalışmasının sonucunda soğuk beyaz (6065 K) ışığın final canlı ağırlığı açısından nötr beyaz (4100 K) ışığa göre daha avantajlı olduğunu ifade etmiştir. CAO ve ark. (27), ilk 26 günlük yaşta, mavi ve yeşil monokrom ışık altında yetiştirilen broylerlerin vücut ağırlığının, kırmızı ve beyaz ışık grubunununkinden daha yüksek olduğunu; 27-48. günlük yaş ve final ağırlığında (49.

gün) ise mavi ışık grubunun vücut ağırlığının en yüksek olduğunu; tüm gruplar arasında yeşil ışık grubunun yemden yararlanma oranının (1.8) en düşük seviyede olduğunu ortaya koymuştur. Guevara ve ark. (28), yeşil monokrom ve beyaz floresan ışık kaynakları ile aydınlatma yaptıkları denemelerinin 6. haftasında floresan grubundaki erkeklerin dişilerden daha ağır olduğunu, diğer haftalarda ise cinsiyete bağlı farklılığın bulunmadığını; yeşil monokrom grubunda bulunan broylerlerin ise canlı ağırlıklarının deneme boyunca cinsiyete bağlı olarak değişmediğini ifade etmişlerdir. Ayrıca günlük canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit etmemişlerdir. Değişik renklerdeki LED lambaların ve bunların farklı kombinasyonlarının, floresan grubu ile karşılaştırıldığı başka bir çalışmanın ilk 7 günlük döneminde sarı ve yeşil LED gruplarında canlı ağırlığın daha yüksek olduğu fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır. İkinci ve üçüncü haftalarda yeşil ve yeşil x mavi LED gruplarında kırmızı, sarı x kırmızı ve kontrol (floresan) gruplarına göre önemli canlı ağırlık artışı tespit edilmiştir. Son iki haftada ise mavi ve yeşil x mavi gruplarında bulunan broylerlerde, diğer gruplara göre daha yüksek bir canlı ağırlık kazanımı gerçekleşmiştir. Kırmızı LED ışık, tüm periyotlar boyunca canlı ağırlık artışını önemli ölçüde düşürmüştür. Sarı x kırmızı ve sarı x yeşil LED ışık kombinasyonları büyüme oranını arttırmamıştır. (24).

Sonuç olarak; etlik piliçlerde floresan ve iki farklı renk grubu LED aydınlatmanın besi performansı üzerine etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Büyük hacimli alanlarda yapılan ticari tavukçuluk endüstrisinde aydınlatma için tüketilen elektrik çok önemli bir gider kalemini oluşturmaktadır. Geleneksel aydınlatma ekipmanlarının aksine LED ampuller ısınmadığı için çektiği gücün büyük bir bölümünü ışık olarak verirler. Ayrıca uzun ömürlülükleri (ortalama 60.000 saat kullanım), termal ve mekanik darbelerle karşı dayanıklı olmaları ve herhangi bir zararlı gaz içermedikleri için çevresel

zararlara yol açmamaları LED ampullerin diğer avantajlarıdır. Elde edilen sonuçlar üstün enerji tasarrufları sağlayan ve çevresel zararları bulunmayan LED aydınlatmaların etlik piliç yetiştiriciliğinde kullanılabileceğini göstermektedir.

#### KAYNAKLAR

1. İşcan KM., 1999. The Effects of different intermittent lighting schedules used in Different diurnal periods on performances of Broilers. Turk J Vet Anim Sci, 23, 711-718.
2. Ahmad F., Haq A., Ashraf M., Abbas G., Siddiqui MZ., 2011. Effect of different light intensities on the production performance of broiler chickens. Pak Vet J, 31, 203-206.
3. Olanrewaju HA., Thaxton JP., Dozier WA., Purswell J., Roush WB., Branton SL., 2006. A review of lighting programs for broiler production, Int J Poult Sci, 5, 301-308.
4. Newcombe M., Cartwright AL., Harter-Dennis JM., 1992. The effect of increasing photoperiod and food restriction in sexed broiler-type birds. I. growth and abdominal fat cellularity. Br Poult Sci, 33, 415-425.
5. Lima KA., Naas IDA., Garcia RG., Borille R., Caldara FR., 2014. Impact of different light sources on broiler rearing environment. Eng Agric, 34, 428-434.
6. Rozenboim I., El Halawani ME., Kashash Y., Piestun Y., Halevy O., 2013. The effect of monochromatic photostimulation on growth and development of broiler birds. Gen Comp Endocrinol, 190, 214-219.
7. Pereira PA., Yanagi Junior T., Silva JPD., Lima RRD., Campos AT., Abreu LH., 2012. Technical evaluation of artificial lighting systems for broiler houses. Eng Agric, 32, 1011-1024.
8. Lacin E., Coban O., Aksu M., Sabuncuoglu N., Das H., 2013. The effects of different breeding methods on fattening performance and parameters related to slaughter, carcass and some meat quality in broiler chickens, Kafkas Univ Vet Fak Derg, 19, 2, 283-289.

9. Zulkifli I., Rasedee A., Syaadoh O., Norma MT., 1998. Daylength effects on stress and fear responses in broiler chickens. *AJAS*, 11, 751-754.
10. İlhan U., Yetişir R., 2015. Broiler yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan aydınlatma programlarının verim performansları ve bazı karkas özellikleri bakımından karşılaştırılması. *Selçuk Tar Bil Der*, 23, 63-72.
11. Griffin AM., Renema RA., Robinson FE., Zuidhof MJ., 2005. The influence of rearing light period and the use of broiler or broiler breeder diets on forty-two-day body weight, fleshing, and flock uniformity in broiler stocks. *JAPR*, 14, 204-216.
12. Kristensen HH., Prescott NB., Perry GC., Ladewig J., Ersboll AK., Overvad KC., Wathes CM., 2007. The behaviour of broiler chickens in different light sources and illuminances. *Appl Anim Behav Sci*, 103, 75-89.
13. Alvino GM., Archer GS., Mench JA., 2009. Behavioural time budgets of broiler chickens reared in varying light intensities. *Appl Anim Behav Sci*, 118, 54-61.
14. Rault JL., Clark K., Groves PJ., Cronin GM., 2016. Light intensity of 5 or 20 lux on broiler behavior, welfare and productivity. *Poult Sci*, 96, 779-787.
15. Del Rierison R., 2011. Broiler preference for light color and feed form, and the effect of light on growth and performance of broiler chicks, PhD Thesis. Kansas State University.
16. Riber AB., 2015. Effects of color of light on preferences, performance, and welfare in broilers. *Poult Sci*, 94, 1767-1775.
17. Atilgan A., Koknaroglu H., 2006. Cultural energy analysis on broilers reared in different capacity poultry houses. *Ital J Anim Sci*, 5, 393-400.
18. Santana MRD., Garcia RG., Naas IDA., Paz IC., Caldara FR., Barreto B., 2014. Light emitting diode (LED) use in artificial lighting for broiler chicken production. *Eng Agric*, 34, 422-427.
19. Shen L., Liu X., Chen B., Pun EYB., Lin H., 2012. Dynamic colour and utilizable white fluorescence from Eu/Tb ions codoped lithium-yttrium-aluminium-silicate glasses, *J Phys D Appl Phys*, 45, 115301.
20. Yıldırım İ., Parlat SS., Tiryaki S., Bülbül H., 2009. Işık yayan diotlardan (led) elde edilen monokromatik aydınlatmanın broyler performansına etkileri. *Selçuk Tar Bil Der*, 23, 73-76.
21. Huth JC., Archer GS., 2015. Comparison of two LED light bulbs to a dimmable CFL and their effects on broiler chicken growth, stress, and fear. *Poult Sci*, 94, 2027-2036.
22. Halevy O., Biran I., Rozenboim I., 1998. Various light source treatments affect body and skeletal muscle growth by affecting skeletal muscle satellite cell proliferation in broilers. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 120, 317-323.
23. Olanrewaju HA., Purswell JL., Maslin WR., Collier SD., Branton SL., 2015. Effects of color temperatures (kelvin) of LED bulbs on growth performance, carcass characteristics, and ocular development indices of broilers grown to heavy weights. *Poult Sci*, 94, 338-344.
24. Hassan MR., Sultana S., Choe HS., Ryu KS., 2014. A comparison of monochromatic and mixed LED light color on performance, bone mineral density, meat and blood properties, and immunity of broiler chicks. *J Poult Sci*, 51, 195-201.
25. Karakaya M., Parlat SS., Yılmaz MT., Yildirim I., Ozalp B., 2009. Growth performance and quality properties of meat from broiler chickens reared under different monochromatic light sources. *Br Poult Sci*, 50, 76-82.
26. Sharideh H., Zaghari M., 2016. Effect of light emitting diodes with different color temperatures on immune responses and growth performance of male broiler. *Annals Anim Sci*, 17, 545-553.
27. Cao J., Chen YX., Wang ZX., Li JY., Xie D., Jia LJ., 2007. Effect of Monochromatic Light on Broiler Growth [J]. *Sci Agric Sinica*, 10, 034.
28. Guevara BDM., Pech PS., Zamora BR., Navarrete SLF., Magana SHF., 2015. Performance of Broilers Reared under Monochromatic Light Emitting Diode Supplemental Lighting. *Rev Bras Cienc Avic*, 17, 553-558.





## Afyonkarahisar Yöresi Koyun Akciğer Kılkurdu Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu\*

Mustafa KÖSE<sup>1</sup>, Metin ERDOĞAN<sup>2</sup>, Kürşat KARTAL<sup>3</sup>

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
2. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
3. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji (Vet.) Anabilim Dalı Doktora Programı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.03.2017	28.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu araştırma, Afyonkarahisar yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisi ve akciğer kılkurdu türlerinin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 5 farklı lokalitede akciğer kılkurtları ile doğal enfekte 10 sürüden akciğer kılkurdu birinci dönem larvalarını izole etmek için dışkı örnekleri toplandı. Baermann-Wetzel yöntemi ile separe edilen akciğer kılkurdu 1. dönem larvalarının spin kolon yöntemiyle ticari kit (Thermo) kullanılarak DNA'ları çıkarıldı. PCR'da akciğer kıl kurtlarının 28S rRNA bölgelerine ait primerler (*Dictyocaulus filaria*: F-gctacaaaatcgcatcacgaacg, R-actccttagcggttaccca; *Cystocaulus ocreatus*: F-cgggtttgtagcatgtcacaagtc, R-tctctgactctgctctgc; *Muellerius capillaris*: F-aaaggcccaacgctgaa, R-cctctgactctgctctgc) FastPCR programı ile dizayn edilerek kullanıldı. Toplam 7 izolattan elde edilen DNA PCR ürünlerinin 28S rRNA gen bölgelerinin DNA dizileme analizi yapıldı. Bir ve 2. izolatlardan elde edilen 952 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *D. filaria*, 4, 5 ve 6. izolatlardan elde edilen 768 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *C. ocreatus*, 7. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin %100 *M. capillaris* ve 3. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin ise %99 ihtimalle *M. capillaris* olduğu görülmüştür. İzolat 7'nin 702. bazının heterozigot yapıda olması ve izolat 3'te 117 ve 718. bazlarında mutasyon olması bir alt tür olabileceğini düşündürmüştür. Bir sürüde rastlanılan *Neostromylus linearis* larvasından DNA elde edilememiş, Sürülerde *Protostrongylus rufescens* larvasına rastlanmamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** 28S rRNA, Akciğer kıl kurtları, Koyun, Moleküler karakterizasyon.

## Molecular Characterization of Lungworm Species of Sheep in Afyonkarahisar Region

**Abstract:** The present study was conducted to investigate molecular epidemiology of lungworm infections and molecular characterization of lungworm species of sheep in Afyonkarahisar region. Fecal samples were gathered from 10 flocks in 5 different localization to isolate first stage larvae of lungworm. First stage larvae of lungworms were separated with Baermann-Wetzel method and DNAs were extracted with spin-column method by using commercial kit (Thermo). Primers belonged to 28S rRNA region of lungworms (*Dictyocaulus filaria*: F-gctacaaaatcgcatcacgaacg, R-actccttagcggttaccca; *Cystocaulus ocreatus*: F-cgggtttgtagcatgtcacaagtc, R-tctctgactctgctctgc; *Muellerius capillaris*: F-aaaggcccaacgctgaa, R-cctctgactctgctctgc) were used with the design of FastPCR software in PCR. DNA sequence analysis was performed on PCR products of 28S rRNA gene regions obtained from seven isolates. 952 bp length sequences of first and second isolates were *D. filaria* with the probability of 100%; 768 bp length sequences of 4th, 5th and 6th isolates were *C. ocreatus* with the probability of 100%; 780 bp length sequence of 7th isolate was *M. capillaris* with the probability of 100% and 780 bp length sequence of 3rd isolate was *M. capillaris* with the probability of 99%. Heterozygote structure of base number 702 of 7th isolate and presence of mutations in base numbers 117 and 718 of 3rd isolate suggest probability of a subspecies. DNA of *Neostromylus linearis* larvae which was detected in one flock could not be obtained. *Protostrongylus rufescens* larvae was not found in flocks.

**Keywords:** 28S rRNA, Lungworm, Molecular characterization, Sheep.

\*Mustafa KÖSE

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.  
e-posta: mkose@aku.edu.tr

\*Bu araştırma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 12.VF.01).

## GİRİŞ

Bütün Dünya'da kozmopolit bir yayılış gösteren akciğer kılkurdu enfeksiyonları ruminant yetiştiriciliğinin önemli paraziter enfeksiyonlarından. Koyunların akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının etkenleri Trichostrongyloid nematodlardan *Dictyocaulus* ve Metastrongyloid nematodlardan *Protostrongylus*, *Muellerius*, *Cystocaulus*, *Neostrongylus*, *Spiculocaulus*, *Bicaulus* cinsi akciğer kılkurdu türleridir. Trichostrongyloid parazit olan *Dictyocaulus*'lar trachea ve bronşial dallarda yerleşim gösteren ve monoksen gelişim gösteren nematodlardır. Daha ziyade ılıman iklim koşullarında daha sıklıkla görülmekle birlikte kozmopolit bir yayılış gösterirler. Metastrongyloid olan cinsler ise akciğer parankimi, bronşiol ve alveollerde yerleşim gösterirler. Bu familya üstünde bulunan akciğer kılkurdu türleri heteroksen yaşam döngüsüne sahiptirler. Bu parazitlere çeşitli gastropodlar arakonak olarak hizmet ederler. Koyunlarda paraziter bronşitis ve pnömoni etkeni olan akciğer kılkurdu türleri koyunlarda önemli sağlık problemlerine yol açarlar. Yetersiz beslenen ve meraya yeni çıkmış genç hayvanlarda ölümlere de neden olabilmektedir. Bu parazitler koyunlarda gelişme geriliği, verim düşüklükleri ve dolayısı ile çok önemli miktarlarda ekonomik kayıplara neden olmaktadır (1-7).

Türkiye'de koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı ortaya koymak üzere çok sayıda araştırma yapılmıştır. Koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı, Kayseri'de dışkı bakısına göre %33.6 (6), Kırıkkale'de dışkı bakısına göre %14 ve nekropsi sonuçlarına göre %34 (7), yine aynı şehirde yapılan bir başka çalışmada dışkı bakısına göre %10.86 (8), Afyonkarahisar'da dışkı bakısına göre %20.82 (9), İstanbul'da dışkı bakısına göre %47.2 ve nekropsi sonuçlarına göre %47.7 (10), Van'da dışkı bakısına göre %85.21 ve nekropsi sonuçlarına göre %55.33 (11), Kars'da dışkı bakısına göre %50.5 ve nekropsi sonuçlarına göre %29 (12), Elazığ'da nekropsi sonuçlarına göre %42.91 (13), Samsun'da dışkı bakısına göre %45.39 (14), Trakya'da dışkı bakısına göre %19.85 (15), Konya'da dışkı

bakısına göre %29.3 (16) ve Ankara'da dışkı bakısına göre %53.17 (17) olarak bildirilmiştir. Türkiye'de koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının yaygınlığı ile ilgili nekropsi ve dışkı bakılarına dayalı çalışmalar yapılmasına rağmen bu enfeksiyonların moleküler epidemiyolojisi ve türlerin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymaya yönelik herhangi bir araştırma yapılmamıştır.

Çeşitli ülkelerde evcil ve yabani ruminantlarda akciğer kılkurdu türlerinde moleküler tiplendirme, moleküler karakterizasyon ve moleküler epidemiyolojik çalışmalar (18-24) sınırlı sayıdadır.

Bu araştırma, Afyonkarahisar yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının moleküler epidemiyolojisi ve türlerin moleküler karakterizasyonunu ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırma, Afyonkarahisar ilinde mera mevsimi içinde 5 farklı lokalitede toplam 10 koyun sürüsünden toplanan dışkı örneklerinden elde edilen akciğer kılkurdu larvaları üzerinde yapıldı. Baermann-Wetzel yöntemi ile separe edilen birinci dönem akciğer kılkurdu larvaları sürü kayıtlarına göre ayrı ayrı 1.5 ml'lik ependorf tüplerinde toplandı.

Baermann-Wetzel yöntemi ile toplanan akciğer kılkurdu 1. dönem larvalarının spin kolon yöntemiyle ticari firma (Thermo) kiti ile DNA'ları çıkarıldı. PCR'da Tablo 1'de bulunan akciğer kıl kurdu türlerinin 28S rRNA bölgelerine ait primerler FastPCR programı dizayn edildi.

**Tablo 1.** Akciğer kılkurdu türlerinin 28S rRNA bölgelerine ait primerler.

**Table 1.** 28S rRNA gene primers of lungworms.

Akciğer Kılkurdu Türleri	Forward	Reverse
<i>D. filaria</i>	gctacaaaatcgcat acgaacg	actccttagcgg ttaccga
<i>M. capillaris</i>	aaaggcccaacgctg aa	cctctgacttctg cctgc
<i>C. ocreatus</i>	cggttgtttagcatgt ccaaagtc	tctctgacttctg cctgc



Toplam 25 µl olan PCR karışımında; 2 µl DNA, her bir primerden (10pmol), 10x buffer + MgCl<sub>2</sub> (20mM, Thermo) 2.5 µl, dNTP karışımından 0.5 µl (Thermo), Phusion Taq DNA Polymerase (Thermo) 0.3 µl (Thermo), 5.0µl Q-Solution (5x, Qiagen) ve ddH<sub>2</sub>O dan 12.5 µl bulunmaktadır. Reaksiyonlar Applied Biosystems Veriti Thermal Cyler cihazında gerçekleştirilmiştir. PCR'in ön denaturasyon aşaması 95°C'de 10 dakika, denaturasyon aşaması 92°C' de 30 sn, yapışma 64°C' de 30 sn ve uzatma 72°C' da 30 sn 30 döngü, son uzatma aşaması ise 72°C'de 5 dakika olacak şekilde programlanmıştır. PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinden sonra GelRed ile boyanarak UV altında kontrol edildi. PCR ürünleri daha sonra dizileme analizi için ExoSAP-IT ile temizlenmiştir. DNA dizileme analizi için BigDye Terminator v3.1'den 1 µl, 5x sequencing buffer'dan 1 µl, ileri veya geri primerden (10 pmol) 1 µl, PCR ürününden 1 µl ve 3µl ddH<sub>2</sub>O olmak üzere toplam 7 µl karışım hazırlanmıştır. PCR cihazı 96°C' de 30 sn, 96°C' de 10 sn, yapışma 64°C' de 10 sn ve uzatma 60°C' de 4 dk 27 döngü olacak şekilde programlanmıştır. Sekans PCR ürünleri etanol ile çöktürme yöntemine göre temizlendi ve DNA dizileme cihazına (ABI 3500 Genetic Analyzer) yerleştirildi. DNA dizileri Sequencher 5.4.1 bilgisayar programı ile düzenlendi.

#### BULGULAR

Toplam 7 izolattan elde edilen DNA PCR ürünlerinin DNA dizileme analizi yapıldı. Örneklerin 28S rRNA gen bölgelerinin dizileri incelendiğinde bir ve 2. izolatlardan elde edilen 952 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *D. filaria*, 4, 5 ve 6. izolatlardan elde edilen 768 bp uzunluğundaki dizilerinin %100 *C. ocreatus*, 7. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin %100 *M. capillaris* ve 3. izolattan elde edilen 780 bp uzunluğundaki dizinin ise %99 ihtimalle *M. capillaris* olduğu görülmüştür.

#### *Dictyocaulus filaria* 28S rRNA geni 952bp (izolat 1 ve 2)

GCTACAAAATCGCATACGAACGTATGTGATCTAGTAAC  
ATGTATGTCACTAACGACTACGCTGACAATATTGATAG

CACATTCGGTACTGTGATAAATGAACATGTTGCCATTA  
TTATTATAATAGTGGTGCATATGTTTTAACAGTTCGAG  
TTTGTGCAAGATGTGATATTAATATTTCAATAGTGCAA  
AATTTGAATTCGTTTCATTTTTGCAATGATGTCAGTGT  
AAACGTTAATCACCTCTCCGACCCGTCTTGAACACGG  
ACCGAGGAGTGTAACTTGTACGCGAGTCAATAGGTGT  
GATAAACCTAATGGCGCAATGAAAATGAAGACACGTG  
TAAACGGTTGACATGAGAGATATTTTTCTATATGTGTAT  
ATAGCATATAGAAAGTATTGCATCATGGCCCTGTCTAA  
TCTGCATGCAGATGGGCAGAGGTAGAGCGTACAGGTT  
GCGACCCGAAAGATGGTGAACCTATGCCTGAGCAGGAT  
GAAGTCAGAGGAAACTCTGATGGAGGTCCGTATCGGT  
TCTGACGTGCAAATCGATCGATAGACTTGGGTATAGG  
GGCGAAAGACTAATCGAACCTCTAGTAGCTGGTTCCC  
TCCGAAGTTTCCCCAGGATAGCTGGAGTTCAAATATA  
ACAATATATACATATACGGTTATATCCGGTAAAGCGAA  
TGATTAGAGGAATTGGGATCGAAACGATCTCAACCTAT  
TCTCAAACCTTCAATGGGTATGTTGTACAGTTTCTTAT  
GGTGTCTAATGAACTGTTGACATGAACGTGAGCTCCA  
AGTGGGCCATTTTTGGTAAGCAGAAGTGGCGCTGTGG  
GATGAACCAAACGTTAGGCTAAGGTGCCTAACTTTTCG  
CTCATTAGATCCCATAAAAGGCGTTGGTTGATATAGAC  
AGCAGGACGGTGGCCATGGAAGTCGGTAACCGCTAAG  
GAGT

#### *Cystocaulus ocreatus* 28S rRNA geni 768 bp (izolat, 4, 5 ve 6)

CGGTTTGTTTAGCATGTCCAAAGTCCCTTTGATAGGGG  
CCATTATCCAGAGAGGGTGGCAGACCTGTGCGGACAG  
CTGAGCATGCCGTATGATTATACCTTGGAGTCGGGTTG  
CTTGAAAGTGCAGCCTAAGTGGGTGATAAATTCATC  
TAAGGCTAAATACGGACGCGAATTCGATAGCAAACAA  
GTACTGTGAAGGAAAGTTGCAAAGAAGTTGAAGAGA  
GAGTTCAAGAGAACGTGAAATCGTTGAAGTGAACCG  
GAGAGAGTTGACGTAGTCTGATGGATAAGTATTGCAA  
GTATCGTATTCACCTATATGATCAAGCGATATGTATGCC  
ATCAACGACTGTGCTGACAACATCGACTACACGATCCA  
AACTATGTTGACATGTTGCCATTTTATTTATGAAAAT  
GGTGTCTTGTGTTACGTTYGGTAAGGTTGTTGTATGTT  
GATGTTGACGACATGACGAGTTATCTCTACGATAATTA  
TGTCAGCATAAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGTCTT  
GAAACACGGACCGAGGAGTGTAACTTGTACGCGAGTC  
ACAAGGTGAAAACCTTAAGGCGAAATGAAAGTGAAG

GCACGGTTAACCGGCTGACATGGGAAGCGTGTTGAT  
GAGGAAACAATTCGTGACACGTCACACCATGGCCCTGT  
CTTGTCTGCATGCAGATGGGCAGCGGTAGAGCGTACA  
GGTTGCGACCCGAAAGATGGTGAACATGCCTGAGCA  
GGACGAAGTCAGAGA

***Muellerius capillaris* 28S rRNA geni 780 bp (izolat 3)**

ACGCTGAATCTTTGATGATGAATCGTAAAGAAATGTA  
GCGTATAGGTATAATTATCGGTTTGTAGCATGTCCA  
AAGTTCCTTTGATAGGGACCATCATCCAGAGAGGGTGC  
GAAACCTGTGCGGACAGCTGAATATGCCGTACGATTAT  
ACCTGGAGTCGGGTTGCTTGAAGTGCAGCCTTAAGT  
GGGTGATAAATTCATCTAAGGCTAAATATGGACGCG  
AATTCGATAGCAAACAAGTACTGTGAAGGAAAGTTGC  
AAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAGAGAACGTGAAA  
TCGTTGAAGTGAACCGGAGAGAGTTGACGTAGTCTG  
ATGGATAATTATTGCAAGTATCGTATTCGTCGTCATG  
ATGATTATGATTAAGCGATATGTATGCCATTAACGACT  
GTGCTGACAATATCGACTACACGATCCAAGCTATGTTG  
ACATGTTGCCATTTTATTTATATAAAATGGTGTCTTGG  
TTACATTTAGTAAGGTTGTTGATGTTGATGTTGATG  
ATATGCATTGTAATATTATCTATGGATAATTATGTCAGC  
ATAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGCTTGAACAC  
GGACCGAGGAGTGTAACTGTACGCGAGTCACAAGGT  
GGAAAACCTTAAGGCGAAGTGAAGTGAAGGCACGG  
TTAACCGGCTAACATGGGAAATGTGTTATATAACAA  
ATTGCACCATGGCCCTGTCTTGTCTGCATGCAGATGGG  
CAGCGGTAGAGCGTACAGGTTGCG

***Muellerius capillaris* 28S rRNA geni 780 bp (izolat 7)**

ACGCTGAATCTTTGATGATGAATCGTAAAGAAATGTA  
GCGTATAGGTATAATTATCGGTTTGTAGCATGTCCA  
AAGTTCCTTTGATAGGGACCATCATCCAGAGAGGGTGC  
GAGACCTGTGCGGACAGCTGAATATGCCGTACGATTAT  
ACCTGGAGTCGGGTTGCTTGAAGTGCAGCCTTAAGT  
GGGTGATAAATTCATCTAAGGCTAAATATGGACGCG  
AATTCGATAGCAAACAAGTACTGTGAAGGAAAGTTGC  
AAAGAACTTTGAAGAGAGAGTTCAAGAGAACGTGAAA  
TCGTTGAAGTGAACCGGAGAGAGTTGACGTAGTCTG  
ATGGATAATTATTGCAAGTATCGTATTCGTCGTCATG  
ATGATTATGATTAAGCGATATGTATGCCATTAACGACT  
GTGCTGACAATATCGACTACACGATCCAAGCTATGTTG  
ACATGTTGCCATTTTATTTATATAAAATGGTGTCTTGG

TTACATTTAGTAAGGTTGTTGATGTTGATGTTGATG  
ATATGCATTGTAATATTATCTATGGATAATTATGTCAGC  
ATAAAAGTCAACCACCTCTCCGACCCGCTTGAACAC  
GGACCGAGGAGTGTAACTGTACGCGAGTCACAAGGT  
GGAAAACCTTAAGGCGAAGTGAAGTGAAGGCACGG  
TTAACCGGCTAACATGGGAAAYGTGTTATATAACAC  
ATTGCACCATGGCCCTGTCTTGTCTGCATGCAGATGGG  
CAGCGGTAGAGCGTACAGGTTGCG

**TARTIŞMA ve SONUÇ**

Çalışmada elde edilen *D. filaria*'nın 952 bp uzunluğundaki dizileri (izolat 1 ve 2) NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında elde edilen dizilerin NCBI NO: AM039754.1 (24) olan dizi ile %100 benzer bulunmuştur.

İzolat 4, 5 ve 6'dan elde edilen 768 bp uzunluğundaki *C. ocreatus* dizileri NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında elde edilen dizilerin NCBI NO: EU595593.1 (USDA, Agricultural Research Service) olan dizi ile %100 benzer olduğu görülmüştür.

*M. capillaris* örneklerinden izole edilen DNA ların (izolat 3 ve 7) dizileme analizi sonucunda izolat 3 ve 7 karşılaştırıldığında 117. bazda A>G, 702. bazda T>Y ve 718. bazda A>C şeklinde mutasyonların olduğu görülmüştür. İzolat 7'de *M. capillaris*'e ait DNA dizisinin 702. bazı heterozigot yapıdadır (Y= C / T). Çalışmada elde edilen *M. capillaris* dizileri NCBI BLAST'ta bulunan diğer dizilerle karşılaştırıldığında izolat 7'den elde edilen dizi NCBI NO: AY292798.1 (19) olan dizi ile %100 benzer; 3. izolattan edilen dizinin ise %99 benzer olduğu belirlenmiştir. İzolat 7'nin 702. bazının heterozigot yapıda olması ve izolat 3'te 117 ve 718. bazlarda mutasyon olması ise bir alt tür olabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, bu araştırma ile Afyonkarahisar yöresi koyunlarında sıklıkla rastlanılan 3 akciğer kıl kurdu türünün 28S rRNA gen bölgelerinin DNA dizileme analizi yapılarak moleküler karakterizasyonu ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar yapılacak olan moleküler epidemiyolojik ve filogenetik çalışmalara kaynak teşkil edecektir.

## KAYNAKLAR

1. Levine ND., 1980. Nematode Parasites of Domestic Animals and Man. 2nd ed., 222-239, Burgess Publishing Company, Minneapolis.
2. Anderson RC., 1978. Keys to the genera of the superfamily Metastrongyloidea. In "CIH keys to the nematode parasites of vertebrates", Ed., RC Anderson, AG Chabaud, S. Willmott, 1st ed., 1-40, Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, U.K.
3. Soulsby E.J.L., 1986. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. 7 th Ed, 262-276, Bailliere Tindall, London.
4. Schnieder T., 2000. Helminthosen der Wiederkäuer. In "Veterinärmedizinische Parasitologie", Ed., M Rommel, J Eckert, E Kutzer, W Körting, T Schnieder, 5th ed., 192-295, Parey Buchverlag, Berlin.
5. Urquhart GM., Armour J., Duncan JL., Dunn AM., Jennings FW., 1996. Veterinary Parasitology. 2nd ed., 59-60, Blackwell Publishing, London.
6. Yıldırım A., İça A., 2005. Kayseri yöresinde koyunlarda akciğer kılkurdu enfeksiyonlarının prevalansı. Erciyes Üniv Vet Fak Derg, 2, 73-78.
7. Yıldız K., 2006. Prevalence of lungworm infection in sheep and cattle in the Kirikkale province. Türkiye Parazitoloj Derg, 30, 190-193.
8. Yıldız K., Aydenizöz M., 2001. Kırıkkale koyunlarında helmintlerin yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 48, 179-182.
9. Sevimli FK., Kozan E., Köse M., Eser M., 2006. Dışkı muayenesine göre Afyonkarahisar İli koyunlarında bulunan helmintlerin yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 53, 137-140.
10. Bağcı Ö., Bıyıkoğlu G., 2003. İstanbul'da değişik kombinealarda kesilen koyunlarda akciğer kılkurtlarının yayılışı. Türkiye Parazitoloj Derg, 27, 139-143.
11. Değer S., Biçek K., Akdemir C., Taş Z., 2000. Van Belediye mezbahasında kesilen koyunlarda akciğer kılkurtlarının yayılışı. Van Vet J, 27, 215-236.
12. Umur Ş., Özkan MÖ., 1998. Kars yöresi sığır ve koyunlarında akciğer kılkurtları. Türkiye Parazitoloj Derg, 22, 88-92.
13. Taşan E., Köroğlu E., Altaş MG., 1997. Elazığ bölgesinde akciğer kılkurtlarının yayılışı. F Ü Sağlık Bil Derg, 11, 273-276.
14. Celep A., Açıcı M., Çetindağ M., Gürbüz İ., 1995. Samsun yöresi koyunlarında paraziter epidemiyolojik çalışmalar. Türkiye Parazitoloj Derg, 19, 290-296.
15. Gargılı A., 1995. Trakya'da kıvrıkcık koyunlarında akciğer nematodlarının yayılışı. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
16. Dik B., Sevinç F., Köse M., 1995. Konya yöresi koyunlarında akciğer kılkurtlarının yayılışı. Veterinarium, 6, 79-81.
17. Doğanay A., Burgu A., Toparlak M., 1989. Ankara yöresinde koyunlarda metastrongylose. Etlik Vet Mikrobiyoloj Derg, 6, 99-113.
18. Epe C., Samson-Himmelstjerna GV., Schnieder T., 1997. Differences in a ribosomal DNA sequence of lungworm species (*Nematoda: Dictyocaulidae*) from fallow deer, cattle, sheep and donkeys. Res Vet Sci, 62, 17-21.
19. Carreno RA., Nadler SA., 2003. Phylogenetic analysis of the Metastrongyloidea (Nematoda: Strongylida) inferred from ribosomal RNA gene sequences. J Parasitol, 89, 965-973.
20. Höglund J., Morrison DA., Divina BP., Wilhelmsson E., Mattsson JG., 2003. Phylogeny of *Dictyocaulus* (lungworms) from eight species of ruminants based on analyses of ribosomal RNA data. Parasitology, 127, 179-187.
21. Johnson M., Abs EL-Osta YG., Hu M., Gasser RB., 2004. An electrophoretic tool for the genetic characterisation and delineation of lungworms. Mol Cell Probes, 18, 197-203.
22. Jenkins EJ., Appleyard GD., Hoberg EP., Rosenthal BM., Kutz SJ., Veitch AM., Schwantje HM., Elkin BT., Polley L., 2005. Geographic distribution of the muscle-dwelling nematode *Parelaphostrongylus odocoilei* in North America, using molecular identification of first-stage larvae. J Parasitol, 91, 574-584.

23. Carreno RA., Diez-Banos N., Hidalgo-Arguello MR., Nadler SA., 2009. Characterization of *Dictyocaulus* species (Nematoda: Trichostrongyloidea) from three species of wild ruminants in Northwestern Spain. J Parasitol, 95, 966-970.
24. Chilton NB., Huby-Chilton F., Gasser RB., Beveridge I., 2006. The evolutionary origins of nematodes within the order Strongylida are related to predilection sites within hosts. Mol Phylogenet Evol, 40, 118-128.



## Şanlıurfa İlinde Tüketime Sunulan Yöresel Peynirlerde Virüent *Listeria monocytogenes* İzolasyonu ve İdentifikasyonu\*

Halil İbrahim DENİZ<sup>1</sup>, Serap KILIÇ ALTUN<sup>2</sup>✉

1. Elbistan Tarım İlçe Müdürlüğü, Kahramanmaraş, TÜRKİYE.

2. Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.12.2016	28.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu çalışmanın amacı Şanlıurfa ili ve ilçelerinde semt pazarlarında tüketime sunulan çiğ koyun ve inek sütünden yapılmış yöresel Urfa peynirlerinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun varlığını ve oranını tespit ederek halk sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığını değerlendirmektir. Çalışma kapsamında semt pazarlarından toplanan 97 adet peynir örneğinde *Listeria monocytogenes* izolasyonu ISO 11290-1 standardına göre yapılmış ve Listeriolysin gen bölgesi kullanılarak Real-time PCR yöntemi ile identifiye edilmiştir. İncelenen peynir örneklerinin 3 adedinde (%3.09) virüent *Listeria monocytogenes* suşu tespit edilmiştir. Çalışma verilerine göre, Şanlıurfa ili ve ilçelerinde geleneksel yöntemlerle üretilip semt pazarlarında açıkta satılan peynirlerin, *Listeria monocytogenes* ile kontamine olabileceği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Listeria monocytogenes*, Real-time PCR, Urfa peyniri.

## The Isolation and Identification of Virulent *Listeria monocytogenes* Consumption of Local Cheeses in Şanlıurfa Province

**Abstract:** The purpose of this study is to evaluate the presence and risk of *Listeria monocytogenes* contamination in local Urfa cheeses made from raw sheep and cow milk and to determine whether it poses a risk in terms of public health in the Şanlıurfa province and its districts. In the scope of the study, isolation of *Listeria monocytogenes* was done according to ISO 11290-1 standard in 97 cheese samples collected from district markets and identified by Real-time PCR method using Listeriolysin gene region. Three virulent *Listeria monocytogenes* were identified in the investigated cheese samples (3.09%). The findings of this study showed that cheeses produced in traditional methods in Şanlıurfa province and its districts and openly sold in district markets may be contaminating with *Listeria monocytogenes*.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, Real-time PCR, Urfa cheese.

✉ Serap KILIÇ ALTUN

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.  
e-posta: vetserapaltun@hotmail.com

\*Bu çalışma Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans tez çalışmasından özetlenmiştir.

## GİRİŞ

**P**eynir, sütün rutubet oranının azaltılarak starter kültür ilavesi ile enzim veya asitle pıhtılaştırılması, farklı yöntemlerle işlenmesi ve şekillendirilmesi ile elde edilen yüksek protein değerine sahip bir süt ürünüdür (1,2).

Dünyada 2000'den fazla çeşidinin olduğu tahmin edilen peynirin Türkiye' de de 193 çeşidi bulunmaktadır (1,3). Peynir çeşitliliğinde sütün cinsi (inek, koyun, keçi), pıhtı oluşturma yöntemi (asit, maya), ısıtma işlemi (çığ, pastörize), yağ oranı (tam yağlı, yağlı, az yağlı, yağsız), yapısı (çok sert, sert, yumuşak), tuz oranı (tuzlu, tuzsuz), katkı maddeleri (çeşitli ot ve baharatlar, eritici tuzlar, küf gelişimi olanlar), olgunlaşma süresi (taze, yarı olgun, olgun) gibi faktörler etkili olmaktadır (4). Türkiye' de endüstriyel anlamda üretimi yapılan beyaz peynir, kaşar ve tulum peynirleri gibi ticari peynir çeşitlerinin dışında Urfa peyniri, çökelek peyniri, civil peynir, mihalıç peyniri ve otlu peynir gibi yöresel peynir çeşitleri de üretilmektedir (5). Gözeneksiz, sert ve yağlı peynirler grubuna giren Urfa peyniri, geleneksel olarak koyun sütü veya koyun-keçi sütü karışımından üretilmektedir (6). Ancak, küçükbaş hayvanların laktasyon süresinin kısa olması nedeniyle günümüzde inek sütü veya karışımından da yapılmaktadır. Üretim genel itibarıyla geleneksel yöntem, bilgi ve maharet ile atadan kalma alet ve ekipman kullanılarak hijyenik olmayan ortamlarda, pastörize edilmeden yapılmaktadır. Yöresel olarak Urfa peynirinin yapımı şu şekildedir; Sağımdan sonra süt, kaba kirlerinden arındırıldıktan sonra sağım sıcaklığında mayalanır. İşlemi takiben "Parzın" adı verilen tülbentlere doldurulur ve süzölmeye bırakılır. Süzölen peynir pıhtısına geleneksel yöntemlerle baskı uygulanarak kalıp tutması sağlanır. Kalıplar yöre halkı tarafından "deleme" olarak adlandırılan koni şeklini alır (7).

*Listeria* genusu Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de basil formda, Gram pozitif, sporsuz olarak tanımlanır. *Listeria monocytogenes'* in bulaş kaynakları; hava, su, gübre, yem, bitki, hayvanlar, insan, toprak, kanalizasyon atıkları, işleme

malzemeleri, katkı maddeleri ve paketleme materyalleridir (8,9,10). Hamileler, yeni doğanlar, yaşlılar, AIDS ve lenfoma gibi hastalıklar neticesinde bağışıklık sistemleri zarar görmüş kişiler, bağışıklık sistemleri immünoşüpresif ilaçlarla baskılanmış transplant alıcıları ve malign tümörlü hastalar Listeriosis için yüksek risk grubundadır. Bunların yanı sıra yaş ve cinsiyetinde görülme sıklığını etkilediği bildirilmiştir (9,11,12,13). *Listeria monocytogenes'*in Amerika ve Kanada'da 1980' lerde teşhis edilen ve birçok ölümlü sonuçlanan salgınlardan sonra gıda patojeni olduğu anlaşılmıştır (14,15). Gıda kaynaklı listeriosis; salmonellozis ve kampilobakteriyozis kadar yaygın olmamasına rağmen, klinik olarak daha ağır tablolar oluşturabilmektedir (16,17). 1999 yılı Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi verilerine göre; gıda kaynaklı enfeksiyonlar arasında %20'lik mortalite oranıyla *Listeria monocytogenes* ikinci sırada yer almıştır (17). Gıdalar arasında enfeksiyon kaynakları olarak; çığ süt, pastörize edilmiş süt, dondurma, meyve ve sebzeler, et ve et ürünleri, kanatlı etleri, çığ ya da işlenmiş balık, kabuklu deniz mahsulleri, ısıtma işlemi uygulanmamış süttten elde edilen taze peynirler, yumuşak peynirler, tüketime hazır endüstriyel gıdalar, ısıtma işleminden geçmiş işlenmiş et ürünleri sayılabilir (18,19,20,11). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğine göre tüm peynir çeşitlerinde *Listeria monocytogenes'*in izole edilmemesi gerekmektedir (21). Bu araştırmanın amacı, Şanlıurfa ili ve ilçelerinde geleneksel yöntemlerle üretilip semt pazarlarında açıkta satılan Urfa peynirlerinin, *Listeria monocytogenes* ile kontaminasyonunu ve dolayısıyla halk sağlığı açısından durumunu belirlemektir.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada Şanlıurfa il ve ilçe merkezlerindeki semt pazarlarından satın alınan 50 adedi koyu-keçi sütünden, 47 adedi inek sütünden yapılmış toplam 97 adet taze yöresel Urfa peynir örneği aseptik koşullarda soğuk zincir altında laboratuara getirildi. Örnekler analize kadar -18 °C muhafaza edildi. Daha sonra ISO 11290-1 metoduna göre analize alındı.

Her numune steril stomacher torbalarına 25'er gram tartılarak içine 225 mL Fraser *Listeria* Selective Enrichment Broth (Merck 1.10398) ilave edildi. İki dakika süre ile homojenize edilerek 37 °C' de 48 saat aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. Chromocult *Listeria* Agar Selective Supplement (Merck 1.00432) ile zenginleştirilen *Listeria* Selective Agar Base (Merck 1.00427) steril petrilere döküldü. Besiyerlerine çizgi plak tekniği ile ekim yapıldı. 37 °C' de 24 saat inkübatörde inkübe edildi. Besiyerinde opak bir hale ile çevrili yeşil-mavi koloniler şüpheli kabul edilerek ileri identifikasyon testleri amacıyla aynı gün içinde Real-time PCR için toplandı.

#### DNA izolasyonu

Şüpheli kolonilerden 5'er adet alınıp Brain Heart Infusion Broth'a (Oxoid CM1135) geçirilerek 37°C'de 18 saat inkübe edildi. İnkübasyonu takiben sıvı besiyerleri steril 1.5 ml mikrosantrifüj tüpüne minimum 5'er adet bakteri kolonisi, koloni 1.5 mL mikrosantrifüj tüpüne alındı. Santrifüjde 8000 x g de 5 dakika çevrilerek oluşan pellet üzerine 200 µl PBS eklendi. Üzerine 20 µL lizozim enzimi eklenerek (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA pH:8.0, 0.1 %(w/v) SDS) 37°C' de 15 dakika hücre duvarını yıkmak için bekletildi. Bu lizatlardan DNA izolasyonu, High Pure PCR template DNA ekstraksiyon kitinde (11796828001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) bulunan, kültürden bakteri izolasyon prosedürü kullanılarak üretici talimatları doğrultusunda yapıldı. Elde edilen 26 adet şüpheli koloninin DNA'ları Nanodrop cihazı ile ölçülerek 260/280 nm saflığı ve ng/µL olarak miktarları tespit edildi. İzole edilen DNA örnekleri -20 °C'de Real-time PCR analizi için muhafaza edildi (22).

#### Real-time PCR yöntemi ile *Listeria spp.* identifikasyonu

*Listeria spp.* şüpheli kolonilerden önce nükleik asit izolasyonu yapılarak elde edilen DNA'lardan virüent *Listeria monocytogenes* identifikasyonu, Listeriolysin gen bölgesi kullanılarak Real-time PCR

yöntemi ile incelendi. Tüm Real-time PCR reaksiyonlarında örnekler 2 tekrarlı çalışıldı. Real-time PCR işlemi, Rotorgene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) sisteminde Light Cycler FastStart DNA Master SYBR Green I kiti (03003230001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Almanya) kullanılarak üretici direktifleri doğrultusunda yapıldı. *Listeria monocytogenes*'in, Listeriolysin O gene (*hly*) bölgesi için spesifik dizayn edilmiş primerler kullanılarak üretici direktiflerine göre çalışma ve analiz gerçekleştirildi (22).

*Listeria monocytogenes* için

Düz primer (5'-GGGAAATCTGTCTCAGGTGATGT-3')  
ve

Ters primer (5'-CGATGATTTGAACTTCATCTTTGC-3')

*Listeria monocytogenes* PCR ürünlerinin amplifikasyonları için PCR karışımı 2 µL 10× SYBRGreen mix (Taq-polymerase içeren), 2µL 25mM MgCl<sub>2</sub>, 12µL ddH<sub>2</sub>O ve her bir primerden 1µL (10 µmol) ve izole edilen DNA (50ng/µL) 2 µL eklenerek hazırlandı. 95°C'de 30 saniye ve 45 döngü, 95°C'de 10 saniye, 62°C'de 30 saniye tekli okuma yapıldı. Erime eğrisi analizi için 1 döngü 62°C'den erime eğrisi 95°C'de 0 saniye 1°C /sn sürekli okuma yapıldı. Soğuma 40 °C de 30 saniye ile gerçekleştirildi. Real-time PCR işlemleri Rotorgene Q (Qiagen, Hilden, Almanya) cihazı kullanılarak yapıldı (23).

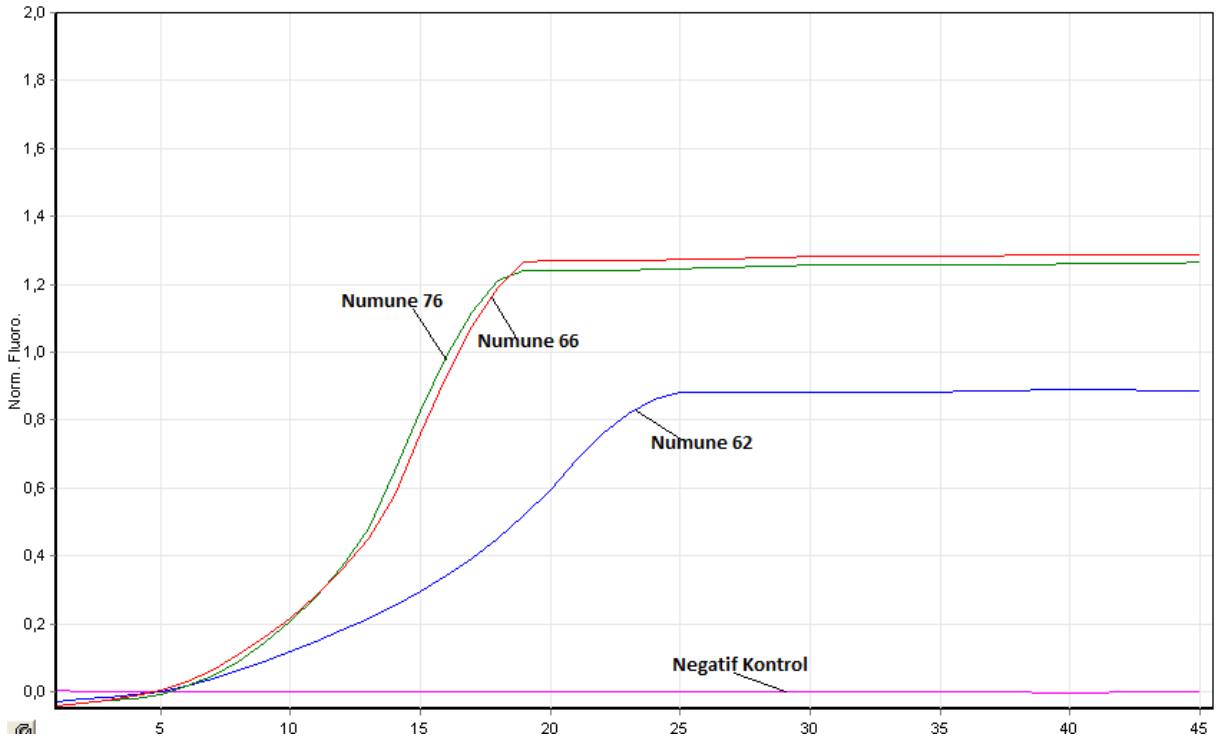
#### BULGULAR

Çalışma materyalini oluşturan 97 adet peynir örneğinde virüent *Listeria monocytogenes*' in varlığı araştırıldı. Bu amaçla ISO 11290-1 metoduyla 26 örnekte şüpheli *Listeria spp.* kolonisi tespit edilip, *Hly* gen bölgesi ve Real-time PCR cihazıyla identifikasyonu yapılarak 3' ünün (% 3.09) virüent *Listeria monocytogenes* olduğu saptandı. Virüent *Listeria monocytogenes* identifiye edilen peynir örneklerinin inek sütünden yapılan peynirler olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

**Tablo 1.** Real-time PCR ile *Listeria monocytogenes* identifikasyonu.  
**Table 1.** Identification of *Listeria monocytogenes* by real-time PCR.

<i>Listeria monocytogenes</i> Real-time PCR			
Peynir Türü	Numune Sayısı	Negatif	Pozitif
İnek Peyniri	47	44	3
Koyun Peyniri	50	50	0

**Şekil 1.** Real-time PCR eğrileri.  
**Figure 1.** Real-time PCR curves.



## TARTIŞMA ve SONUÇ

Peynir; yüksek protein değeri ve yöresel çeşitliliği ile Türkiye’de fazlaca tüketilen hayvansal bir gıdadır. Üretimdeki hijyen hataları, ambalajlama ve muhafaza sırasında kontaminasyon, gıda kaynaklı patojenler açısından tehlike oluşturabilmektedir. Türkiye’ de ve Dünyada süt ve süt ürünlerinde ve özellikle de peynirde *Listeria monocytogenes* ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (24,25,26). Bu çalışmada 97 adet Urfa yöresel peynir örneğinde *Listeria monocytogenes* oranı %3.09 olarak belirlenmiştir. Kahraman ve ark.’nın (26) 2007 ile 2008 yılları arasında Marmara bölgesinde toplam 280 peynir

örneği ile yapmış oldukları çalışmada %2.5 oranında *Listeria monocytogenes* tespit edilirken; Büyükyörük ve Göksoy’un (27) 2011 yılında starter kültür kullanmadan geleneksel yöntemlerle üretilen 58 adet köy peyniriyle yapmış oldukları çalışmada *Listeria monocytogenes*’e rastlanmamıştır. Bu çalışma bulguları ile paralelik gösteren Telli (11) tarafından yapılan doktora tezinde; Haziran-Eylül 2010 tarihleri arasında toplanan 192 beyaz salamura peynir örneğinin %3.53’ünde *Listeria monocytogenes* izole edilmiştir. Karadal (28) tarafından hazırlanan doktora tezinde ise; çalışmada kullanılan 200 peynir örneğinin 2 sinde (%1) *Listeria monocytogenes* kontaminasyonuna rastlanmıştır. Azak ve ark. ’nın



(29) 2012 yılında Erzincan tulum peynirlerinde yapmış oldukları çalışmada ise 100 tulum peyniri numune olarak kullanılmış ve araştırma sonucunda tulum peynirlerinin 3'ünde (%3) *Listeria* spp. izole edilmiş ve izole edilen numunelerin tamamı PCR ile *Listeria monocytogenes* olarak tanımlanmıştır. Molla ve ark. (30) 2004 yılında Etiyopya'da 61 lor peynirinin yalnızca 1 tanesinde (%1.6) *Listeria monocytogenes* tanımlanmıştır. Elmas'ın (31) Aydın ilinde yapmış olduğu yüksek lisans çalışmasında 60 adet beyaz, tulum ve lor peynirlerinin 3'ünde (%5), Çolak ve ark.'nın (32) Mart 2004-Mart 2005 tarihleri arasında İstanbul'dan toplanan 250 tulum peyniri örneği ile yapmış oldukları çalışmada ise % 4.8'inde (12 adet), Çetin ve ark.'nın (33) Kırıkkale ilinde 2015 yılında analiz ettikleri 17 kaşar peynir örneğinin sadece bir tanesinde (%5.88) *Listeria monocytogenes* tespit edilirken, Güner ve Telli'nin (34) 2011 yılında Van, Hatay ve Konya illerinden temin edilen 120 peynir örneği ile yapmış oldukları çalışmada *L. monocytogenes* prevalansı %28.3 olarak belirtilmiştir. Manfreda ve ark.'nın (35) İtalya'da Gorgonzola peyniri üzerine yaptıkları bir çalışmada *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunu %2.1 olarak tespit etmişlerdir. Gohil ve ark. (36) 196 adet salamura beyaz peynir örneği ile yapmış oldukları araştırmalarında örneklerin %1.02'sinde (2 örnekte) *L. monocytogenes* izole etmişlerdir. Wernars ve ark. (37)'nin PCR tekniği ile yumuşak peynirlerde yaptıkları araştırmada bazı örneklerde  $10^3$  kob/0.5 g *Listeria* spp. izolasyonu için yeterli bakteri sayısı olduğunu bildirmişlerdir. El-Silva ve ark.(38), Brezilyada yöreye has bir peynir çeşidi olan Minas peynirinin üretiminde kritik kontrol noktalarında *Listeria monocytogenes* varlığını tespit etmek için yaptıkları araştırmada 218 örnekten (54 gıda, 107 ekipman, 22 personel ve 35 çevresel örnek) 13'ünde *Listeria* spp. izolasyonu yapılmış ve tanımlanmıştır; 9'unun *Listeria innocua*, 2'sinin *Listeria monocytogenes* ve 2'sinin de *Listeria grayi* olduğunu belirlemişlerdir. Bu araştırmanın bulguları ile diğer araştırmacıların rapor ettiği bulgular

arasındaki farklılığın, kullanılan farklı peynir üretim teknikleri, peynir üretiminde kullanılan sütlerdeki değişik kontaminasyon seviyeleri, semt pazarlarındaki farklı çevresel şartlar, coğrafi farklılıklar ve yetersiz hijyenik uygulamalardan kaynaklandığı düşünülmektedir (35,36,37,38).

Berrada ve ark.'larının (22) yapmış olduğu çalışmada Real-time PCR sistemi ile *Listeria monocytogenes* tanımlanmasının %85'in üzerinde olduğu bildirilmiş ve tüm kültür pozitif örneklerin aynı zamanda Real-time PCR sisteminde de pozitif olduğu gösterilmiştir. Araştırma bulguları Real-time PCR metodunun etkinliğini ortaya koymaktadır (21).

Sonuç olarak yöresel peynirlerin zoonozlarla kontaminasyonunda üretim koşullarındaki hijyen noksanlığından pazar koşullarına kadar bir çok faktörün etkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma bulguları değerlendirildiğinde *Listeria monocytogenes* kontaminasyonunun engellenmesi amacıyla aile işletmelerinde ve mandıralarda üretilen Urfa peynirlerinin üretiminin tüm aşamaları için hijyen ve bilinçlendirme eğitimleri düzenlenmeli, yalnızca üretim değil muhafaza, taşıma gibi peynirlerin tüketiciye ulaşana dek tüm aşamalarda dekontaminasyonuna özen gösterilmelidir.

#### KAYNAKLAR

1. Tekinşen OC., Tekinşen KK., 2005. Süt ve Süt Ürünleri. 2. Baskı, 145-242, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya.
2. Hayaloglu AA., Guven M., Fox PF., 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. International Dairy Journal, 12, 635-648.
3. Çetinkaya A., 2005. Yöresel Peynirlerimiz. 1. Baskı, 5-30, Uğurer Basımevi, Kars.
4. Öney RG., 2012. Süt Ürünleri Üretim Proseslerinde Risk Analizi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
5. Demirci M., Şimşek O., Taşan M., 1994. Ülkemizde yapılan muhtelif tip yerli peynirler, her yönüyle peynir. Trakya Üni, Ziraat Fak Derg, 125, 273-281.

6. Yıldız F., 2003. Ankara piyasasında satılan Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal niteliklerinin saptanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
7. Akın MS., Şahan N., 1998. Şanlıurfa' da üretilen taze Urfa peynirlerinin kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu 21-22 Mayıs 1998 "Geleneksel Süt Ürünleri" Milli Prodüktive Merkezi Yayınları No:621 Mert Matbaası, Ankara, 282-296.
8. Banwart GJ., 1979. Basic Food Microbiology. 2nd ed., 165-380, International Thomson Publ. New York.
9. Erol İ., 2007. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. 1. Baskı. 126-134. Pozitif Matbaacılık, Ankara.
10. Uhitil S., Jaksic S., Petrak T., Medic H., Gumhalter-Karolyi L., 2004. Prevalance of *Listeria monocytogenes* and the other *Listeria* spp in cakes in Croatia. Food Control, 15, 213-216.
11. Telli N., 2012. *Listeria monocytogenes*' in salamura beyaz peynir üretim hattında kontaminasyon kaynaklarının belirlenmesi ve PFGE metodu ile genotiplendirilmesi. Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Konya.
12. Painter J., Slutsker L., 2007. Listeriosis in Humans. In: Ryser ET, Marth EH, editors. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety, 3rd ed., 85-111, CRC Press. London, Newyork.
13. Liu D., 2008. Epidemiology. In: Liu D, editors. Handbook of *Listeria monocytogenes*. 1st ed, 27-60, CRC Pres. New York.
14. Hibi K., Abe A., Ohashi E., Mitsubayashi K., Ushio H., Hayashi T., Ren H., Endo H., 2006. Combination of ,immunomagnetic separation with flow cytometry for detection of *Listeria monocytogenes*. Anal Chim Acta, 573, 158-163.
15. Samelis J., Metaxopoulos J., 1999. Incidence and principal sources of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes* contamination in processed and a meat processing plant. Food Microbiol, 16, 465-477.
16. Koçan D., Halkman AK., 2006. *Listeria monocytogenes* ve listeriozis. Gıda Derg, 31, 251-258.
17. FDA, 2003. Quantitative Assessment of Relative Risk to Public Health from Foodborne *Listeria monocytogenes* Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods Interpretive Summary. <https://www.fda.gov/downloads/Food/FoodScienceResearch/UCM197329.pdf> (Erişim Tarihi: 6.5.2016).
18. Kınık Ö., Akbulut N., 1991. *Listeria monocytogenes* ve Süt Teknolojisindeki Önemi. Gıda/The Journal of Food, 16, 359-363.
19. Berktaş M., Bozkurt EN., Bozkurt H., Alışarlı M., Güdücüoğlu H., 2006. Et ve et ürünlerinden *Listeria monocytogenes*' in izolasyonu. Van Tıp Derg, 13, 36-41.
20. Sergelidis D., Abraham A., 2009. Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. Food control, 20, 1-10.
21. Anonim, 2010. Türk Gıda Kodeksi, Mikrobiyolojik Kriterler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ. Ankara: Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı.
22. Berrada H., Sariano JM., Pico Y., Manes J., 2006. Quantification of *Listeria moncytogenes* in salads by real time. Int J Food Microbiol, 107, 202-206.
23. Rodriguez-Lazaro D., Hernandez M., Scortti M., Esteve T., Vazquez-Boland JA., Pla M., 2004. Quantitative detection of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* by real time PCR: Assasment of hly, iap and lin02483 targets and ampliflour technology. Appl Environ Microbiol, 70, 1366-1377.
24. Çetinkaya B., Ertuş HB., Muz A., 1999. Süt ürünlerinde *Listeria* türlerinin izolasyonu. F. Ü. Sağ. Bil. Derg, 13, 21-25.
25. Gülmez M., Güven A., 2001. Beyaz ve çeçil peynirlerinde *Campylobacter*, *Salmonella* ve *Listeria* türlerinin araştırılması. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg, 72, 155-161.
26. Kahraman T., Gürsel Ö., Özınan B., Göksoy EÖ., 2010. Prevalance of *Salmonalle* spp. and *Listeria*

- monocytogenes* in different cheese types produced in Turkey. British Food Journal. 112, 1230-1236.
27. Büyükyörük S., Göksoy EÖ., 2011. Investigation the presence of *Listeria spp.* from village cheese in Aydın Province. Uludağ Üniv J Fac Vet Med, 30, 9-12.
28. Karadal F., 2013. Niğde'de satışa sunulan çiğ süttten yapılmış peynir örneklerinde *Listeria monocytogenes* varlığının, serotip dağılımının ve antimikrobiyal dirençlilik profilinin belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
29. Azak MG., Kılıç H., Hızlısoy H., Abay S., 2012. Erzincan ili tulum peynirlerinde *Listeria Spp.* izolasyonu ve identifikasyonu. J Fac Vet Med Univ Erciyes, 9, 149-156.
30. Molla B., Yilma R., Alemayehu D., 2004. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in retail meat and milk products in Addis Ababa, Ethiopia. Ethiop J Health Dev, 18, 208-212.
31. Elmas S., 2014. Aydın ilindeki semt pazarlarında satışa sunulan beyaz, tulum ve lor peynirlerinde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella Spp.* varlığının araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Türkiye.
32. Çolak H., Hampikyan H., Bingöl EB., Ulusoy B., 2007. Prevalance of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. Food Control, 8, 576-579.
33. Çetin B., Karasu S., Atik A., Durak MZ., 2015. Investigation of microbiological quality of some dairy products in Kırklareli: detection of *Salmonella spp.* and *Listeria monocytogenes* by real time PCR. T. Z. F. Dergisi, 12, 74-80.
34. Güner A., Telli N., 2011. A Survey on presence of *L. monocytogenes* in various semi-hard cheeses from different region of Turkey. J Anim Vet Adv, 10, 1890-1894.
35. Manfreda G., De Cesare A., Stella S., Cozzi M., Cantoni C., 2005. Occurance and ribotypes of *Listeria monocytogenes* in gorgonzola cheeses. Int J Food Microbial, 102, 287-293.
36. Gohil VS., Ahmed MA., Davis R., Robinson RK., 1995. Incidence of *Listeria* spp. in retail foods in The United Arab Emirates. J Food Prot, 58, 102-104.
37. Wernars K., Heuvelman CJ., Chakraborty T., Notermans SHW., 1991. Use of the polymerase chain reaction for direct detection of *Listeria monocytogenes* in soft cheese. J of Appl Microbiol, 70, 121-126.
38. Silva IMM., Almedia RCC., Alves MAO., Almedia PF., 2003. Occurance of *Listeria Spp.* in critical control points and the environment of minas frescal cheese processing. Int J Food Microbiol, 25, 241-248.





## Radyasyona Maruz Bırakılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Parametreler Üzerine Propolisin Etkisi\*

Halil ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Enes KAYA<sup>2</sup>, Mehtap ÖZÇELİK<sup>3</sup>

1. Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Bingöl, TÜRKİYE.
2. Ankara Final Anadolu Lisesi, Ankara, TÜRKİYE.
3. Fırat Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Elazığ, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received  
27.05.2016

Kabul Tarihi/Accepted  
30.05.2017

Yayın Tarihi/Published  
20.12.2017

**Öz:** Bu çalışmada, radyasyon uygulaması yapılan ratlarda kanda; MDA, GSH seviyelerinde, SOD, GSH-Px ve CAT aktivite düzeylerinde propolis verilmesi ile meydana gelecek değişikliklerin belirlenmesi amaçlandı. Araştırma 3 grup üzerinde yapıldı ve 30 adet rat kullanıldı. Birinci grup kontrol grubu olup herhangi bir uygulama yapılmadı. İkinci grup üç gün boyunca 100 mg/kg canlı ağırlık olacak şekilde % 0.9'luk serum fizyolojik tuzlu su intraperitoneal (i.p.) olarak verildi ve uygulama sonunda radyasyon (6 Gy dozda gama ışını) ışınlanması (160 MLC LINAC) yapıldı. Üçüncü grup üç gün boyunca 100 mg/kg olacak şekilde propolis (i.p.) yolla verildi ve uygulama sonunda aynı dozda radyasyon uygulandı. Alınan kan örneklerinde; plazma MDA düzeyleri ile eritrosit GSH, SOD, GSH-Px ve CAT aktiviteleri spektrofotometrik yöntem kullanılmak sureti ile ölçüldü. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonunda; radyasyon grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; plazma MDA (P<0.001) düzeyi artarken, eritrosit GSH (P<0.001), GSH-Px (P<0.001), CAT (P<0.001) ve SOD (P<0.001) aktiviteleri önemli düzeyde azalma gösterdi. Propolis + radyasyon grubunda, radyasyon grubuna kıyasla; plazma MDA (P<0.001) düzeyi istatistiksel önemde azalmasına karşın, eritrosit GSH düzeyi, SOD, GSH-Px ve CAT (p>0.05) aktivitelerinin ise etkilenmediği gözlemlendi. Bu çalışmada radyasyonun neden olduğu enzim aktivitesi azalmasına propolisin kullanılan dozunun artırıcı yönde etki etmediği gözlemlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan, Lipid Peroksidasyon, Propolis, Radyasyon, Rat.

## The Effect of Propolis on Lipid Peroxidation and Some Antioxidants Parameters in the Radiation Exposed Rats

**Abstract:** The aim of this study was to determine the changes on radiation exposed rats and the blood in the levels of MDA, GSH, activities SOD, GSH-Px and CAT with the application of propolis. This research was carried out on 3 groups and 30 rats were used. Group 1 was the control group and no application was made. Group 2 was given 100 mg/kg body weight of % 0.9 saline brine intraperitoneal for three days and at the end of the application radiation (6 Gy dose of gamma rays) irradiation was applied. Group 3 was given 100 mg/kg propolis intraperitoneal for three days and at the end of the application the radiation with the same dose was applied. In blood samples taken, plasma MDA, erythrocyte GSH levels, SOD, GSH-Px and CAT activities were measured using spectrophotometric method. After statistical analyses, when compared to the control group, in radiation group, plasma MDA (P<0.001) and erythrocyte GSH (P<0.001) levels, GSH-Px (P<0.001), CAT (P<0.001) and SOD (P<0.001) activities were found to be significant. When compared to radiation group, in propolis + radiation group; while the levels of plasma MDA (P<0.001) were found to be significant, levels of GSH (P>0.05) in erythrocyte and activities of SOD, GSH-Px and CAT were not found to be significant. In this study, it was observed that the dose of propolis used did not act to increase the decrease in enzyme activity caused by radiation.

**Keywords:** Antioxidant, Lipid Peroxidation, Propolis, Radiation, Rat.

<sup>✉</sup>Halil ŞİMŞEK

Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Bingöl, TÜRKİYE.  
e-posta: hsimsek@bingol.edu.tr

\*Bu çalışma Bingöl üniversitesi 134-144-2013 numaralı BAP projesi ve aynı isimli yüksek lisans tezi sonuçlarından özetlenmiştir.

## GİRİŞ

**R**adyasyon, elektromanyetik dalgalarla yayılan yüksek hızlı parçacıkların oluşturduğu bir enerji şeklidir. Yaşadığımız çevrede yoğun olarak radyasyon bulunmakta olup başta güneş ışınları, kullandığımız lambalar, mikro dalga fırınları ve sıklıkla kullandığımız elektrikli ev aletleri ve toprakta bulunan radyoaktif maddelerin yaydığı ışınlar bu radyasyonun başlıca kaynakları arasında sayılabilir. Bunun yanında, yüksek gerilim hatları, endüstri ve nükleer tesisler, tıbbın radyasyon dallarında kullanılan çeşitli aletler ve buralarda çalışanlar radyasyona değişen dercelerde maruz kalmaktadırlar (1). Radyasyon etkilediği canlı dokularda doğrudan ya da meydana getirmiş olduğu serbest radikallerin hücre elemanları ile etkileşimine bağlı olarak hasar meydana getirmektedir. Canlı dokuda meydana gelen hasarın derecesi radyasyonun dozuna ve türüne bağlı olarak değişiklik gösterir (2).

Serbest radikaller, içinde bir ya da birden fazla çiftleşmemiş elektron bulunduran element veya bileşiklerdir. Serbest radikallerde bulunan çiftleşmemiş elektronların kararlı hale geçebilmeleri için, kararlı haldeki bir bileşikten elektron almak sureti ile bu bileşiği yeni bir serbest radikale çevirirler. Oluşan yeni radikaller çok reaktif kimyasal maddeler olduklarından çoğu hastalıkların etiyolojisinde aktif rol alırlar. Serbest radikaller, poliansature yağ asitlerinin peroksidasyonu ile hücre membran yapısını bozarak hasar meydana getirirler (3). Meydana gelen hasara bağlı olarak lipid peroksidasyonun son ürünleri meydana gelir (4). Malondialdehit (MDA), dokularda lipid peroksidasyon sonucu açığa çıkan ve lipid peroksidasyon düzeyinin belirlenmesinde yaygın şekilde kullanılan bir parametredir (5).

Canlı hücrelerdeki protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek yapıların oksidasyonunu engelleyen, oksidasyon sonucu meydana gelen hasarı önleyen maddelere antioksidanlar, bu olaya da antioksidan savunma denir (6,7). Antioksidanlar, meydana gelen serbest radikalleri toplayıp, kararlı hale getirir, zincir kırıcı etkisi ile serbest radikal üreten kimyasal reaksiyonları durdurur ve baskılayıcı etki göstermek suretiyle

reaksiyon hızını azaltırlar. Onarıcı etkisi ilede biyolojik moleküllerdeki hasarı onararak organizmadaki enzimatik ve enzimatik olmayan endojen antioksidanların sentezini artırarak etki gösterirler (8). Antioksidan savunma içerisinde; katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimler enzimatik antioksidanlar olarak isimlendirilirken, glutatyon (GSH), tokoferol ve askorbik asit gibi maddeler enzimatik olmayan antioksidanlar olarak adlandırılır (4).

Propolis, işçi arılar tarafından bitkilerin tomurcuk ve kabuklarından toplanan, reçineli ve mum kıvamında olan rengi kirli sarıdan koyu kahverengine kadar değişen ve oda sıcaklığında yarı katı halde mum kıvamında olan organik bir maddedir (9). Propolisin birçok özellikleri bulunmakla birlikte; antibakteriyel (10), antiviral, antifungal (11), antioksidan (12), antiinflamatuvar etkisinin yanında yara iyileştirici, doku yenileyici ve anestezi özellikleri gibi birçok biyolojik aktivitenin olduğu bildirilmektedir (13). Propolisin antioksidan özelliği, serbest radikalleri tutmak ya da daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürmek sureti ile serbest radikalle etkileşime girip oksidan maddelerin aktivitelerini azaltır. Böylece etkisini, serbest radikallerin etkilerini kendilerine bağlamak, reaksiyonun zincirini kırmak ya da onarım yapmak sureti ile gösterir (14).

Yaşadığımız modern dünyada radyasyondan uzak bir yaşam sürdürmek mümkün değildir. Gerek doğal ve gerekse yapay radyasyondan her zaman insanlar ve diğer canlılar olumsuz yönde etkilenmektedir. Canlı organizmada meydana gelen oksidatif hasar sonrası serbest radikallerin olumsuz etkileri gıdalarla alınan antioksidanlarca önlenilmektedir. Propolis, gerek günlük yaşantımızda kullanılan cihazların yaydığı radyasyona ve gerekse tedavi amaçlı ışın uygulaması gören hastalarda iyonize olmuş radyasyona bağlı oluşan toksisiteyi önlemede yapılacak çalışmalara ışık tutması, yapılmış olanları desteklemesi ve alternatif tedavi yöntemi olarak destekleyici tedavide doğal bir antioksidan olarak yerini alması açısından önemli görülmektedir. Bu yüzden sunulan bu çalışmada; propolisin, radyasyon uygulanan ratlarda kanda;

MDA, CAT, SOD, GSH-Px ve GSH düzeylerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı.

#### MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada canlı ağırlığı 200–230 gr olan 15 haftalık 30 adet Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Onbeş günlük adaptasyon döneminden sonra her grupta 10'ar adet hayvan olmak üzere 3 grup oluşturuldu. 1. Grup: Kontrol grubu olup herhangi bir uygulama yapılmadı. 2. Grup: Ratlara üç gün boyunca 100 mg/kg canlı ağırlık olacak şekilde %0.9'luk serum fizyolojik tuzlu su intraperitoneal (i.p.) verildi ve uygulama sonunda, radyasyon (6 Gy dozda gama ışını) ışınlanması (160 MLC LINAC) uygulandı. 3. Grup: Ratlara üç gün boyunca 100 mg/kg olacak şekilde propolis (i.p.) verildi ve uygulama sonunda aynı dozda radyasyon uygulandı. Radyasyon uygulaması, Orsolice ve ark. (15) tarafından kullanılan yöntemine göre yapıldı. Uygulama süresince yem ve içme suyu *ad-libitum* olarak verildi. Propolis ekstraksiyon işlemi, Kosalec ve ark.'nın (16) tarif ettiği şekilde hazırlandı.

Ratların beslenmesinde, Elazığ Yem Fabrikasından alınan rat yemi kullanıldı (Tablo 1). Deneysel uygulamalar, laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ve 24±3 °C) uygun olarak yürütüldü. Araştırma, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Etik Kurulu'ndan (Karar No: 18.04.2013/4-1) alınan onaya göre Yerel Etik Kurulu ilkelerine uyularak yapıldı.

**Tablo 1.** Yem Kompozisyonu.

**Table 1.** Feed Composition.

Yem Maddeleri	(%)
Buğday	30
Mısır	15
Arpa	10
Kepek (Buğday)	5
Soya Küspesi	30
Balık Unu	6.5
Limestone (Mermer Tozu)	2
Tuz	1
Methionin	0.25
*Vitamin ve Mineral Karışımı	0.25

\*Vitamin A, D<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> ve C, nicotinamide, folicacid, d-biotin, cholinechloride, mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt ve selenyum.

Uygulama sonunda ratlar ketamin (ketamin HCl, 50 mg/kg ve xylazine 8 mg/kg olacak şekilde karışım intraperitoneal kullanılarak anestezi edildi. Kan örnekleri kalbe punksiyon yapılarak EDTA'lı tüplere alındı. Örnekler, +4 °C'de ve 1500 g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen plazmalar ependorf tüplere konuldu ve analizler yapıncaya kadar -30 °C'de derin dondurucuda saklandı.

#### Eritrosit Paketi Örneklerinin Hazırlanması

Plazması alınan kan örnekleri, %0.9'luk serum fizyolojik ile üç kez yıkandı ve ependorf tüplerde analiz edilinceye kadar -30 °C'de derin dondurucuda saklandı. Analiz için 1/9 oranında distile su ile hazırlanan hemolizat kullanıldı.

Plazmada malondialdehid MDA, Matkovics ve ark. (17) tarafından modifiye edilen Placer ve ark.'nın (18) metoduna göre tespit edildi. Bunun için tiyobarbiturik asitle reaksiyona giren maddelerin (TBARS) konsantrasyonları spektrofotometrede (Janway 6100, İngiltere) 532 nm'de ölçüldü. TBARS ölçümünde standart olarak 1,1,3,3-tetramethoxypropane kullanıldı. Eritrosit GSH düzeyi, Sedlak ve Lindsay'ın (19) bildirdiği metoda göre yapıldı. 5,5'dithio-bis-2-nitrobenzoic acid kullanılarak oluşan renk değişimi spektrofotometrede 412 nm'de ölçüldü. Eritrosit GSH-Px aktivitesi Lawrence ve Burk'un (20) bildirdiği metoda göre ölçüldü. Hemolizattaki GSH-Px, GSH'yi ve glutatyon disülfid bağına okside ederler. Renk ajanı olarak 5,5-ditiyo-bis [2-nitrobenzoic asit] (DTNB) solüsyonu ile karıştırılması sonucu hem kör hem de örneklerde meydana gelen sarı renk kompleksinin 412 nm'de spektrofotometre ile okunması sonucu belirlendi. Eritrosit CAT enzim aktivitesi, Aebi'nin (21) metoduna göre ölçüldü. CAT enzimi hidrojen peroksiti (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) yıkarak su (H<sub>2</sub>O) ve oksijene (O<sub>2</sub>) dönüştürür. Eritrosit SOD aktivitesinin tayini, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksit radikalinin nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgeyerek renk oluşması esasına dayanan Sun ve ark.'nın (22) metoduna göre belirlendi. Bu şekilde

üretilen süperoksit radikalının NBT'yi indirgemesi 560 nm'de maksimum absorpsiyon veren mavi renkli formazon oluşumu ile sonlanır. Eritrosit protein konsantrasyonu, Gornal ve ark.'nın (23) tarif ettiği şekilde biüret yöntemi ile ölçüldü.

### İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası farklılığın önemi tek yönlü ANOVA ile grup içindeki farklılıkların derecesi Duncan testi ile analiz edildi. Veriler; ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterildi ve anlamlılıklar  $p < 0.05$  esas alınarak değerlendirildi (24).

### BULGULAR

Yapılan bu araştırmada plazma MDA konsantrasyonu Tablo 2'de, eritrosit GSH, GSH-Px, CAT ve SOD düzeyleri Tablo 3'de verildi.

**Tablo 2.** Plazma MDA Düzeyi.

**Table 2.** The level of MDA in plasma.

GRUPLAR	n	MDA (nmol/mL)
Kontrol	10	5.023 $\pm$ 0.3870 <sup>c</sup>
Radyasyon	10	11.762 $\pm$ 0.7144 <sup>a</sup>
Propolis+Radyasyon	10	6.858 $\pm$ 0.3202 <sup>b</sup>

MDA: Malondialdehid, n: denek sayısı. Ortama $\pm$ SH; (a,b,c)  $P < 0.001$ . Aynı sütun içinde yer alan farklı harfleri gösteren değerler birbirinden farklıdır.

Gruplar arası farklılığın önemi tek yönlü ANOVA ile grup içindeki farklılıkların derecesi Duncan testi ile analiz edildi. Veriler; ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterildi ve anlamlılıklar  $P < 0.05$  esas alınarak değerlendirildi.

Plazma MDA değerleri, kontrol grubu ile radyasyon grubu, radyasyon grubu ile propolis+radyasyon grubu plazma MDA değerleri yönünden karşılaştırıldığında, radyasyon grubunda meydana gelen artış, propolis+radyasyon grubunda meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.001$ ) bulundu (Tablo 2).

**Tablo 3.** Eritrosit GSH, GSH-Px, CAT ve SOD değerleri

**Table 3.** The levels of GSH, GSH-Px, CAT and SOD in erythrocyte

GRUPLAR	n	GSH (nmol/mL)	GSH-Px (U/gHb)	CAT (k/g Hb)	SOD (U/ Hb/mL)
Kontrol	10	0.006 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>	76.852 $\pm$ 3.8104 <sup>a</sup>	2.079 $\pm$ 0.0500 <sup>a</sup>	3.740 $\pm$ 0.2363 <sup>a</sup>
Radyasyon	10	0.004 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	52.471 $\pm$ 6.0105 <sup>b</sup>	1.301 $\pm$ 0.1171 <sup>b</sup>	1.982 $\pm$ 0.1502 <sup>b</sup>
Propolis+Radyasyon	10	0.005 $\pm$ 0.0001 <sup>b</sup>	54.489 $\pm$ 3.4469 <sup>b</sup>	1.561 $\pm$ 0.0794 <sup>b</sup>	2.557 $\pm$ 0.1381 <sup>b</sup>

GSH: Glutasyon, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz, CAT: Katalaz, SOD: Süperoksit dismutaz, n: denek sayısı. Ortama $\pm$ SH; (a,b)  $P < 0.001$ . Aynı sütun içinde yer alan farklı harfleri gösteren değerler birbirinden farklıdır.

Gruplar arası farklılığın önemi tek yönlü ANOVA ile grup içindeki farklılıkların derecesi Duncan testi ile analiz edildi. Veriler; ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterildi ve anlamlılıklar  $P < 0.05$  esas alınarak değerlendirildi.

Eritrosit GSH düzeyi yönünden, kontrol grubu ile radyasyon grubu karşılaştırıldığında, radyasyon grubunda meydana gelen azalma istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.001$ ), radyasyon grubu ile propolis+radyasyon grubu kıyaslandığında propolis+radyasyon grubunda artışın ise istatistiksel açıdan önemsiz olduğu gözlemlendi. Glutasyon peroksidaz aktivitesi yönünden, kontrol grubu ile

radyasyon grubu kıyaslandığında, radyasyon grubundaki azalma önemli ( $P < 0.05$ ), radyasyon grubu ile propolis+radyasyon grubu karşılaştırıldığında ise propolis+radyasyon grubundaki artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptandı. Katalaz aktivitesi yönünden, kontrol grubu ile radyasyon grubu karşılaştırıldığında, radyasyon grubunda meydana gelen azalmanın istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.001$ ), radyasyon grubu ile propolis+radyasyon grubu karşılaştırıldığında ise propolis+radyasyon grubunda meydana gelen artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlendi. Süperoksit dismutaz aktivitesi yönünden, kontrol grubu ile radyasyon grubu



kiyaslandığında, radyasyon grubunda meydana gelen azalma önemli ( $P < 0.001$ ), radyasyon grubu ile propolis+radyasyon grubu kıyaslandığında propolis+radyasyon grubunda meydana gelen artış önemsiz bulundu (Tablo 3).

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

İnsanoğlu varoluşundan beri devamlı olarak radyasyonla beraber yaşamak durumunda kalmıştır. Dünyanın yaradılışı ile birlikte tabiatta bulunan çok uzun ömürlü radyoaktif olan elementler yaşadığımız ortamda normal ve kaçınılmaz olarak kabul ettiğimiz doğal bir radyasyon ortamı meydana getirmiştir. Geçen yüzyılda doğal radyasyon oranında, nükleer bombaların denenmesi ve bazı teknolojik ürünlerin yoğun şekilde kullanılmasına bağlı olarak önemli düzeyde bir artış meydana getirmiştir (25).

Propolis, antioksidan özelliği olan bir madde olup temel bileşenlerinden olan flavonoidler ile bunlara ek diğer bileşenlerin serbest radikallerin zararlı etkilerini ortadan kaldırmada önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (26).

Bolfa ve ark. (27), çalışmalarında radyasyonu takiben propolis ekstraktının verilmesi ile MDA düzeyindeki azalmanın ve GSH-Px aktivitesi artışının istatistiksel açıdan önemli bulurlarken, aksine GSH düzeyi artışının ise önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir. El-Ghazaly ve ark. (28), ratlarda farklı gruplara gamma radyasyonu uygulaması sonrası plazmada MDA düzeyindeki artışı ve kanda SOD aktivitesindeki azalmayı önemli bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, propolis ekstraktı uygulaması sonrası, MDA düzeyi azalmasının ve SOD enzim aktivitesi artışının önemli olduğunu saptamışlardır. Ceyhan ve ark. (29), elektromanyetik radyasyon uygulaması sonrası deri dokusu MDA artışının, CAT, SOD ve GSH-Px aktivitesi azalmasının istatistiksel açıdan önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Shirazi ve ark. (30), radyasyona maruz bırakılan ratlarda karaciğer MDA artışının ve GSH düzeyindeki azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğunu bulmuşlardır. Dixit ve ark. (31), çalışmalarında ratlarda radyasyon grubunda eritrosit MDA artışı, SOD ve CAT aktivitesi azalmasını

anlamli bulurlarken, aksine GSH artışının önemsiz olduğunu saptamışlardır. Jiang ve ark. (32) da, yaptıkları çalışmada radyasyon grubunda kontrol grubuna göre SOD aktivitesi azalmasını ve MDA artışını istatistiksel açıdan önemli bulmuşlardır. Mansour ve ark. (33), çalışmalarında radyasyon grubunda kontrol grubuna göre kalp dokusu MDA düzeyinde artış, GSH-Px, SOD ve CAT aktivitelerindeki azalmanın önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar propolis bileşeni olan kafeik asit fenetil ester (CAPE) kullanımı sonrası MDA düzeyinde azalma ve SOD aktivitesindeki artışın önemli, GSH-Px ve CAT aktivitesi artışının ise önemsiz olduğunu saptamışlardır. Demirel ve ark. (34), mobil telefon kullanarak elektromanyetik radyasyona maruz bırakılan ratlarda kontrol grubuna göre göz dokusu GSH-Px ve CAT aktivitesi ve kan GSH düzeyi azalması ile MDA artışının istatistiksel açıdan önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir.

Alkis ve ark.'nın (35) yaptıkları bir çalışmada kontrol grubuna göre radyasyon grubunda MDA artışının önemli, (CAPE)+radyasyon grubunda radyasyon grubuna göre azalma istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Radyasyon grubundaki SOD aktivitesinde azalma kontrol grubuna göre önemli, (CAPE)+radyasyon grubunda radyasyon grubuna göre artışın önemli olduğu saptanmıştır. Glutasyon peroksidaz aktivitesinde ise tüm gruplarda istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. Jin ve ark. (36), çalışmalarında MDA düzeyinde kontrol grubuna göre radyasyon grubunda artışın, (CAPE)+radyasyon grubunda radyasyon grubuna kıyasla azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğunu gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar, SOD aktivitesinde radyasyon grubunda kontrol grubuna göre azalma ve (CAPE)+radyasyon grubunda radyasyon grubuna göre artışı istatistiksel açıdan önemli bulmuşlardır.

Sunulan çalışmada, kontrol grubuna göre radyasyon grubunda plazma MDA düzeyindeki artış istatistiksel açıdan önemli bulundu ve sonuçların bazı araştırmacıların (28-33,35,36) bulguları ile uyumlu olduğu ancak, bazılarının (34) bildirimleri ile uyumlu olmadığı gözlemlendi. Radyasyona maruz kalan canlı

organizmada oluşan doku hasarı serbest radikallerin oluşmasına neden olmakta ve plazma lipit ve lipoproteinlerinde de peroksidasyona yol açabilen bir etkisi olabilmektedir (37). Radyasyon ve propolis+radyasyon grupları arasında plazma MDA düzeyi yönünden fark istatistiksel olarak önemli bulundu ve bu sonucun bazı araştırmacıların (27,28,33,36) bildirimleri ile benzerlik gösterdiği ancak, diğer araştırmacıların (35) bildirimleri ile benzer olmadığı gözlemlendi. Bu çalışmada plazma MDA düzeylerinin propolis+radyasyon grubunda sadece radyasyon uygulanan gruba göre önemli düzeyde daha düşük olması, propolisin serbest radikalleri tutmak ya da daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek serbest radikalle etkileşime girip oksidan maddelerin aktivitelerini azaltmasına (14) bağlı olabilir.

Radyasyon grubunda kontrol grubuna göre eritrosit GSH düzeyinde meydana gelen azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmuş olup, bu sonucun bazı araştırmacıların (30) bildirimleri ile benzerlik gösterirken, diğer bazı araştırmacıların (31,34) bildirimleri ile uyumlu olmadığı saptandı. Bu çalışmada sadece radyasyon uygulanan grupta GSH düzeyindeki azalma, canlı organizmayı oksidan hasarlara karşı koruyan antioksidan mekanizmaların radyasyon tarafından inhibe edilmesinden kaynaklanabilir.

Aynı şekilde kontrol ve radyasyon grubu karşılaştırıldığında, radyasyon grubunda eritrosit GSH-Px aktivitesindeki azalma istatistiksel açıdan önemli bulundu ve bu sonuçların bazı araştırmacıların (29,33) bulguları ile benzer olduğu görüldü. Bu durum radyasyonun oluşturduğu oksidatif strese bağlı hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) konsantrasyonunun artması sonucu GSH-Px aktivitesinde meydana gelen azalmadan kaynaklanmaktadır (4,7).

Sunulan çalışmada kontrol grubuna göre radyasyon grubunda bazı araştırmacıların (29,31,33) sonuçları ile uyumlu olarak eritrosit CAT aktivitesinde meydana gelen önemli düzeyde azalma radyasyonun irritasyon etkisine bağlı olarak CAT'ın

inaktivasyonuna neden olmasından (38) ileri gelebilir.

Ayrıca eritrosit SOD aktivitesi yönünden kontrol ve radyasyon grubu kıyaslandığında, radyasyon grubundaki bu enzim aktivitesindeki azalma bazı araştırmacıların (28,29,31-33,35,36) bildirimleri benzer şekilde istatistiksel açıdan önemli bulunması, radyasyonun irritasyon etkisine bağlı olarak oksidatif stres artışının meydana gelmesine ve oluşan  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden süperoksit radikallerini etkisizleştirmek sureti ile hücreleri süperoksit radikalının zararlı etkilerine karşı korunmasına bağlı olabilir (4,7). Bununla birlikte propolis uygulaması sonrası GSH, GSH-Px, CAT ve SOD aktivitelerindeki artışların istatistiksel açıdan önemsiz düzeyde bulunması, uygulamada propolisin yetersiz düzeyde kullanılmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, radyasyon uygulamasının kan lipid peroksidasyon düzeyini arttırdığı, bunun yanında bazı antioksidan düzeylerinin azalttığı saptandı. Propolis ekstraktının uygulaması ile lipid peroksidasyon düzeyinde önemli bir azalma ve antioksidan değerlerde de önemsizde olsa bir artış gözlemlendi. Böylelikle propolisin, canlı organizmada radyasyon ve diğer elektromanyetik etkenlerin oluşturabileceği oksidatif hasara karşı koruyucu ve tedavi edici amaçla uygulanmasının bazı antioksidanların aktivitelerinde artışa yönelik olumlu etkilerinin olduğu düşünülmekte ve kullanılması tavsiye edilmektedir. Bununla birlikte, propolisin antioksidan savunma mekanizması üzerindeki etkisinin tam olarak belirlenebilmesi için, 100 mg'ın üzerindeki dozların kullanılabileceği ileriki çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Eğilmez E., 2009. Tıpta radyasyon ve korunma. Pelikan Yayınları, ISBN 978-605-89142-0-9, Ankara.
2. Sert C., Çelik MS., 1996. Radyasyondan koruyucu ajanlar. Türkiye Klinikleri J of Med Sci, 16, 292-298
3. Gökpınar Ş., Koray T., Akçiçek E., Göksan T.,

- Duramaz Y., 2006. Algal antioksidanlar. *Ege J Fish Aqua Sci*, 23, 85-89.
4. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin MT., Mazur M., Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39, 44-84.
  5. De Zwart LL., Meerman JH., Commandeur JN., Vermeulen NP., 1999. Biomarkers of free radical damage: Applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med*, 26, 202-226.
  6. Mates JM., Perez-Gomez C., Nurez de Castro I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*, 328, 595-603.
  7. Akkuş İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkiler. Mimosya Yayınları, 2. Baskı, Konya.
  8. Dündar Y., Aslan R., 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları, Afyonkarahisar.
  9. Özcan M., Ceylan DA., Unver A., Yetişir R., 2003. Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağlanan polen ve propolis ekstraktlarının antifungal etkisi. *U Bee J*, 3, 27-34.
  10. Menezes H., Bacci-Jr M., Oliveria SD., Pagnocca FC., 1997. Antibacterial properties of propolis and products containing propolis from Brazil. *Apidologie*, 28, 71-76.
  11. Amoros M., Lurton E., Boustie J., Girre L., Sauvager F., Cormier M., 1994. Comparison of the anti-Herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-butyl-2-enyl caffeate. *PNAS*, 7, 644-647.
  12. Isla MI., Moreno MIN., Sampietro AR., Vattuone MA., 2001. Antioxidant activity of Argentina propolis extracts. *J Ethnopharmacol*, 76, 165-170.
  13. Eroğlu HE., Tatlışen A., Özkul Y., 2004. Mesane kanserli doku kültürlerindeki mikronükleus üzerine propolis ve mitomisin-c'nin etkileri. *E Ü Sağlık Bil Derg*, 13, 15-20.
  14. Özalpan A., 2001. Temel Radyobioloji. Haliç Üniversitesi Yayınları, 1. Basım, İstanbul, 1-218.
  15. Orsolio N., Benkovic V., Horvat-Knezevic A., Kopjar N., Kosalec I., Bakmaz M., Mihaljevic Z., Bendelja K., Basic I. 2007. Assessment by survival analysis of the radioprotective properties of propolis and its polyphenolic compounds. *Biol Pharm Bull*, 30, 946-951.
  16. Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S., Knezevic SV., 2004. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharm*, 54, 65-72.
  17. Matkovics B., Szabo I., Varga IS., 1998. Determination of enzyme activities in lipid peroxidation and glutathione pathways (in Hungarian). *Laboratoriumui Diagnos*, 15, 248-249.
  18. Placer ZA., Cushman LL., Johnson BC., 1966. Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Analytica Biochem*, 16, 359-364.
  19. Sedlak J., Lindsay RHC., 1968. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with ellmann's reagent. *Analytical Biochem*, 25, 192-205.
  20. Lawrence RA., Burk RF., 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophysical Res Commun*, 71, 952-958.
  21. Aebi H., 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
  22. Sun Y., Oberley LW., Li Y., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, 497-500.
  23. Gornal AG., Bardawill CJ., David MM., 1975. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem*, 177, 751-766.
  24. Sümbüloğlu K., Sümbüloğlu V., 1995. Biyoistatistik. 6. Baskı, Özdemir Basım Yayım ve Dağıtım LTD Şti., Ankara.
  25. Gençay Ş., 1994. Nükleer elektrik ve çevre. Elektrik enerjisi ve teknolojileri sempozyumu, İstanbul Teknik Üniversitesi Yayınları, İstanbul, Türkiye.
  26. Scheller S., Wilczok T., Imielski S., Krol W., Gabrys J., Shani J., 1990. Free radical scavenging by ethanol extract of propolis. *Int J Radiation Biol*, 57, 461-65.

27. Bolfa P., Vidrighinescu R., Petruta A., Dezmiorean D., Stan L., Vlase L., Damian G., Catoi C., Filip A., Clichici S., 2013. Photo protective effects of Romanian propolis on skin of mice exposed to UVB irradiation. *Food Chem Toxicol*, 62, 329-342.
28. El-Ghazaly MA., Rashed RRA., Khayyal MT., 2011. Anti-ulcerogenic effect of aqueous propolis extract and the influence of radiation exposure. *Int J Radiation Biol*, 87, 1045-1051.
29. Ceyhan AM., Akkaya VB., Guleçol SC., Ceyhan BM., Özgüner F., Chen WC., 2012. Protective effects of beta-glucanaga instoxidative injury induced by 2.45-GHz electromagnetic radiation in the skin tissue of rats. *Arch Dermatol Res*, 304, 521-527.
30. Shirazi A., Mihandoost E., Ghobadi G., Mohseni M., Ghazi-Khansari M., 2013. Evaluation of radioprotective effect of melatonin on whole body irradiation induced liver tissue damage. *Cell J*, 14, 292-297.
31. Dixita AK., Bhatnagara D., Kumarb V., Chawlac D., Fakhruddinc K., Bhatnagara D., 2012. Antioxidant potential and radioprotective effect of soy isoflavone against gamma irradiation induced oxidative stress. *J Func Foods*, 4, 197-206.
32. Jiang ZT., Xu B., Yang MW., Li ZZ., Zhang YB., Jiang DP., 2013. Protection by hydrogen against gamma ray-induced testicular damage in rats". *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 112, 186-191.
33. Mansour HH., Hafez HF., 2012. Protective effect of with aniasomnifera against radiation-induced hepatotoxicity in rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 80, 14-19.
34. Demirel S., Doganay S., Turkoz Y., Dogan Z., Turan B., Firat PGB., 2012. Effects of third generation mobile phone-emitted electromagnetic radiation on oxidative stres parameters in eye tissue and blood of rats. *Cutan Ocul Toxicol*, 31, 89-94.
35. Alkis HE., Kuzhan Dirier A., Tarakcioglu AM., Demir E., Saricicek E., Demir T., Ahlatci A., Demirci A., Cinar K., Taysi S., 2015. Neuroprotective effects of propolis and caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on the radiation-injured brain tissue (Neuroprotective effects of propolis and CAPE). *Int J Radiation Res*, 13, 297-303.
36. Jin LG., Chu JJ., Pang QF., Zhang FZ., Wu G., Le-Yuan Zhou LY., Zhang XJ., Xing CG., 2015. Caffeic acid phenethyl ester attenuates ionize radiation-induced intestinal injury through modulation of oxidative stress, apoptosis and p38MAPK in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*, 40, 156-163.
37. Rejholcova M., Wilhelm J., 1989. Time course of lipolytic activity and lipid peroxidation after whole-body gamma-irradiation of rats. *Radiat Res*, 117, 21-25.
38. Kono Y., Fridovich I., 1982. Superoxide radical inhibits catalase. *J Biol Chem*, 257, 5751-5754.



## *Usnea Longissima Ach.* Liken Türününün Metanol Ekstresinin İn Vitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi\*

Tubanur ASLAN<sup>1</sup>, Fikret ÇELEBİ<sup>1</sup>✉, Emin ŞENGÜL<sup>1</sup>, Volkan GELEN<sup>2</sup>, Ali ÇINAR<sup>1</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received  
27.03.2017

Kabul Tarihi/Accepted  
06.06.2017

Yayın Tarihi/Published  
20.12.2017

**Öz:** Likenler alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan birliklerdir. Likenlerin biyolojik içerikleri ve etkinlikleri üzerine çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bu çalışmada *Usnea longissima Ach.* liken türünden elde edilen metanol ekstresinin *in vitro* sıçan midesinde asit salgısı üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda Sprague-Dawley ırkı 24 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar anestezisi altında ötenazi edildiler. Mide dokusu izole edildi ve serozal solüsyon bulunan petri kabı içinde temizliği yapıldı. Mide içeriğinin boşaltılması işlemi ise mukozal solüsyon ile yapıldı. *Usnea longissima Ach.* metanol ekstresinin mide asit salgısı üzerine beş farklı dozunun (0.012 µg/ml, 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml) etkileri, izole organ banyosunda nöronal (asetilkolin) ve parakrin (histamin) yollarının antagonistlerinin varlığında ve yokluğunda araştırıldı. Sonuç olarak, *Usnea longissima Ach.* ekstraktının farklı dozlarının mide asit sekresyonunu önemli düzeyde artırdığı belirlendi. *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit salgısını artırıcı etkisinin histamin aracılı parakrin yolak üzerinden olduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** ACh, Histamin, Likenler, Mide asit sekresyonu, *Usnea longissima Ach.*

## Effect of Methanol Extract of *Usnea Longissima Ach.* Lichen Species on Gastric Acid Secretion in *In Vitro* Rat Stomach

**Abstract:** Lichens are unity that commonly used in the alternative medicine. There are numerous studies on the biologic contents and activities of lichens. In this study, it has aimed that to investigate the effect of methanol extract obtained from *Usnea longissima Ach* lichen species on acid secretion in *in vitro* rat stomach. Our study were used 24 adult male Sprague-Dawley rats. Rats were euthanized under anesthesia. The stomach tissue was isolated and cleaned in a petri dish containing serosal solution. Emptying stomach contents was done with mucosal solution. The effects of the five different doses (0.012 µg/ml, 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml) of *Usnea longissima Ach.* methanol extract on gastric acid secretion were investigated in the presence and absence of antagonists of neuronal (acetylcholine) and paracrine (histamine) pathways in the isolated organ bath. In conclusion, it was obtained that different doses of *Usnea longissima Ach.* extract increased significantly the gastric acid secretion. It was arrive the opinion that of the gastric acid secretion enhancing effect of *Usnea longissima Ach.*'s is via the histamine mediated paracrine pathway.

**Keywords:** ACh, Gastric acid secretion, Histamine, Lichens, *Usnea longissima Ach.*

✉ Fikret ÇELEBİ

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fiziyojji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
e-posta: fncelebi@atauni.edu.tr

\*Bu makale "*Usnea Longissima Ach.* Liken Türününün Metanol Ekstresinin İn Vitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi" isimli yüksek lisans tezinden hazırlanmıştır.

## GİRİŞ

Likenler mantarlar ile siyanobakterilerden oluşan simbiyotik birliklerdir (1,2). Tüm dünya üzerinde ebat, form ve renk açısından son derece zengin 14.000 civarında liken türü mevcuttur (3). Dünya genelinde tedavi amacıyla kullanılan bitkilerin toplam tür sayısı 15.000 civarındadır. Tedavi amacıyla kullanılan bu bitkiler arasında likenler önemli bir yer tutmaktadır (3-5). 20. yüzyılın ilk yarısına kadar likenlerin çok özel sekonder metabolitleri kimyasal olarak tam aydınlatılmadığından likenlerden tam anlamıyla istifade edilememiştir. Ancak 20. yüzyılın ikinci yarısından itibaren ince tabaka kromatografisi (TLC) yönteminin geliştirilmesiyle birlikte likenlerin yapısında bulunan bazı metabolitlerin aydınlatılmasıyla önemli bir yol kat edilmiştir. Bu sayede protolikesterik asit, pulvinik asit ve türevleri, fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik ve usnik asit gibi yüksek biyolojik aktiviteli bileşikler elde edilmiştir (6-9). Likenlerin insanlardaki toksisitesiyle ilgili az sayıda veri bulunmakla birlikte, kaydedilmiş yan etkileri lokal tahrişler ve bazen konjuktivit ile beraber meydana gelen alerjik deri iltihabı ile sınırlıdır. Duyarlı kişilerde alerjiye neden olan liken asitleri arasında usnik, diffraktaik, lobarik, barbatik, salazinik ve stistik asit gibi birçok asit yer almaktadır (10-12). Farklı liken türlerinden elde edilen pulvinik, fisodik, protolikesterinik, lobarik ve usnik asidin antimikrobiyal etkili olduğu bilinmektedir (6,10,13). Bazı likenlerin sekonder metabolitleri insektisit etkiye sahiptir (14). Likenlerin antibakteriyel ve insektisit etkilerinin yanı sıra antiviral, antiprotozoal, antienflamatuvar, antitümoral, antioksidan, analjezik, antiproliferatif ve antiülserojenik etkilerinin olduğu ifade edilmektedir (3,6,7,10,15). Yapılan bir araştırmada *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının, *in vitro* rat ileum düz kas kontraktilesini inhibe ettiği belirlenmiştir (16). *Usnea longissima Ach.*'nin indometazin ile indüklenen mide ülseri modelinde antiülserojenik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (17). Birçok biyolojik aktivitesinin yanı sıra antiülserojenik etkili olduğu belirlenen *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit

sekresyonu üzerine etkisi ile alakalı literatür bilgiye rastlanılmamıştır. Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada *Usnea longissima Ach.*'nin metanol ekstresinin *in vitro* rat midesinde mide asit sekresyonu üzerine olası etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### *Usnea longissima Ach.* Liken Türünün Temini

Bu araştırmada *Usnea longissima Ach.* liken türü kullanıldı ve liken örnekleri 2013 yılı Haziran-Ağustos aylarında Trabzon ili Maçka ilçesi Güzel Yayla bölgesinden toplandı. Örneklerin teşhisi likenoloji laboratuvarında yapıldıktan sonra yabancı bitkilerden arındırıldı ve daha sonra oda sıcaklığında kurutularak öğütücü yardımı ile toz haline getirildi.

### *Usnea longissima Ach.* Ekstresi ve Total Ekstrenin Elde Edilmesi

Toz haline getirilen liken örneğinden 20 g alındı ve soxhlet cihazında metanol çözeltileri ile ekstraksiyonu yapıldı. Elde edilen ekstreler evapore edilerek bir kapta toplandı ve total ekstre +4°C'ta muhafaza edildi. 0.010 gr liken ekstresi %10'luk 10 mL DMSO'da çözündürülerek kullanıldı (8).

### Kullanılan Deneysel Hayvanları

Bu araştırmanın deneysel çalışmaları Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 20.02.2014 tarih ve 36643897-52 sayılı yazısında belirtilen 254 nolu kararı ile onaylandı. Bu çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen, ortalama 220 gr ağırlığında, Sprague-Dawley cinsi erişkin 24 adet erkek sıçan kullanıldı. Tüm hayvanlar standart bakım ve besleme şartlarına (12 saat aydınlık-12 saat karanlık, % 55-60 nem oranı ve 22 °C oda sıcaklığı, serbest su ve yem alımı) tabi tutuldu. Deneysel çalışmalardan 24 saat önce sıçanların midelerinin boşalması için yem kısıtlaması

uygulandı. Deneyler süresince etik kurallara özen gösterildi.

#### Sıçan Midesinin İzole Organ Preparatı Olarak Hazırlanması

Midenin boşalması için deneysel çalışmalara başlamadan 24 saat önce sıçanlar aç bırakıldı, ancak ad libitum su verildi. Ketamine hidroklorür (75 mg/kg) ve ksilazin (15 mg/kg) ile sedasyon sağlandı. Hayvanlar servikal dislokasyon metodu ile dekapite edildiler. Orta hattan abdomen açıldı ve mide çıkartılarak içinde serozal solüsyon (mM: NaCl 118, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.14, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 15.9, CaCl<sub>2</sub> 0.65 ve glikoz 31.6; pH: 7.00 ) bulunan petri kabına alındı ve midenin çevresinde bulunan yağ ve bağ dokular temizlendi. Daha sonra mide içeriğinin boşaltılması amacıyla mide içi mukozal solüsyon (mM: NaCl 137, KCl 4.8, MgSO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 1.3, glukoz 30, pH: 5) ile yıkandı. Midenin iç ve dış temizliği yapıldıktan sonra 2 mm çapında 2 adet plastik kanül pilorus ve özefagus kısmına bağlandı. Mide lumeni bir peristaltik pompa yardımıyla (Kandol Kangaroo TM 924) özafagal kanülden pilorik kanüle doğru mukozal solüsyon ile dakikada 1 ml hızla perfüze edilerek temizlendi (18-20). Sonrasında mide, içerisinde serozal solüsyon ile dolu olan 20 ml'lik organ banyosuna yerleştirildi ve 37 °C sıcaklığa sahip olan ve %95 O<sub>2</sub> - %5 CO<sub>2</sub> oranında gaz karışımı ile gazlandırılan banyo ortamında 1 saatlik inkübasyon (dinlenme) periyoduna bırakıldı. Her 15 dk'da bir serozal solüsyon ve mide içerisine perfüze edilen mukozal solüsyon yenisi ile değiştirildi.

#### Mide Salgısının Elde Edilmesi

Bir saatlik dinlenme periyodundan sonra herhangi bir kimyasal ajan ile uyarılmamış istirahat halindeki mideden elde edilen mukozal sıvının pH'sı pH metre (1131 Hanna Instruments model) ile ölçülerek bazal pH olarak belirlendi. Daha sonra parakrin (Histamin yolağı) ve nöronal yolak (ACh yolağı) agonistleri ile mide asit sekresyonu uyarılarak pH değeri elde edildi. Sonrasında banyoda parakrin ve nöronal yolakların antagonistleri, sırasıyla, famotidin (10<sup>-6</sup> M) ve atropin (10<sup>-6</sup> M) varlığında Histamin (10<sup>-4</sup> M) ve ACh (10<sup>-6</sup> M) ile mide asit sekresyonu indüklenerek pH değerleri elde edildi. Son olarak banyoda famotidin ve atropin varlığında ve yokluğunda *Usnea longissima Ach.* metanol ektresinin beş farklı dozunun (0.012 µg/ml, 0.12 µg/ml, 1.2 µg/ml, 12 µg/ml, 120 µg/ml) uygulanmasından sonra elde edilen mukozal içeriğin pH değerleri bazal pH ile karşılaştırılarak aşağıda belirtilen formül ile ΔpH'lar hesaplandı. ΔpH kimyasal ajanlar ve/veya *Usnea longissima* ektresinin dozları uygulandıktan sonra elde edilen pH değerlerinin ortalamaları ile bazal pH değerlerinin ortalamaları arasındaki farkı ifade etmektedir (17,18).

$$\Delta p\bar{H} = p\bar{H}_1 - p\bar{H}_0$$

$p\bar{H}_1$  = deneylerden elde edilen ortalama pH değeri

$p\bar{H}_0$  = ortalama bazal pH değeri

Kimyasal ajanlar ve *Usnea longissima Ach.* ektresinin farklı dozlarının serozal ortama uygulanması Tablo 1 ve Tablo 2'de belirlenen protokole göre yapıldı.

**Tablo 1.** Famotidin varlığında ve yokluğunda *Usnea Longissima Ach.*'nin farklı dozlarının mide asit sekresyonu üzerine etkisinin belirlendiği deneysel protokol.

**Table 1.** The experimental protocol which was determined the effect of different doses of *Usnea Longissima Ach.* on gastric acid secretion in the presence and absence of famotidine.

Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	I
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal pH)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	II
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal pH)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	III
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal pH)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa ACh ( $10^{-6}$ M/ml) uygulandı	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Atropin( $10^{-6}$ M/ml)+ ACh( $10^{-6}$ M/ml) uygulandı	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa <i>Usnea longissima Ach.</i> (0.012 µg/ml dozu)	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Atropin( $10^{-6}$ M/ml) + <i>Usnea longissima Ach.</i> (0.012 µg/ml dozu)	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü

\**Usnea longissima Ach.*'nin 0.12, 1.2, 12 ve 120 µg/ml dozları sırayla VI. ve VII. aşamalarda yukarıdaki protokole göre çalışıldı.



**Tablo 2.** Atropin varlığında ve yokluğunda *Usnea Longissima Ach.*'nin farklı dozlarının mide asit sekresyonu üzerine etkisinin belirlendiği deneysel protokol.

**Table 2.** The experimental protocol which was determined the effect of different doses of *Usnea Longissima Ach.* on gastric acid secretion in the presence and absence of atropine.

Zaman	Prosedür	Reaksiyon	Test Döngüsü
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	I
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal ph)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	II
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal ph)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	III
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü (Bazal ph)
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı IV
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Histamin ( $10^{-4}$ M/ml) uygulandı	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı V
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Famotidin ( $10^{-6}$ M/ml) +Histamin ( $10^{-4}$ M/ml) uygulandı	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı VI
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa <i>Usnea longissima Ach.</i> (0.012 µg/ml dozu).	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü
5 dk	2 kez yıkama	Serozal ve mukozal taraf yıkandı	Bu işlem 3 kez yapıldı VII
2 dk	Mide içi infüzyonu	2 ml mukozal solüsyon peristaltik pompa (1 ml/dk) ile mideye verildi.	
	İlaç uygulaması	Serozal tarafa Famotidin ( $10^{-6}$ M/ml) + <i>Usnea longissima Ach.</i> (0.012 µg/ml dozu).	
10 dk	Beklendi		
2 dk	Numune alınması	2 ml mide içeriği toplandı.	pH ölçüldü

\**Usnea longissima Ach.*'nin 0.12, 1.2, 12 ve 120 µg/ml dozları sırayla VI. ve VII. aşamalarda yukarıdaki protokole göre çalışıldı.

### İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 20 istatistik programı kullanılarak

yaşandı. Veriler One Way ANOVA'da Tukey testi ile değerlendirildi. Değerler, ortalama  $\pm$  SD olarak verildi.  $P < 0.05$  değeri anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

**Usnea longissima Ach.'nın Atropin Varlığında ve Yokluğunda Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi**

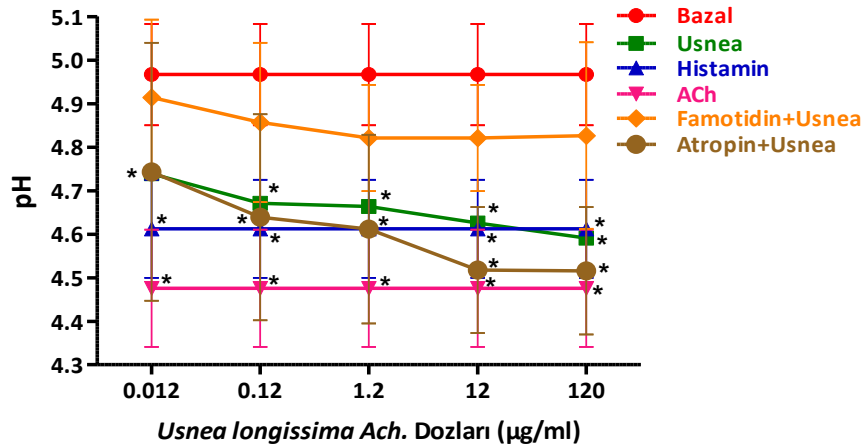
*Usnea longissima Ach.*'nin 0.012 ve 0.12 µg/ml dozunun mide asit salgısını artırmadığı, 1.2, 12 ve 120 µg/ml dozlarının banyoya uygulanması sonrasında elde edilen mukozal içeriğin pH'sı bazal pH ile

karşılaştırıldığında mide asit salgısının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ( $P<0.05$ ,  $n=12$ , Tablo 3 ve Şekil 1, 2). Ayrıca *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının mide asit sekreyonunu artırıcı etkisinin, banyoda atropin varlığında da devam ettiği görüldü ( $P<0.05$ ,  $n=12$ , Tablo 3 ve Şekil 1, 2).

**Tablo 3.** *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının, banyoda atropin varlığında ve yokluğunda mide asit sekresyonu üzerine etkisi. Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.001$ ; bc:  $P<0.01$ ,  $n=12$ ).

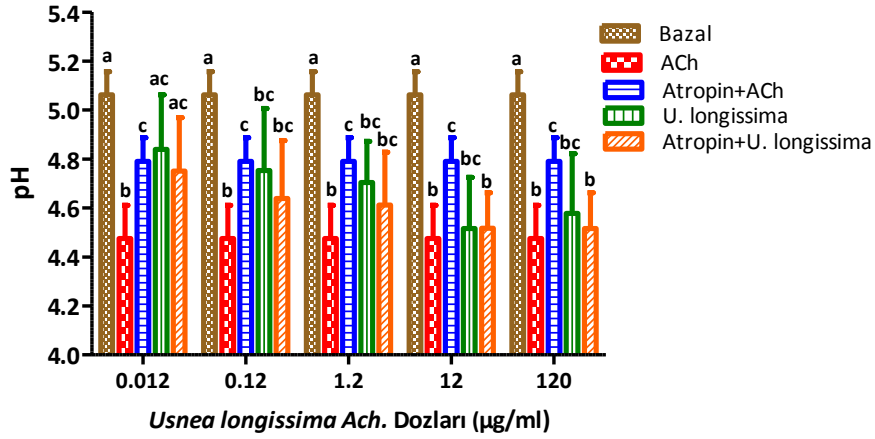
**Table 3.** Effect of different doses of *Usnea longissima Ach.* on the gastric acid secretion in the presence and absence of atropine in the bath. The values indicated by different letters on the same line are statistically different from each other (ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.001$ ; bc:  $P<0.01$ ,  $n=12$ ).

<i>Usnea longissima</i> Dozları		Bazal n=12 $\bar{X}\pm SD$	ACh( $10^{-6}$ ) n=12 $\bar{X}\pm SD$	Atropin( $10^{-6}$ M) +ACh( $10^{-6}$ M) n=12 $\bar{X}\pm SD$	Usnea µg/ml n=12 $\bar{X}\pm SD$	Atropin( $10^{-6}$ M) + Usnea µg/ml n=12 $\bar{X}\pm SD$
0.012µg/ml	pH	5.06±0.09 <sup>a</sup>	4.47±0.13 <sup>b</sup>	4.79±0.09 <sup>c</sup>	4.8±0.29 <sup>ac</sup>	4.74±0.29 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.58±0.19	-0.27±0.15	-0.26±0.27	-0.32±0.28
0.12µg/ml	pH	5.06±0.09 <sup>a</sup>	4.47±0.13 <sup>b</sup>	4.8±0.29 <sup>c</sup>	4.71±0.36 <sup>ac</sup>	4.63±0.23 <sup>bc</sup>
	ΔpH	0	-0.58±0.19	-0.27±0.15	-0.34±0.31	-0.41±0.22
1.2µg/ml	pH	5.06±0.09 <sup>a</sup>	4.47±0.13 <sup>b</sup>	4.8±0.29 <sup>c</sup>	4.70±0.32 <sup>bc</sup>	4.61±0.21 <sup>bc</sup>
	ΔpH	0	-0.58±0.19	-0.27±0.15	-0.35±0.29	-0.45±0.23
12µg/ml	pH	5.06±0.09 <sup>a</sup>	4.47±0.13 <sup>b</sup>	4.8±0.29 <sup>c</sup>	4.51±0.20 <sup>bc</sup>	4.51±0.14 <sup>b</sup>
	ΔpH	0	-0.58±0.19	-0.27±0.15	-0.54±0.19	-0.56±0.18
120µg/ml	pH	5.06±0.09 <sup>a</sup>	4.47±0.13 <sup>b</sup>	4.79±0.29 <sup>c</sup>	4.57±0.24 <sup>bc</sup>	4.51±0.14 <sup>b</sup>
	ΔpH	0	-0.58±0.19	-0.27±0.15	-0.39±0.36	-0.45±0.32



**Şekil 1.** *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının, banyoda famotidin ve atropin varlığında ve yokluğunda mide asit sekresyonu üzerine etkisi ( $*P<0.05$ ,  $n=12$ ).

**Figure 1.** Effect of different doses of *Usnea longissima Ach.* on the gastric acid secretion in the presence and absence of famotidine and atropine in the bath ( $*P<0.05$ ,  $n=12$ ).



**Şekil 2.** Bazal pH ve banyoda atropin varlığında ve yokluğunda ACh ( $10^{-6}$  M) ve *Usnea longissima* Ach.'nin farklı dozlarının uygulanması sonucunda elde edilen mide içeriği pH değerleri (Aynı harflerle ifade edilen sütunlar arasında istatistiksel farklılık yoktur, ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.001$ ; bc:  $P<0.01$ ).

**Figure 2.** Basal pH and obtained stomach contents pH values as a result of application of different doses of ACh ( $10^{-6}$  M) and *Usnea longissima* Ach. in the absence and presence of atropine in the bath (There are no statistical differences between columns expressed with same letters, ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.001$ ; bc:  $P<0.01$ ).

#### *Usnea longissima* Ach.'nin Famotidin Varlığında ve Yokluğunda Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi

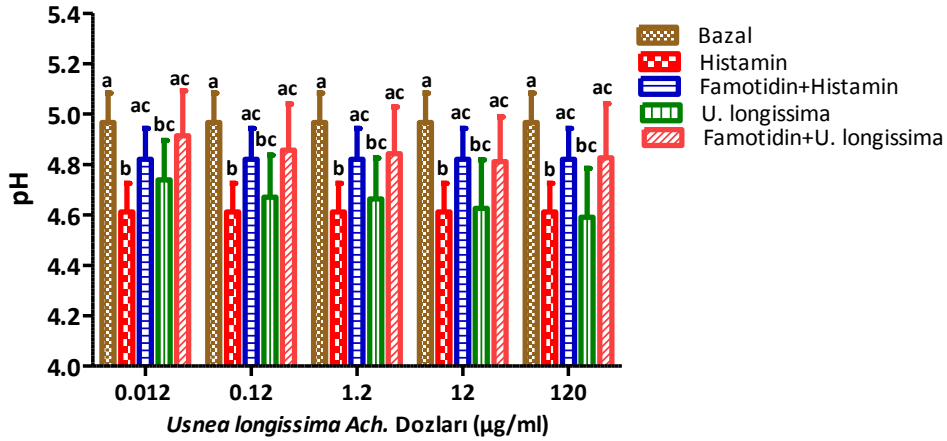
*Usnea longissima* Ach.'nin beş farklı dozunun (0.012, 0.12, 1.2, 12 ve 120 µg/ml) banyoya uygulanması sonrasında elde edilen mukozal içeriğin pH'sı bazal pH ile karşılaştırıldığında mide asit

salgısının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi ( $P<0.05$ ,  $n=12$ , Tablo 4 ve Şekil 1, 3). Banyoda famotidin varlığında, *Usnea longissima* Ach.'nin farklı dozlarının mide asit sekresyonunu artırmadığı belirlendi ( $P>0.05$ ,  $n=12$ , Tablo 4 ve Şekil 1, 3).

**Tablo 4.** *Usnea longissima* Ach.'nin farklı dozlarının, banyoda famotidin varlığında ve yokluğunda mide asit sekresyonu üzerine etkisi. Aynı satırda farklı harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.01$ ,  $n=12$ ).

**Table 4.** Effect of different doses of *Usnea longissima* Ach. on the gastric acid secretion in the presence and absence of famotidine in the bath. The values indicated by different letters on the same line are statistically different from each other (ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.01$ ,  $n=12$ ).

<i>Usnea longissima</i> Dozları		Bazal n=12 $\bar{X}\pm SD$	Histamin( $10^{-4}$ ) n=12 $\bar{X}\pm SD$	Famotidin( $10^{-6}$ M)+Histamin( $10^{-4}$ M)	Usnea µg/ml n=12 $\bar{X}\pm SD$	Famotidin( $10^{-6}$ M)+Usnea µg/ml
				n=12 $\bar{X}\pm SD$		n=12 $\bar{X}\pm SD$
0.012µg/ml	pH	4.96±0.11 <sup>a</sup>	4.61±0.11 <sup>b</sup>	4.82±0.12 <sup>a ac</sup>	4.73±0.15 <sup>bc</sup>	4.91±0.17 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.35±0.08	-0.17 ±0.09	-0.23±0.11	-0.05±0.01
0.12µg/ml	pH	4.96±0.11 <sup>a</sup>	4.61±0.11 <sup>b</sup>	4.82±0.12 <sup>ac</sup>	4.67±0.16 <sup>bc</sup>	4.85±0.18 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.35±0.08	-0.17±0.09	-0.29±0.1	-0.11±0.05
1.2µg/ml	pH	4.96±0.11 <sup>a</sup>	4.61±0.11 <sup>b</sup>	4.82±0.12 <sup>ac</sup>	4.66±0.16 <sup>bc</sup>	4.84±0.18 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.35±0.08	-0.17±0.09	-0.30±0.09	-0.12±0.04
12µg/ml	pH	4.96±0.11 <sup>a</sup>	4.61±0.11 <sup>b</sup>	4.82±0.12 <sup>ac</sup>	4.62±0.19 <sup>bc</sup>	4.81±0.17 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.35±0.08	-0.17±0.09	-0.34±0.12	-0.15±0.04
120µg/ml	pH	4.96±0.11 <sup>a</sup>	4.61 ± 0.11 <sup>b</sup>	4.82±0.12 <sup>ac</sup>	4.59 ± 0.19 <sup>bc</sup>	4.82 ± 0.21 <sup>ac</sup>
	ΔpH	0	-0.35±0.08	-0.17 ±0.09	-0.37±0.08	-0.14±0.05



**Şekil 3.** Bazal pH ve banyoda famotidin varlığında ve yokluğunda histamin ( $10^{-4}$  M) ve *Usnea longissima* Ach.'nın farklı dozlarının uygulanması sonucunda elde edilen mide içeriği pH değerleri (Aynı harflerle ifade edilen sütunlar arasında istatistiksel farklılık yoktur, ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.01$ ).

**Figure 3.** Basal pH and obtained stomach contents pH values as a result of application of different doses of Histamine ( $10^{-4}$  M) and *Usnea longissima* Ach. in the absence and presence of atropine in the bath (There are no statistical differences between columns expressed with same letters, ab:  $P<0.0001$ ; ac:  $P<0.01$ ).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Antiinflammatuar, anti-ülserojenik ve antioksidan etkileri olan *Usnea longissima* Ach., çeşitli biyolojik aktivitelere sahip birçok bileşik ihtiva etmektedir. Bu bileşiklerin en önemlilerinden birisi olan usnik asitin organizmada farklı etkilerinin yanı sıra gastrik asit sekresyonunu etkilediği belirlenmiştir (21). *Usnea longissima* Ach.'dan elde edilen metanol ekstresi, insan lökosit hücrelerinde aflatoksin B1'in neden olduğu SOD ve GPx enzimlerinin aktivitelerindeki azalmayı ve lipid peroksidasyonundaki artışı anlamlı düzeyde engellemiştir (22). *Usnea longissima* Ach.'nın metanol ekstresinin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalar ile rapor edilmiştir (23). Halıcı ve ark. (17) *Usnea longissima*'nın sulu ekstraktının indometazin ile indüklenen mide ülseri üzerine protektif etkiye sahip olduğunu belirlemiştir. Farklı bir çalışmada ise sıçanlarda indometazin ile oluşturulan mide ülseri modelinde *Usnea longissima* Ach.'dan izole edilen usnik asidin gastroprotektif etkili olduğu rapor edilmiştir (24). *Usnea longissima* Ach.'nın sulu ekstraktının ve bazı

bileşiklerinin mide ülser modellerinde protektif etkinliği belirlenmesine rağmen, *Usnea longissima* Ach.'nın metanol ekstresinin *in vitro* mide asit sekresyonu üzerine etkileriyle alakalı araştırmaya rastlanılmamıştır. Yaptığımız çalışmada, izole edilmiş rat midesinde ortamda parakrin yolak antagonisti olan famotidin ve nöronal yolak antagonisti olan atropin varlığında ve yokluğunda *Usnea longissima* Ach. metanol ekstresinin beş farklı dozunun mide asit sekresyonu üzerine etkileri ayrı ayrı araştırılmıştır. Mide mukozasında bulunan parietal hücrelerin uyarılması ile salgılanan mide asit salgısı, üç farklı yolağın idare edilmektedir. Bu yolağın; parakrin uyarılma olarak bilinen histamin yolağı, nöronal uyarılma denilen ACh yolağı ve hormonal uyarılma diye bilinen gastrin yolağıdır (25-28).

Histamin midenin mukozal yüzeyinde bulunan enterokromafin (ECL) hücrelerinden salgılanır (29) ve parietal hücreler üzerinde bulunan  $H_2$  reseptörlerine bağlanarak bu hücrelerde adenilat siklazın aktivasyonuna neden olur (30). Adenilat siklaz enziminin aktivasyonu ile siklik adenosin monofosfat (cAMP) oluşumu artar. Artan cAMP,

parietal hücre ile kanalikuli arasında  $H^+$  ve  $K^+$  iyonlarının taşınımını sağlayan proton pompasının aktivasyonuna neden olur. Bu pompanın aktive olması ile parietal hücrelerden kanalikuliye yüksek konsantrasyonda salınan  $H^+$  kanalikulide bulunan  $Cl^-$  ile birleşir ve HCl oluşur (25,31-34). Çalışmamızda *Usnea longissima Ach.* metanol ekstresinin farklı dozlarının mide asit sekresyonunu artırdığı belirlendi. Ancak banyo ortamında  $H_2$  reseptör antagonisti olan famotidin varlığında *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit sekresyonunu etkilemediği görüldü ve *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit sekresyonunu artırıcı etkisinin parakrin yolak üzerinden olduğu düşünüldü.

Mide asit sekresyonunu uyarıcı bir diğer ajan olan ACh, pariyetal hücreler üzerinde bulunan muskarinik  $M_3$  reseptörlerine bağlanarak asit salgısını direkt olarak uyarır. Asit salgısının nörojenik ( $M_3$  muskarinik) yoldan uyarılması, intrasellüler kalsiyum salınımına ve inozitol trifosfat (IP3) üretimiyle fozfolipaz C aktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda proton pompası aktive olur ve parietal hücrelerden kanalikuliye yüksek konsantrasyonda  $H^+$  salınması sonucunda HCl oluşur (25,31,34-36). *Usnea longissima Ach.*'nin çeşitli dozlarının mide asit salgısı artırdığını belirlediğimiz araştırmamızda banyo ortamında  $M_3$  reseptör antagonisti olan atropin varlığında *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit salgısı üzerine etkisini değerlendirdik. Bu durumda *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit sekresyonunu uyardığı ve ortamda atropin varlığının *Usnea longissima Ach.*'nin etkinliğini önleyemediği belirlendi. Böylece *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit sekresyonunu uyarıcı etkisinin nöronal yolak üzerinden olmadığı düşünüldü.

Parietal hücrelerden salınan HCl salgısının uyarılmasında söz konusu olan üçüncü yolak ise hormonal yolak olarak ifade edilmektedir. Midede ve Gastrointestinal kanalın diğer bölümlerinden bulunan G hücreleri (Gastrin Hormonu Üreten hücreler) tarafından üretilen Gastrin hormonu gerek parietal hücre üzerinde bulunduğu ifade edilen  $CCK_2$  reseptörlerini direkt uyararak ve gerekse ECL

hücreleri üzerinde bulunan  $CCK_2$  reseptörlerini uyarıp histamin salınımına yol açmaktadır (28,37). Histaminin ise parakrin olarak parietal hücre üzerinde bulunan  $H_2$  reseptörlerini uyararak parietal hücrelerden asit salınımını uyarmaktadır (31). Gastrin endokrin mekanizmalar üzerinden mide asit salgısında etkili olduğu için in vitro sistemde bu mekanizmanın etkinliği ihmal edilebilir sayılmıştır. Bu nedenle çalışmada endokrin yolak üzerinde herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

Sonuç olarak, *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının mide asit sekresyonunu uyardığı, bu etkinin Histamin yolağı ( $H_2$  reseptörü) üzerinden gerçekleştiği belirlendi. Bulgularımız doğrultusunda *Usnea longissima Ach.*'nin mide ülseri modelinde protektif etkisinin mide asit sekresyonunun inhibisyonuyla olamayacağı, *Usnea longissima Ach.*'nin antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklanan bir etkinliğin sonucu olabileceği düşünülebilir. *Usnea longissima Ach.*'nin mide asit salgısını uyardığı sonuçları göz önünde bulundurulduğunda, mide ülserinin tedavisine *Usnea longissima Ach.*'nin katkısını mide asit salgısını uyarıcı etkisi ile beraber değerlendirmek gerekmektedir. Ayrıca *Usnea longissima Ach.*'nin farklı dozlarının mide asit sekresyonunu uyarıcı etkisinin, hormonal yolak olarak bilinen gastrin yolağı üzerinden olup olmadığı farklı bir çalışma ile araştırılabilir.

#### KAYNAKLAR

1. Aslan A., 1992. Oltu (Erzurum) yöresine ait liken florası üzerine araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
2. Öztürk A., Aslan A., 1991. Likenlerin ekonomik özellikleri ve Kuzeydoğu Anadolu'dan bazı liken türleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 2, 27-42.
3. Öztürk A., Aslan A., 1991. Likenlerin ekonomik özellikleri ve Kuzeydoğu Anadolu'dan bazı liken türleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi, 2, 27-42.
4. Nash I., Thomas H., 1996. Lichen biology. 2th ed., Cambridge University Press, UK.

5. Aslan A., 2000. Lichens from the regions of Artvin, Erzurum, and Kars (Turkey). *Isr J Plant Sci*, 48, 143-155.
6. Culberson CF., 1969. Chemical and botanical guide to lichen products. 1st ed., The University of North Carolina Press, North Carolina.
7. Aslan A., Güllüce M., Öğütçü H., 1999. Bazı likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bir araştırma. *Biyoteknoloji Dergisi*, 22, 19-26.
8. Açar G., Güllüce M., Aslan A., Bozaru S., Karadayı M., Orhan F., 2010. Mutation preventive and antigenotoxic potential of methanol extracts of two natural lichen. *JMPR*, 4, 2132-2137.
9. Kotan E., Alpsoy L., Anar M., Aslan A., Açar G., 2011. Protective role of methanol extract of *Cetraria islandica* (L.) against oxidative stress and genotoxic effects of AFB(1) in human lymphocytes in vitro. *Toxicol Ind Health*, 27, 599-605.
10. Ingólfssdóttir K., 2002. Molecules of interest: usnic acid. *Phytochemistry*, 61, 729- 736.
11. Evans FJ., Schmidt RJ., 1980. Plants and plant products that induce contact dermatitis. *Planta Med*, 38, 289.
12. Schwarz K., Bertelsen G., Nissen LR., Gardner PT., Heinonen M., 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur Food Res Technol*, 212, 319-328.
13. Gücin F., Dülger B., Aslan A., 1997. *Pseudoevernia furfuracea* (L.) Zopf. likeninin antimikrobiyal aktivitesi. *Ekoloji-Çevre Dergisi*, 7, 22-24.
14. Emsen B., Yildirim E., Aslan A., Anar M., Ercisli S., 2012. Insecticidal effect of the extracts of *Cladonia foliacea* (Huds.) Willd. and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale against adults of the Grain weevil, *Staphilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Egypt J Biol Pest Co*, 22, 145-149.
15. Boustie J., Grube M., 2005. Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genet Resour*, 3, 273-287.
16. Atasever A., Çınar A., Gelen V., Şengül E., Çelebi F., 2016. Investigation the Effects of Lichen's Total Extract Produced From *Usnea Longissima* Ach. on Motility of Rat Ileum In Vitro. *Van Vet J*, 27, 129-133.
17. Halıcı M., Odabaşoğlu F., Süleyman H., Çakır A., Aslan A., Bayır Y., 2005. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 12, 656-662.
18. Topal A., Çelebi F., 2011. Effects of *nigella sativa* aqueous extracts on gastric acid secretion in isolated rat stomach. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 531-536.
19. Topal A., Çelebi F., 2011. Hiperisin'in izole edilmiş siçan midesinde mide asit sekresyonu üzerine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 6, 201-208.
20. Gelen V., Çelebi F., Şengül E., Çınar A., 2017. The effect of *Rosmarinus officinalis* L. aqueous extract on gastric acid secretion in isolated rats stomach. *Van Vet J*, 28, 95-99.
21. Halıcı MB., 2007. Bazı Likenlerden izole edilen maddelerin siçanlarda indometazin ile oluşturulan ülser modelinde antiülserojen mekanizmalarının araştırılması. *Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum*.
22. Açar G., Aslan A., Sarıoğlu EK., Alpsoy L., Çeker S., 2011. Protective activity of the methanol extract of *Usnea longissima* against oxidative damage and genotoxicity caused by aflatoxin B(1) in vitro. *Turk J Med Sci*, 41, 1043-1049.
23. Odabaşoğlu F., Aslan A., Çakır A., Süleyman H., Karagöz Y., Halıcı M., Bayır Y., 2004. Comparison of antioxidant activity and phenolic content of three lichen species. *Phytother Res*, 18, 938-941.
24. Odabaşoğlu F., Çakır A., Süleyman H., Aslan A., Bayır Y., Halıcı M., Kazaz C., 2006. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic

- acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*, 103, 59-65.
25. Topal A., 2011. Bazı Kantaron bileşiklerinin mide üzerine etkisi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
26. Waldum HL., Kleveland PM., Fossmark R., 2015. Upper gastrointestinal physiology and diseases. *Scand J Gastroenterol*, 50, 649-656.
27. Waldum HL., Hauso O., Brenna E., Qvigstad G., Fossmark R., 2016. Does long-term profound inhibition of gastric acid secretion increase the risk of ECL cell-derived tumors in man? *Scand J Gastroenterol*, 51, 767-773.
28. Rasanen T., 2016. Some aspects of the humoral mechanism of gastric secretion. *Gastric Secretion: Mechanism and Control*. 1st ed., 255, Pergamon Press, London.
29. Engelstoft MS., Lund ML., Grunddal KV., Egerod KL., Lawrence SO., Poulsen SS., Zigman JM., Schwartz TE., 2015. Research resource: a chromogranin A reporter for serotonin and histamine secreting enteroendocrine cells. *Mol Endocrinol*, 29, 1658-1671.
30. Abdul-Hussein M., Freeman J., Castell D., 2015. Concomitant administration of a histamine<sub>2</sub> receptor antagonist and proton pump inhibitor enhances gastric acid suppression. *Pharmacotherapy*, 35, 1124-1129.
31. Phan J., Benhammou JN., Pisegna JR., 2015. Gastric hypersecretory states: investigation and management. *Curr Treat Options Gastroenterol*, 13, 386-397.
32. Panula P., Chazot PL., Cowart M, Gutzmer R., Leurs R., Liu WLS., Stark H., Thurmond RL., Haas HL., 2015. International union of basic and clinical pharmacology. XCVIII. Histamine receptors. *Pharmacol Rev*, 67, 601-655.
33. Jiang H., Wang W., Zhang Y., Yao WW., Jiang J., Qin B., Yao WY., Liu F., Wu H., Ward TL., Chen CW., Liu L., Ding X., Liu X., Yao X., 2015. Cell polarity kinase MST4 cooperates with cAMP-dependent kinase to orchestrate histamine-stimulated acid secretion in gastric parietal cells. *J Biol Chem*, 47, 28272-28285.
34. Altamirano M., 2016. Backdiffusion of H<sup>+</sup> during gastric secretion. *AJP Legacy Content*, 218, 1-6.
35. Schubert ML., 2016. Gastric acid secretion. *Curr Opin Gastroenterol*, 32, 452-460.
36. Hunt RH, Camilleri M, Crowe SE, El-Omar EM., Fox JG., Kuipers EJ., Malfertheiner P., McColl KEL., Pritchard DM., Rugge M., Sonnenberg A., Sugano K., Tack J., 2015. The stomach in health and disease. *Gut*, 10, 1650-1668.
37. Hayakawa Y, Jin G, Wang H, Chen X., Westphalen CB., Asfaha S., Renz BW., Ariyama H., Dubeykovskaya ZA., Takemoto Y., Lee Y., Muley A., Tailor Y., Chen D., Muthupalani S., Fox JG., Shulkes A., Worthley DL., Takaishi S., Wang TC., 2014. CCK2R identifies and regulates gastric antral stem cell states and carcinogenesis. *Gut*, 64, 544-553.







## Burdur Yöresindeki Gastroenteritisli Köpeklerde Canine Parvovirus Enfeksiyonunun Virolojik Araştırılması

Mehmet KALE<sup>1</sup>, Yakup YILDIRIM<sup>1</sup>✉, Oğuzhan AVCI<sup>2</sup>, Şima ŞAHİNDURAN<sup>3</sup>, Sibel HASIRCIOĞLU<sup>1</sup>, Hasbi Sait SALTIK<sup>1</sup>, Necmettin Sarp SEVGİSUNAR<sup>3</sup>

1. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.
2. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
3. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Burdur, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.12.2016	03.07.2017	20.12.2017

**Öz:** Bu çalışmada Burdur yöresinde yavru köpeklerde dehidrasyon, şiddetli hemorajik ishal, kusma, myokarditis ve yüksek ateşle seyreden canine parvovirus (CPV) enfeksiyonu virolojik olarak araştırıldı. Bu amaçla sahipli veya Burdur Belediyesi hayvan barınağında bulunan yaşları 1-11 ay arasında değişen farklı ırk ve cinsiyette, söz konusu enfeksiyona karşı daha önce aşılanmamış ishal, ateş ve halsizlik gibi farklı klinik semptomlar gösteren 117 adet köpek yavrusundan dışkı örneği toplandı. Örneklerin double antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) yöntemi kullanılarak değerlendirilmesi sonucunda, %3.42'sinde (4/117) canine parvovirus antijeni tespit edildi. Antijen pozitiflik oranlarının cinsiyete göre dağılımı ise erkeklerde sırası ile %8.82 (3/34), %1.20 (1/83) bulundu. Bu araştırma, Burdur yöresinde CPV enfeksiyonunun prevalansını düşük düzeyde de olsa ortaya koymuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Canine parvovirus, DAS-ELISA, Köpek.

## Virological Investigation of Canine Parvovirus Infection in Dogs with Gastroenteritis in Burdur District

**Abstract:** In this study, a virological investigation was performed Burdur district on canine parvovirus (CPV) infection progressing with dehydration, severe hemorrhagic enteritis, vomiting and high fever. For this purpose, feces samples were collected from 117 puppies that are owned or kept in Burdur animal shelter, having different race and gender aged between 1-11 months old and not vaccinated against the so-called infection. As a result of the evaluation of the samples using double antibody sandwich ELISA (DAS-ELISA) method, canine parvovirus antigen was detected in 3.42 % (4/117). Distribution of antigen positivity rates according to gender were found as 8.82 % (3/34), 1.20 % (1/83) respectively for males and females. This study proved the prevalence of CPV infection in the least around Burdur district.

**Keywords:** Canine parvovirus, DAS-ELISA, Dog.

## GİRİŞ

Dünyada köpeklerin en önemli enfeksiyöz etkenlerinden birisi olarak kabul edilen canine parvovirus (CPV), ilk olarak 1978 yılında tanımlanmıştır. Daha sonraki yıllarda birçok ülkede (1-4) ve Türkiye’de de hastalığın görüldüğü bildirilmiştir (5-7). Zarsız ve tek iplikcikli DNA taşıyan etken *Parvoviridae* familyasının *Parvovirus* genusu içinde yer alır ve feline panleukopenia virus ile antijenik yakınlığı vardır (8-10).

Yavru köpeklerde ve bir yaşından küçük genç köpeklerde, yetişkinler ile kıyaslandığında çok daha şiddetli seyreden enfeksiyonda ateş, ishal, kusma, şiddetli dehidrasyon ve non-suppuratif myokarditis başlıca görülen klinik belirtilerdir. Özellikle yavrualarda ilk 24 saat içerisinde şekillenen kusma ve enteritis nedeniyle oluşan sıvı kayıpları sonucu hastalığın prognozu olumsuz yönde ilerler (8-11). CPV enfeksiyonunun teşhisi klinik bulgulara dayanılarak konulabilse de, kesin teşhisin özellikle köpek yavrualarında kanlı ishalle seyreden diğer enfeksiyonlardan ayırt edilmesi açısından laboratuvar bulguları ile doğrulanması gerekir.

Bu çalışmada, Burdur yöresindeki köpeklerde CPV’nin varlığının belirlenmesi ve bir yaşın altındaki hayvanlarda özellikle yaşamlarının hangi döneminde enfeksiyon etkenine daha çok maruz kaldıkları konusunda bilgi edinilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Örneklenen Hayvanlar

Burdur yöresinde, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Kliniklerine getirilen sahipli (n=20) ve Burdur Belediyesi hayvan barınağında bulunan (n=97) yaşları 1-11 ay arasında değişen farklı ırk ve cinsiyette, söz konusu enfeksiyona karşı aşılanmamış (bu bilgi hayvan sahibi ve barınaktaki sorumlu veteriner hekiminden alındı) 117 adet köpek yavrusundan dışkı örneği toplandı. Örneklemeler 2016 yılının ilkbahar ve yaz mevsiminde yapıldı. Örnekler 6 tanesi Kangal, 110 tanesi melez ve 1 tanesi de Rottweiler ırkı hayvanlardan toplandı (Tablo 1). Numunelerin

alındığı hayvanlarda hafiften şiddetliye kadar varan farklı derecelerde ishal tablosu, ateş, isteksizlik ve halsizlik gibi klinik semptomlar vardı. Klinik muayenelerini takiben alınan dışkı örnekleri test aşamasına kadar -20°C’lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

**Tablo 1.** Örneklenen köpek yavrularının ırk ve cinsiyet dağılımı.

**Table 1.** The distribution of sampled puppies according to breed and gender.

İrk	Dişi	Erkek	Toplam
Kangal	1	5	6
Rottweiler	1	-	1
Melez	81	29	110
Toplam	83	34	117

### Double Antibody Sandwich ELISA (DAS-ELISA)

Dışkı örneklerinde canine parvovirus antijenlerinin tespiti amacıyla ticari DAS-ELISA kiti (Agrolabo, İtalya, Kat. No: 27224032) kullanıldı. Test, üretici firmanın bildirdiği prosedüre göre yapıldı ve sonucu spektrofotometrik olarak 405 nm absorbansta okunmak suretiyle değerlendirildi.

### İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS Windows 21.0 programı (12) kullanılarak analiz edildi. Sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar ile dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen antijen pozitiflik oranları arasında ilişkinin anlamlılığını belirlemek için ki-kare ( $\chi^2$ ) testi uygulandı ve  $P<0.05$  çıkan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Benzer şekilde 6 aydan küçük köpekler 1-2 ay yaş, 3-4 ay yaş ve 5-6 ay yaş gruplarına ayrılarak CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile değerlendirildi.

### BULGULAR

DAS-ELISA testi sonucunda 117 adet köpek yavrusuna ait dışkı örneğinin 4 adedinde (%3.42) CPV antijeni tespit edildi. Bu çalışmada CPV prevalansı

erkeklerde %8.82 (3/34), dişilerde ise %1.20 (1/83) düzeylerinde saptanmıştır. CPV antijen varlığı tespit edilen 4 adet köpeğin; 2 adedinin (1 melez-erkek, 1 Kangal-dişi) 2.5 aylık, 1 adedinin (Kangal-erkek) 3.5 aylık, diğer 1 adedinin de (Kangal-erkek) 4 aylık

oldukları belirlendi (Tablo 2). Sahipli ve barınak köpeklerindeki pozitif oranların dağılımının ise sırasıyla %5 (1/20) ve %3.09 (3/97) olduğu tespit edildi.

**Tablo 2.** Antijen (Ag) pozitifliğin yaş gruplarına göre dağılımı.

**Table 2.** The distribution of antigen (Ag) positivity according to age groups.

Yaş	1 ay	1.5 ay	2 ay	2.5 ay	3 ay	3.5 ay	4 ay	4.5 ay	5 ay	5.5 ay	6 ay	6.5 ay	7 ay	8 ay	10 ay	11 ay
Hayvan sayısı	4	2	15	5	18	1	23	1	20	1	12	1	7	5	1	1
CPV Ag pozitif sayısı	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitiflik değerlerindeki farklılık ile 6 aydan küçük köpeklerin 1-2 ay yaş, 3-4 ay yaş ve 5-6 ay yaş gruplarında belirlenen CPV antijen pozitif değerlerindeki farklılıklar yapılan istatistiksel analizler sonucunda anlamlı bulunmazken ( $P>0.05$ ), dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen antijen pozitiflik oranlarındaki farklılıkların anlamlı ( $P<0.05$ ) olduğu saptandı.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

CPV hızlı mutasyon yeteneğinden dolayı köpek popülasyonları içerisinde hızlı bir yayılım gösterir (13). Virusun ilk tespitinden günümüze kadar gelen süreçte orijinal yapısının tamamen değiştiği ve hala değişmeye devam ettiği yapılan moleküler çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu durum enfeksiyonun epidemiyolojisi bakımından oldukça önemli bir özelliktir (4,13).

Dünyada birçok farklı ülkede CPV enfeksiyonu ile ilgili yapılmış çalışmalar mevcuttur. Hindistan'da Behera ve ark., (14) tarafından polimeraz zincir reaksiyon (PZR) yöntemini kullanarak yapılan çalışmada köpeklerde CPV oranını %40.85 (29/71) olarak tespit edilmiştir. Bu pozitifliğin yaş gruplarına göre dağılımı ise 1-3 aylık yavrularda %27.59, 3-6 aylık yavrularda %41.37, 6-12 aylıklarda %27.59 ve 12 ay yaştan büyüklerde de %3.45 olarak bildirilmiştir.

Aynı çalışmada pozitif örneklerin cinsiyete göre dağılımı ise erkeklerde %86.21, dişilerde 13.79 olarak belirlenmiştir. Tayland'da yapılan bir araştırmada (1) gastroenteritis klinik semptomu gösteren köpeklerde CPV2 varlığı %62.8 (44/70) oranında bulunmuştur. Bu çalışmada pozitif tespit edilen hayvanların 23'ünün erkek, 18'inin dişi ve 3'ünde cinsiyet bilgi kayıtlarının olmadığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada enfeksiyonun 3-6 aylık köpek yavrularında daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Portekiz'de Miranda ve ark., (4) tarafından evcil köpeklerden toplanan dışkı örneklerinde %76.15 (198/260) CPV pozitifliğini belirlenmiştir. Aynı çalışmada CPV varyantlarının dağılımı ise %51.5 CPV2c, %47.5 CPV2b ve %1 CPV2a olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma, Portekiz CPV izolatlarının diğer Avrupa izolatlarına benzerliğini ortaya koymuştur. Decaro ve ark., (15) Avrupa ülkelerinde CPV2c varyantının yaygın olduğunu rapor etmişlerdir. Filipov ve ark., (2) tarafından, Bulgaristan'da parvovirus enfeksiyonu klinik bulguları gösteren 42 adet köpekten toplanan dışkı örneklerinden 40 tanesinde CPV varlığı belirlenmiştir. Castro ve ark., da (16) Brezilya'da yaptıkları araştırmada, yedi aylıktan küçük 341 adet gastroenteritisli köpek yavrularından topladıkları dışkı numunelerinde %46 (157/341) oranında CPV pozitifliği belirlemişler ancak araştırmacılar, pozitif hayvanların cinsiyet ve yaşları arasında bir korelasyon

tespit edememişlerdir. Kanada'da ise CPV enfeksiyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada (3) CPV2b biyotipinin oldukça yaygın olarak bulunduğu ifade edilmiştir.

Ülkemizde CPV'nin ilk bildirimini Berkin ve ark., (5) yapmıştır. Daha sonraki yıllarda, Özkul ve ark., (6) tarafından polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve RFLP teknikleri ile yapılan moleküler çalışmada ilk kez ülkemizdeki virus suşlarının farklılığı ortaya konulmuştur. Yılmaz ve ark., (7) 60 enteritisli köpek dışkısından izole edilen 21 (%35) adet CPV2 izolatının antijenik karakterizasyonunu yapmış ve bunların 9 tanesinin CPV2a, 7 tanesinin de CPV2b olduğunu rapor etmişlerdir. Timurkan ve Oğuzoğlu (17) ise parvovirus enfeksiyonu klinik bulguları gösteren 65 adet köpekten topladıkları numunelerin 25 (%38.4) tanesinde CPV varlığını belirlemişler ve bu pozitif örnekler yaptıkları sekans analizleri sonucunda da %68 (17/25) CPV2a, %32 (8/25) CPV2b suşunun yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Yeşilbağ ve ark., (18) ishali köpek yavrularında CPV-2 varlığını %35.5 olarak tespit etmişler ve yaptıkları karakterizasyon çalışmasında CPV2a oranını %62.9, CPV2b oranını ise %37.1 olarak belirlemişlerdir. Tunca ve Toplu (19) da klinik olarak parvovirus enfeksiyon tanısı konan ve tedaviye yanıt vermeyerek ölen 5 ay yaşta küçük 10 adet köpek yavrusundan aldıkları doku örneklerinde immunohistokimyasal olarak parvovirus antijeninin varlığını tespit etmişlerdir. Enfeksiyonun serolojik durumu ile ilgili olarak da gastrointestinal ve solunum sistemi klinik bulguları gösteren köpeklerde yapılan çalışmada Torun ve ark., (20) tarafından CPV-1'e spesifik antikor varlığı %18 oranında bulunmuştur.

Bu çalışmada CPV prevalansı sadece 6 aylıktan küçük köpek yavrularında %3.42 (4/117) oranında tespit edildi. Araştırmada 6 aydan küçük köpeklerin kendi içlerinde yapılan gruplandırılmalarında (1-2 ay, 3-4 ay, 5-6 ay) CPV antijen pozitiflik değerleri arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemli olmadığı belirlendi. Benzer şekilde sahipli ve barınak köpeklerinde tespit edilen CPV antijen pozitiflik değerleri arasında da bir korelasyon bulunmadı.

Fakat dişi ve erkek yavru köpeklerde belirlenen pozitiflik oranları arasındaki farklılıkların anlamlı olduğu tespit edildi. Bu sonuç daha önce yapılmış çalışma (1,14) verileri ile paraleldir. Erkeklerde daha yüksek antijen pozitifliğinin nedeninin, aralarındaki üstünlük mücadelesi ve rekabete bağlı birbirleri arasındaki temas sıklığının fazla olmasından dolayı CPV'nin buluşma olasılığının artmış olmasına bağlandı. Irklar arasındaki CPV enfeksiyon durumu değerlendirildiğinde, her ne kadar kangal ırkında enfeksiyon oranı yüksek (%50) olarak bulunsa da çalışmadaki örnek sayılarının sınırlı olması nedeni ile diğer ırklarla kıyaslamaya yeterli istatistiki veri elde edilememiştir. Çalışma sonuçları, düşük prevalansa sahip olsa da Burdur yöresinde bulunun 1 yaşından küçük köpeklerde CPV enfeksiyonunun varlığını göstermektedir. Bu veriler söz konusu enfeksiyonla ilgili yapılmış diğer çalışmalarla kıyaslandığında düşük değerlerde olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, örnekleme yapılan sahipli ve barınak köpeklerinin besleme ve barınma şartlarının iyi olması ve sağlık kontrollerinin düzenli yapılmasından kaynaklanabileceği kanaatine varıldı.

Sonuç olarak CPV enfeksiyonunun Burdur yöresinde varlığını ortaya koyan bu araştırmanın, ileride yapılacak bölgede/ülkede yayılım gösteren CPV suşlarını içeren aşuların üretilmesi ve CPV'nin antijenik varyantlarının belirlenmesine dönük moleküler karakterizasyon çalışmalarına kaynak olacağı düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Sakulwira K., Vanapongtipagorn P., Theamboonlers A., Oraveerakul K., Poovorawan Y., 2003. Prevalence of canine coronavirus and parvovirus infections in dogs with gastroenteritis in Thailand. *Vet Med*, 48, 163-167.
2. Filipov C., Decaro N., Desario C., Amorisco F., Sciarretta R., Buonavoglia C., 2011. Canine parvovirus epidemiology in Bulgaria. *J Vet Diagn Invest*, 23, 152-154.
3. Gagnon CA., Allard V., Cloutier G., 2016. Canine parvovirus type 2b is the most prevalent genomic

- variant strain found in parvovirus antigen positive diarrheic dog feces samples across Canada. *Can Vet J*, 57, 29-31.
4. Miranda C., Parrish RC., Thompson G., 2016. Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Vet Microbiol*, 183, 37-42.
  5. Berkin Ş., Milli Ü., Urman HK., 1981. Türkiye'de köpeklerde parvoviral enteritiser. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 28, 36-49.
  6. Özkul A., Keleş İ., Karaoğlu T., Çabalar M., Burgu İ., 2002. Detection and RFLP analysis of canine parvovirus (CPV) DNA by polymerase chain reaction (PCR) in a Dog. *Turk J Vet Anim Sci*, 26, 1201-1203.
  7. Yılmaz Z., Pratelli A., Torun S., 2005. Distribution of Antigen Types of Canine Parvovirus Type 2 in Dogs with Hemorrhagic Enteritis in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 1073-1076.
  8. Murphy FA., Gibbs EPI., Horzinek MC., Studdert MJ., 1999. Parvoviridae. In "Veterinary Virology", 3th ed., 343-354, Academic pres, California.
  9. Decaro N., Buonavoglia C., 2012. Canine parvovirus-A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol*, 155, 1-12.
  10. Geetha M., 2015. Epidemiology, pathogenesis, clinical findings and diagnosis of canine parvovirus infection—a mini review. *Inter J Sci Eng App Sci*, 1, 21-27.
  11. Nandi S., Kumar M., 2010. Canine parvovirus: Current perspective. *Indian J Virol*, 21, 31-44.
  12. IBM SPSS Statistics, 2012. SPSS for Windows Release 21.0, SPSS Inc. Chicago, USA.
  13. Shackelton LA., Parrish CR., Truyen U., Holmes EC., 2005. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. *Proc Natl Acad Sci*, 102, 379-384.
  14. Behera M., Pand SK., Sahoo PK., Acharya AP., Patra RC., Das S., Pati S., 2015. Epidemiological study of canine parvovirus infection in and around Bhubaneswar, Odisha, India. *Vet World*, 8, 33-37.
  15. Decaro N., Desario C., Addie DD., Martella V., Vieira MJ., Elia G., Zicola A., Davis C., Thompson G., Thiry E., Truyen U., Buonavoglia C., 2007. Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg Infect Dis*, 13, 1222-1224.
  16. Castro TX., Miranda SC., Labarthe NV., Silva LE., Cubel Garcia RCN., 2007. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 59, 333-339.
  17. Timurkan MÖ., Oğuzoğlu TÇ., 2015. Molecular characterization of canine parvovirus (CPV) infection in dogs in Turkey. *Vet Ital*, 51, 39-44.
  18. Yesilbag K., Yılmaz Z., Özkul A., Pratelli A., 2007. Aetiological role of viruses in puppies with diarrhoea. *Vet Rec*, 161, 169-170.
  19. Tunca R., Toplu R., 2007. Doğal enfekte köpek parvovirus enfeksiyonunda patolojik bulgular ve viral antijenin floresan antikor tekniği ile demonstrasyonu. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 54, 55-59.
  20. Torun S., Yılmaz Z., Pratelli A., 2005. A serological evidence of minute virus of canines (MVC; Canine Parvovirus Type-1) in Dogs in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 923-925.





## Türkiye’de Florozis Sorunu ve Florun Biyokimyasal Etkileşimi

Efe KURTDEDE<sup>1✉</sup>, Mert PEKCAN<sup>1</sup>, Hilal KARAGÜL<sup>1</sup>

1. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
24.12.2016	21.02.2017	20.12.2017

**Öz:** Flor kimyasal reaktivitesi yüksek bir elementtir. Bu element toprak, kaya, kil, kömür, su ve havada iyonlar ve bileşikler halinde bulunur. Endüstriyel florozis ve doğal afetler sonucu toprak ve sudaki flor konsantrasyonunun artmasına bağlı flor zehirlenmeleri meydana gelmektedir. Organik florürler surfaktan, fiber, membran, pestisit, fungusit, uranyum, ilaç, tomografik görüntüleme maddesi ve diş bakım ürünü üretiminde kullanılmaktadır. Bu elementin uzun süreli alınan günlük miktarı güvenli eşiği aştığı takdirde florozis olarak bilinen kronik flor zehirlenmesi ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde, bugüne kadar yapılan çalışmalarda Muğla, Eskişehir, Kırşehir, Çorum, Ankara, Konya, Hatay, Van ve Ağrı illerinde su, toprak, bitki, koyun idrarı, diş ve kemik örneklerinde flor düzeyleri belirlenmiş ve flor zehirlenmesi hakkında değerlendirmeler yapılmıştır. Bu kapsamdaki bilgi birikiminin özlü bir şekilde bir araya getirilmesinin güncel durumu ortaya koyacağı ve bu konuda yapılabilecek çalışmalara katkı sağlayabileceği kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Florozis, Türkiye.

## Fluorosis Problem in Turkey and Biochemical Interaction of Fluorine

**Abstract:** Fluorine is a highly reactive chemical element. This element is present in soil, rock, clay, coal, water and air as ions and compounds. Organic fluorides are being used in the production of surfactant, fibers, membrane, pesticide, fungicide, uranium, drug, tomographic imaging agent and dentifrice. In various studies carried out in our country, natural and industrial fluorosis and fluoride-induced biochemical changes in animals were studied. In our country, Muğla, Eskişehir, Kırşehir, Çorum, Ankara, Konya, Hatay, Van and Ağrı cities and water, soil, plant sheep urine, tooth and bone materials examined for fluor amount despite the long work done over the years, some of the effects of fluoride on the body is still not fully explained. Therefore, to be useful to make a compilation about the characteristics of fluorine, and its' presence in the nature, and its' biodynamics and effects in the body, was thought.

**Keywords:** Fluorosis, Turkey.

✉ Efe KURTDEDE

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.  
e-posta: efekurtdede@gmail.com

## GİRİŞ

**F**lor ülkemizde bazı yörelerde doğal olarak bol miktarda bulunmakta, endüstriyel ürünlerde çeşitli konsantrasyonlarda kullanılmakta ve çevre kirliliğine bağlı olarak yoğun flor kontaminasyonları gerçekleşmektedir. Hayvan ve insan vücuduna solunum veya sindirim yoluyla giren fazla miktardaki flor akut, az miktardaki flor kronik bozukluklara yol açmaktadır. Son yıllarda, hayvanlarda tanımlanamayan bazı bozukluklarda, yöre şartları dikkate alındığında, bozukluğun olası nedenleri arasında flor da sayılmaktadır.

Bu derlemenin amacı, flor elementinin özellikleri ve doğada bulunuşu ile vücuttaki biyodinamiği ve etkilerinin vurgulanmasına yönelik güncel bilimsel verinin sunulmasıdır.

### Flor Elementinin Özellikleri ve Doğada Bulunuşu

Flor (F), atom numarası 9, atom ağırlığı 19, yoğunluğu 1,265 olan, kokusu ozonu andıran tek değerli zehirli solgun sarı-yeşil renkli gaz olup halojenler grubunun ilk elementidir. Yüksek kimyasal reaktivitesi nedeniyle tüm elementlerle ve asal gazlarla kolayca bileşikler oluşturur. Cam, metal, su ve diğer maddelerle çok reaktiftir (1).

Florun halojen grubu elementler ile yaptığı bileşiklerden bazıları klor triflorür ( $ClF_3$ ), klor pentaflorür ( $ClF_5$ ), brom triflorür ( $BrF_3$ ), iyot pentaflorür ( $IF_5$ ), iyot heptaflorür ( $IF_7$ ), oksijen diflorür ( $OF_2$ ), dioksijen diflorür ( $O_2F_2$ ), trioksijen diflorür ( $O_3F_2$ ) ve tetraoksijen diflorür ( $O_4F_2$ )’dir. Florun inorganik bileşikleri uranyum hekza florür ( $UF_6$ ), sülfür hekza florür ( $SF_6$ ) antimon florürler ( $SbF_3$ ,  $SbF_5$ ), bor tri florür ( $BF_3$ ), kükürt tetra florür ( $SF_4$ ) ve halojen florürdür. Organik florür olarak sadece karbon ve flor ( $CF_4$  ve  $C_7F_{16}$ ) içeren organik bileşikler elde edilir (1,2).

Flor yüksek dağ eteğindeki toprak su ve bitkiler ile deniz suyunda bol miktarda bulunur. Havadaki flor yeryüzündeki florlu tozdan, endüstriyel gazlardan, kömürün yakılması ve volkanik aktivitelerden kaynaklanan dumandan köken alır (3,4,5).

### Florun Kullanıldığı Alanlar

Kimyasal ve termal dayanıklılığının yüksek oluşu nedeniyle organik florürler giyim sanayiinde,

elektronik malzemelerde, teflon yapımında, soğutucularda, izolasyon malzemelerinde, surfaktanlarda, fiberlerde, membranlarda, yangın söndürme cihazlarında, zirai pestisitlerde ve fungusitlerde, uranyum ve ilaç üretiminde, diş koruyucularda, medikal sahada suni kan veya likit soluma uygulamalarında ve pozitron emisyon tomografisinde görüntüleme maddesi olarak kullanılır (6).

### Florun Emilimi

Floridin biyolojik membranlardan geçişi suya benzer bir şekilde hidrofloridin noniyonik diffüzyonuyla olur. Florun solunum yolları epitellerine geçirgenliği anyon kanalları aracılığıyla gerçekleşir. Sodyum florür ve sodyum fluorosilikat gibi çözünebilir flor bileşikler sindirim kanalından çok iyi, sodyum aluminofluoroalüminat ve kalsiyum diflorine gibi daha az çözünen flor bileşikler ise bağırsaklardan orta derecede emilir (7).

### Florun Vücutta Tutuluşu ve Atılışı

Flor kana geçtikten sonra tüm vücuda kolayca yayılır. En yoğun olarak bulunduğu yer kemik ve dişlerdir. Flor kemik lezyonlarının gelişme döneminde kemikten aşırı miktarda mobilize olan kalsiyum ve fosforla birleşerek idrarla fazla miktarda atılır. Florun vücuda girişi azaldıktan sonra kemik ve dişte depolanan flor kana geçer ve idrarla atılır. İdrar pH değişiklikleri idrarla flor atılım miktarını etkiler (8).

### Florun Vücutta Oluşturduğu Biyokimyasal Etkiler

Söz konusu etkiler florun fosforiltransfer aktivitesine sahip enzimlerle olan (GTP’az ve ATP’az aktivitesine benzer) ilişkisiyle (florid ile bileşik oluşturup inhibisyon) açıklanmaktadır. Diğer taraftan Al-F ve Be-F’nin yapısal proteinlerden aktin (9) ve troponin C (10) ile ilişkisi rapor edilmiştir. Florla temasın protein sentezini ve sekresyonunu engelleyerek proteinlerin bir membran kompartımanından diğerine transportunu etkilediği belirlenmiştir (11).

Flor krebs siklusu ve glikoliz gibi metabolik olaylarda görev alan enzimlerin (piruvat kinaz,



heksokinaz gibi) aktif merkezlerinde yer alan fonksiyonel aminoasit gruplarına bağlanarak ilgili enzimin inhibisyonuna neden olur. Sodyum potasyum ATP’azın flor tarafından inhibisyonu ATP tükenmesine ve hücre membran potansiyelinde bozulmaya yol açar (12), sonuçta hücresel solunumun inhibisyonu meydana gelir. Florun aynı hücre tipinde Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPaz’ın aktivasyonunu hem inhibe edip hem de stimüle ettiği gösterilmiştir (3).

### Flor Toksikasyonu

Flor toksikasyonuna yol açan başlıca nedenler volkanik püskürmeden hemen sonra bol miktarda flor içeren gazın solunması, meraya fosfatik kireç taşı serpilmesi, super fosfat gübresinin kazayla yenmesi ve flor içeren tahta koruyucusu maddelerin aşırı solunması veya kazayla ağızdan alınmasıdır. Akut toksikasyonda hastalarda dispne, anoreksi, kusma, ruminal durgunluk, konstipasyon ve ishal ortaya

çıkarak, daha sonra halsizlik, kas tremorları, pupillar dilatasyon, hiperestezi, devamlı çiğneme hareketi, tetani, kollaps ve ölüm meydana gelir.

Kronik flor toksikasyonunda hastaların bazılarında sadece diş bozuklukları görülürken bazılarında bunun yanı sıra kemik bozuklukları ve genel hastalık belirtileri de ortaya çıkar. Dental florozisin en erken bulgusu diş üzerinde görülen beneklenmelerdir. Bu pigmentler açık sarı, yeşil, kahverengi veya siyah renktedir. Lezyonlar insizor dişlerde ve yanak kenarındaki dişlerde nokta tarzında veya horizontal bantlar şeklindedir ve sadece süt dişlerinde görülür. Şiddetli diş bozuklukları gelişen hastalarda geviş getirme ve su içme güçlüğü, süt üretiminde düşüş ve vücut ağırlığı kaybı meydana gelir. Kemik bozuklukları gelişenlerde topallık da görülür (3,4,13,14).

### Türkiye’de Florozis

**Tablo 1.** Türkiye’de florozis çalışmaları.

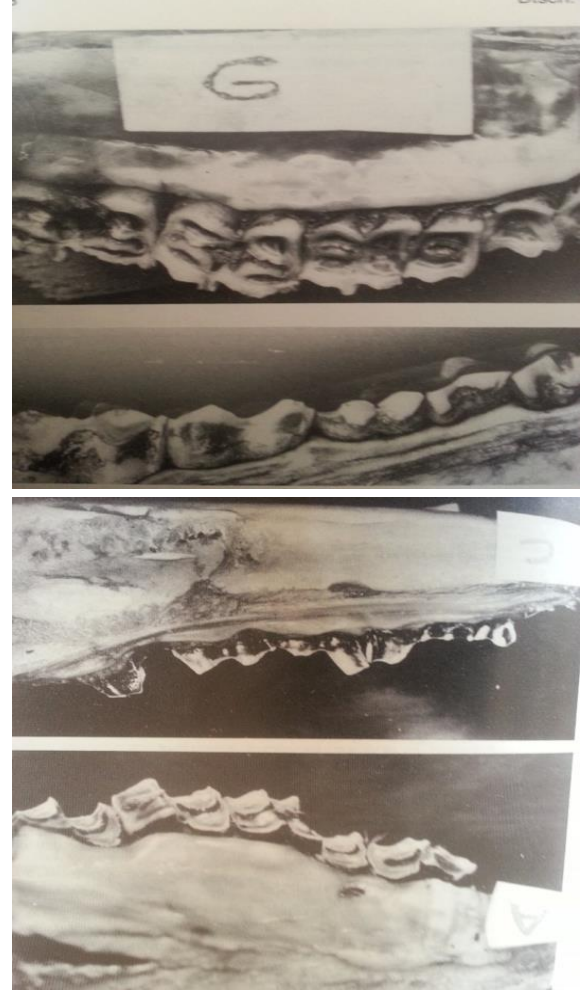
**Table 1.** Fluorosis studies in Turkey

Çalışma	Yapıldığı Bölge	Değişik örneklerde belirlenen flor düzeyleri		
Şendil ve Bayşu (1973)	Van/Çaldıran ve Ağrı/Doğu Beyazıt	• Su örneklerinde 5.70 mg/l-15.20 mg/l		
Ergun ve ark. (1987)	Van/Ağrı yöresinde	• Kaynak sularında 7.67 mg/l		
		• Toprak örneğinde 17.4 mg/kg		
		• Bitki örneğinde 15.24 mg/kg		
		• Diş örneği külünde 3787-5299 mg/kg		
		• Kemik örneği külünde 3374-5149 mg/kg		
		• Koyun idrarında ortalama 8.11 mg/l		
Fidancı ve ark. (1998)	Bölge	İdrar (ppm)	Su (ppm)	Bitki (ppm)
	• Eskişehir/Kızılcaören	12.50±0.46	4.81±0.14	658.9±169.0
	• Kırşehir/Kaman/Bayındır	3.01±0.13	2.67±0.74	531.0±204.0
	• Akçakent/Yeniyapan	1.28±0.008	0.57±0.08	22.2±13.7
	• Çiçekdağ/Pöhrek	3.50±0.24	0.42±0.02	42.7±11.3
	• Konya/Seydişehir	31.14±3.45	0.32±0.11	41.4±8.7
	• Kırşehir/Merkez, Lastik	1.87±0.17	0.22±0.02	82.2±22.7
	• Kırıkkale/Merkez Petrol	1.23±0.11	0.29±0.03	33.8±13.6
	• Ankara/Elmadağ Çimento	2.97±0.37	0.25±0.02	55.4±14.5
	• Çorum/Merkez Tuğla	1.44±0.10	0.37±0.04	80.4±18.5
	• Muğla Yatağan	7.86±0.77	0.25±0.02	1.95±0.11
Altıntaş ve ark. (2000)	Eskişehir/Kızılcaören köyü ve Van/Çaldıran Muğla/Yatağan	• Koyunların idrarındaki sırasıyla ortalama 5.33 ve 8.13 ppm		
		• Koyunların idrarında 8.74 ppm		
Işıklı ve ark. (2000)	Eskişehir ili Kızılcaören	• Su örneklerinde 3.9 mg/l		
Erdoğan (2002)	Hatay yöresinde ve Erzin bölgesinde	• Hatay yöresinde içme suyu örneklerinde 0.140-0.751 ppm,		
		• Erzin bölgesinde kaynak suyunda 2.140 ppm		
Öksüz (2006)	Kırşehir/Pöhrenk	• Sıcak su kaynaklarında 5.5-5.7 mg/l		
		• Çeşme sularında 0.63-2.6 mg/l		
		• Artezyen kuyu suyunda 0.63 mg/l		

Tablo 1’ de gösterilen Şendil ve Bayşu (15), volkanik bölgeler olan Van/Çaldıran ve Ağrı/Doğubeyazıt’da değişik köylerden alınan su örneklerindeki flor miktarlarını 5.70-15.20 mg/l, florozis belirtileri olan koyun idrar örneklerindeki flor düzeylerini 3.80-30.61 mg/l olarak belirlemişlerdir. Ergun ve ark (16), Van/Ağrı yöresinde flor miktarını kaynak sularında ortalama 7.67 mg/l, toprak örneğinde ortalama 17.4 mg/kg, bitki örneğinde 15.24 mg/kg, dış örneği külünde 3787-5299 mg/kg, kemik örneği külünde 3374-5149 mg/kg, koyun idrarında ortalama 8.11 mg/l olarak rapor etmişlerdir. Fidancı ve ark (17), Eskişehir/Kızılcaören’de kaynak sularındaki flor düzeyini 4.24-4.60 ppm olarak saptamışlardır. Fidancı ve ark. (18), doğal flor kontaminasyonunun koyunlarda florozise yol açtığını gösteren araştırmalar yapmışlar, Eskişehir/Kızılcaören, Kırşehir-Kaman/Bayındır, Akçakent/Yeniyapan ve Çiçekdağ/Pöhrek’ten sağladıkları su, toprak, bitki ve koyun idrar örneklerindeki flor değerlerinin kontrol değerlerine göre yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Altıntaş ve ark. (19), doğada flor konsantrasyonunun yüksek olduğu Eskişehir/Kızılcaören köyü ve Van/Çaldıran’da merada yayılan koyunların idrarındaki flor miktarlarının sırasıyla ortalama 5.33 ve 8.13 ppm bulmuşlardır. Işıklı ve ark. (20), Eskişehir ili Kızılcaören ilçesinde flor madeni bölgesinde su flor miktarının 3.9 mg/l olduğuna işaret etmişlerdir. Erdoğan (21), Hatay yöresindeki içme suyu örneklerinde flor düzeyini 0.140-0.751 ppm, Erzin bölgesinde kaynak suyunda 2.140 ppm olarak ölçmüşlerdir. Öksüz (22), Kırşehir/Pöhrenk’te su flor düzeyini sıcak su kaynaklarında 5.5-5.7 mg/l, çeşme sularında 0.63-2.6 mg/l, artezyen kuyu suyunda 0.63 mg/l bulmuştur. Karademir ve Karademir (23), Doğu Beyazıt yöresinden aldıkları su örneklerinde flor düzeyini  $9.460 \pm 0.701$  mg/l bulmuşlardır.

Endüstriyel flor kirliliğinin olduğu alüminyum, lastik, çimento ve tuğla-kiremit fabrikalarının bulunduğu Konya/Seydişehir, Kırşehir/Merkez, Ankara/Elmadağ ve Çorum/Merkez’de (18,24), kömür yakılmasına bağlı olarak Muğla/Yatağan’da (24,25) su, toprak, bitki örneklerinde ve florozis belirtileri gösteren koyunların idrar örneklerinde flor

düzeylerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Altıntaş ve ark. (11), endüstriyel flor kirliliğinin görüldüğü Muğla/Yatağan’daki koyunların idrar flor miktarını ortalama 8.74 olarak saptamışlardır.



**Şekil 1.** Florozisin neden olduğu mandibula ve diş lezyonları (8).

**Figure 1.** Mandibular and dental lesions caused by fluorosis (8).

#### Klinik Patoloji

Toksikasyon oluşturacak miktarda flor alan sığırlarda kan flor düzeyi 0.6 mg/dl ve idrar düzeyi 16-68 mg/l bulunmuştur. Kan ve idrar flor düzeylerindeki yükselme vücuda giren florun kemiklerde depolanmasından aylar sonra ortaya çıkar. Serum alkalin fosfotaz aktivitesi normal değer 3-7 katı artar (13,14).

### Nekropsi Bulguları

Akut toksikasyonda şiddetli gastroenterit bulguları vardır. Kronik toksikasyonda kemikler beyaz görünümündedir ve tebeşir gibi kırılındır. Kemiklerin diafizlerine doğru lokal veya yaygın ekzostozlar ortaya çıkar. Bazı olgularda eklem içinde çıkıntılar ve yapışmalar görülür (Şekil 1). Histolojik muayenede kemiklerde düzensiz kalsifikasyon ve aktif periostal kemik yapılanması dikkati çeker. Dişte mine tabakasında hipoplazi, dentin tabakasında fiziksel ve histolojik defektler belirlenir. Genç hayvanlarda büyüme plaklarında kalınlaşma ve metafizlerde genişleme dikkati çeker. Şiddetli toksikasyonda kalp kası, böbrek, karaciğer, adrenal bezler ile merkezi sinir sistemi ve kemik iliğinde dejeneratif değişiklikler saptanır (14).

### Tanı

Hastalığın tanısını koymak için flor toksikasyonuna ilişkin epidemiyolojik veriler ve klinik bulgular değerlendirilir. Florun yumuşak dokularda tutulumu düşük olduğundan tanı için kemik flor konsantrasyonuna bakılır. Florun en yoğun olarak biriktiği kemik mandibuladır. Uzun kemiklerin distal ve proksimal 1/4 kısımlarında da flor konsantrasyonu yüksektir. Flor toksikasyona özgü klinik bulguların görüldüğü olgularda kemik flor düzeyi 3000-4000 mg/kg, kemik külünün flor seviyesi %2, diş külünün flor seviyesi %1 olarak bulunmuştur (13,19).

### Tedavi

Akut toksikasyonda gastrointestinal sedatifler kullanılır. Sindirim sistemindeki florun nötralizasyonu için 30 gramdan fazla alüminyum sülfat ağızdan verilir. Hastalardaki tetani ve hiperestezi bulguları ortadan kalkıncaya kadar kalsiyum tuzları damar içi uygulanır. Flor glukoz metabolizmasında bozukluğa yol açtığından hastalara paranteral glukoz verilir. Sağaltım sonucu diş ve kemiklerde oluşan lezyonlar düzelmezken diğer klinik bulgular düzelir (13).

### Koruma

Koruma hayvanlara verilen yem ve sudaki flor düzeyinin yüksek olmaması sağlanır. Uzun süre florlu gıda almak zorunda kalan sütçü sığırların diyetinde 50

mg/kg’dan az flor bulunmalıdır. Sudaki flor düzeyinin yüksek olduğu bölgelerde genç ve büyümekte olan hayvanlara flor içermeyen katkı maddeleri verilir. Erişkin hayvanlara 3 ay flor düzeyi yüksek su verilmişse en az 3 ay da florsuz su içirilir. Gıda destek maddelerindeki flor konsantrasyonunun süt sığırlarında %0.2’den, kasaplık sığırlarda %0.3’ten fazla olmamasına, bu sağlanamıyorsa rasyondaki tane yem miktarının %2’yi geçmemesine dikkat edilir. Sürüye yeni alınacak hayvanların genç olmaması tercih edilir (13,14).

Gıda ve suyla alınan florun emilemeyen tuzlara dönüşmesi için alüminyum tuzları hayvanlara tek tek içirilir. Bu maddeler kemiklerdeki flor birikiminin %20-30’unu düşürür. Flor zehirlenmesi olasılığının yüksek olduğu yörelerde hayvanlarda diş aşınmaları oluşmadan önce verilen gıda ve mera alanları düzeltilir. Bunun için içme suyuna 500-1000 mg/kg miktarında söndürülmüş kireç katılır. Su içirilmeden önce 6 gün su depolama kaplarında bekletilir. Bu uygulamayla sudaki flor düzeyi düşürülmüş olur (13).

### SONUÇ

Flor elementinin doğadaki miktarı ve dağılımı coğrafi koşulların yanısıra endüstriyel etkilerden de kaynaklanmaktadır. Florun vücuda az ya da çok miktarda girişi flor kaynaklarıyla yakın temas, kaynaklardaki flor yoğunluğu, kısa süreli yoğun veya uzun süreli endüstriyel flor kirliliğine maruz kalma ve flor içeren maddelerin kullanılma miktarı ve sıklığı ya da flor içeren maddelerin kazara fazla miktarda alınması sonucu meydana gelir. Florun akut toksikasyonları ani ölüme yol açtığından klinik önemi kronik toksikasyonlara göre daha azdır. Kronik flor toksikasyonu öncelikle kemik ve diş gibi sert dokularda patolojik değişikliklere yol açarken yumuşak dokularda enzim ve hücre düzeyinde fonksiyonel ve/veya morfolojik bozukluklar oluşturarak etkisini gösterir.

Ülkemizde bugüne kadar yapılan çalışmalarda Muğla, Eskişehir, Kırşehir, Çorum, Ankara, Konya, Hatay, Van ve Ağrı’da su, toprak, bitki, koyun idrarı, diş ve kemik örneklerinde flor düzeyleri belirlenmiş ve flor zehirlenmesi hakkında değerlendirmeler yapılmıştır. Doğal ve endüstriyel flor kirliliğine bağlı olarak sığırlarda ve koyunlarda kronik flor

zehirlenmesi bulguları ortaya konulmuştur. Son yıllarda florun hücre ve enzim sistemleri üzerine etkisi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Bu bilgiler ışığında, günümüzde flor konusundaki çalışmaların florun hücre yapısına etkisinin ve kanser oluşumuna katkısının araştırılması üzerine yoğunlaşmış olduğu görülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Atkins PW., Overton TL., Rourke JP., Weller MT., Armstrong FA., 2010. The Group 17 Elements In "Inorganic Chemistry", Ed., PW Atkins, TL Overton, JP Rourke., MT Weller, FA Armstrong, 5th ed, Publisher Great Britain by Oxford University Press, W. H. Freeman and Company, 41 Madison Avenue, New York, NY 10010.
- House JE., 2013. Chemistry of Non-metallic Elements III Grups VIA-VIIIA. "In Inorganic Chemistry", Ed., House, JE, 499-549, Academic Press of Elsevier, 225 Wyman Street Waltham MA 02451, USA.
- Barbier O., Arreolar-Mendoza L., Del Roza LM., 2010. Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chem-Biological Interactions*, 188, 319-333.
- Karagül H., 2008. Florozis ve hayvan sağlığı. Uluslararası katılımlı tıbbi jeoloji sempozyumu, 6-9 Şubat 2008, MTA Kültür Sitesi, Ankara, 109-110.
- Oruç N., 2008. Endemik florozis. Uluslararası katılımlı tıbbi jeoloji sempozyumu, 6-9 Şubat 2008, MTA Kültür Sitesi, 103-105, Ankara.
- Dolle F., Roeda D., Kuhnast B., Lasne MC., 2008. Fluorine-18 chemistry for molecular imaging with positron emission tomography, In: Fluorine and Health. Ed., Tressound A, and Haufe G, 4-25. Elsevier B.V.
- Gutknecht J., Walter A. 1981. A hydrofluoric and nitric acid transport through lipid bilayer membranes. *Biochim Biophys Acta*, 644, 153-156.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2003. Toxicological profile for fluorides, hydrogen fluoride, and fluorine. Atlanta, ATSDR Publication .
- Combeau C., Carlier MF., 1988. Probing the mechanism of atp hydrolysis on F-actin using vanadate and the structural analogs of phosphate, BeF<sub>3</sub> and AlF<sub>4</sub>, *J Biol Chem*, 17, 429-436.
- Brigitte C., Reisler P., Reisler E., 1993. Aluminum fluoride interactions with troponin C. *Biophys J*, 65, 2511-2516.
- Mendoza-Schulz A., Solano-Agama C., Arreola-Mendoza L., Reyes-Marquez B., Barbier O., Del Razo LM., 2009. The effects of fluoride on cell migration, cell proliferation, and cell metabolism in GH4C1 pituitary tumour cells. *Toxicol Lett*, 190, 179-186.
- Adamek E., Pawlowska-Goral K., Bober K., 2005. In vitro and in vivo effects of fluoride ions on enzyme activity. *Ann Acad Med Stet*, 51, 69-85.
- Radostits O., Gay C., Hinchcliff K., Constable P., 2006. Diseases associated with inorganic and farm chemicals. In "Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats", Ed., Radostits O, Gay C, Hinchcliff K., Constable, P., 10th Edition. 1815-1819. Saunders Ltd. London, Toronto.
- Ulemale AH., Kulkarni MD., Yadav GB., S.R.Samant, SJ., 2010. Komatwar and Khanvilkar A.V. Fluorosis in Cattle *Veterinary World*, 3, 11, 526-527
- Şendil Ç., Bayşu N., 1973. İnsan ve hayvanlardaki Ağrı İli Doğubayazıt ilçesi köylerinde görülen flor zehirlenmesi ve bunun Van ili Muradiye ilçesi köylerinde de saptamamızla ilgili ilk tebliğ. *Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg.* 20, 4, 474-489.
- Ergun HS., Rüssel-Sinn HA., Baysu N., Dündar Y., 1987. Studies on the fluoride contents in water and soil, urine, bone and teeth of sheep, and urine of human from eastern and western parts of Turkey. *Dtsch Tierarstl Wschr*, 94, 381-440.
- Fidancı UR., Bayşu N., Ergun H., 1994. The fluoride content of water sources in Kızılcaören village in Eskişehir. *Tr J Med Sci*, 20, 15-17.
- Fidancı UR., Salmanoğlu B., Maraşlı Ş., ve ark. 1998. İç Anadolu Bölgesinde doğal ve endüstriyel florozis ve bunun hayvan sağlığı üzerine etkileri. *Tr. J. Of Veterinary and Animal Scences*, 22, 537-544.
- Altıntaş A., Fidancı UR., Sel T., Duru Ö., Başsatan A., 2000. Doğal ve endüstriyel florozisli koyunlarda böbrek fonksiyonu ve serum protein elektroforezi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 47, 105-

114.

20. Işıklı B., Kalyoncu C., Metintaş S., Demir TA., 2000. Eskişehir yöresindeki içme sularında florür düzeyleri. *Ekoloji Çevre dergisi*, 36, 28-30.
21. Erdoğan S., 2002. Hatay bölgesi içme suyu örneklerinde flor düzeyleri. *Vet Bil Derg*, 18, 1-2.
22. Öksüz S., 2006. Pöhrenk (Kırşehir) sıcak su kaynaklarının hidrojeokimyasal incelemesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Türkiye.
23. Karademir B., Karademir G., 2009. Fluoride levels of drinking water of farm animal in Iğdır provinence, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 6, 919-923.
24. Fidancı UR., Karagül H., Sel T., Salmanoğlu B., 2005. Türkiye’de doğal ve endüstriyel florozis. I. Tıbbi Jeoloji Sempozyumu, 1-3 Aralık 2005, MTA Kültür Sitesi, Ankara, 46-47.
25. Fidancı UR., Sel T., 2001. The industrial florozis caused by coal-burning power station and its effects on sheep. *Türk J Vet Anim Sci*, 25, 735-741.





## Ruminantlarda Rumende Oluşan Metan Üretimini Azaltmaya Yönelik Çalışmalar

Cavit ARSLAN<sup>1✉</sup>, Esra ÇELEBİ<sup>2</sup>

1. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı, Kars, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
20.01.2017	21.02.2017	20.12.2017

**Öz:** Ruminantlarda ructus yoluyla salınan metan bir taraftan yemlerle alınan enerjinin kaybına neden olduğu için ekonomik kayba, diğer taraftan sera gazı etkisine sahip olduğu için küresel ısınmaya katkı yapan ekolojik bir probleme sebep olmaktadır. Küresel ısınmanın yaklaşık %18'lik kısmının ruminatlardan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu yüzden, ruminantlardan salınan metan gazının azaltılması ekonomik ve ekolojik açıdan faydalı olacaktır. Bu derlemede ruminatlarda metan gazı salınımının azaltılmasına yönelik olarak yapılmış çalışmalar üzerinde durulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Küresel ısınma, Metan salınımı, Ruminant, Sera gazı.

## Studies on Reduction of Ruminal Methane Production in Ruminants

**Abstract:** Methane emitted through ruminants in ruminants is induced that both loss of feed energy in the feed and an ecological problem contributing to global warming through its greenhouse effect. It is estimated to be about 18% of the portion originating from ruminates in global warming. Therefore, reduced methane emission by ruminants has been useful for both economic and ecologic aspects. This review deal with on studies to reduce the emission of methane in ruminants.

**Keywords:** Global warming, Methane emission, Ruminant, Greenhouse gas.

✉ Cavit ARSLAN

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.  
e-posta: carslan42@hotmail.com

## GİRİŞ

Ruminantlar; sindirim sistemlerinin anatomik ve fizyolojik özellikleri bakımından tek mideli hayvanlardan oldukça farklıdır. Dört bölmeli ve çok gelişmiş mide yapısına sahip olan ruminantlar retikulo-rumenlerinde bulunan mikroorganizmaların (bakteri, archaea, protozoa ve maya-mantar) salgılamış oldukları enzimler sayesinde yemlerle almış oldukları besin maddelerini fermente ederek insanoğlu için çok önemli besin maddeleri olan et ve süt gibi hayvansal gıdalara dönüştürebilmektedirler. Yemlerle alınan karbonhidrat kaynakları rumende fermente edilerek uçucu yağ asitleri (UYA), H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub>'e dönüştürülmektedir. Fermentasyon sonucunda oluşan UYA'ların başlıcaları; asetik-, propiyonik- ve bütirik asit olup, bunlar hayvanların enerji ihtiyacını karşılamak üzere kullanılmaktadır. Rumen fermentasyonu sonucu açığa çıkan H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> ise metanojenik mikroorganizmalarca (bakteri, archaea, protozoon);  $CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$ , indirgenme reaksiyonuna uğratarak metan gazı oluşumuna (metanogenezise) yönlendirilmektedir (1-3).

Rumende oluşan metan gazının sahip olduğu enerji vücut tarafından kullanılamamakta ve ructus yoluyla atmosfere salınmaktadır. Ructus yoluyla metan şeklinde kaybedilen enerji miktarı rasyonun bileşimine, yemlere uygulanan yem işleme tekniği ve yem katkı maddeleri kullanımı gibi birçok faktöre bağlı olarak yemlerle alınan enerjinin %2'si ile %12'si arasında olabilmektedir (1,4,5). Bu durum bir taraftan yemlerle alınan enerjinin hayvan tarafından

kullanılmayıp ructus yoluyla atılarak ekonomik kaybı anlamına gelirken, diğer taraftan sera gazı etkisine sahip olan metan; küresel ısınmaya neden olarak ekolojik bir problem unsuru olarak karşımıza çıkmaktadır.

Birleşmiş Milletler İklim Değişikliği Çerçeve Sözleşmesi Kyoto Protokolü'ne göre, sera gazı etkisine sahip 6 ana bileşik olduğu bildirilmektedir (6). Bunlar; 1. Metan (CH<sub>4</sub>), 2. Karbondioksit (CO<sub>2</sub>), 3. Nitroz oksit/Diazot oksit (N<sub>2</sub>O), 4. Hidrofluorokarbonlar (HFCs), 5. Perfluorokarbonlar (PFCs) ve 6. Kükürt heksaflorür (SF<sub>6</sub>)'dür. Bu bileşikler içerisinde en önemlileri, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> ve N<sub>2</sub>O'tir (3). Metan (dışkı ve enterik fermentasyon sonucu oluşmaktadır), karbondioksite göre 23 kat, diazot oksit (dışkıdan oluşmaktadır) karbondioksite göre 298 kat daha fazla küresel ısınmaya sebep olmaktadır (7).

Yıllık küresel toplam metan salınımının 452.6 milyon ton olduğu, bu oranın %19'unun (86 milyon ton) hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklandığı, bu oranın %95-97'sinin ruminantlardan ve geriye kalan %3-5'inin ise tek mideli hayvanlar tarafından üretildiği belirtilmektedir (8). Ruminantlarda metan gazı salınımının önemli bir kısmı (%90-95) ructus yolu ile daha az kısmı ise (%10-15) gübre ile olmaktadır (3).

Türkiye'deki 2001 yılı ruminant sayılarına göre bu hayvanlardan hesaplanan enterik ve gübre kaynaklı metan salınım miktarları Tablo 1'de görülmektedir (3).

**Tablo 1.** Türkiye'deki ruminantlardan enterik ve gübre kaynaklı metan salınımı.  
**Table 1.** Enteric and fecal originated methane emission from ruminants in Turkey.

Tür	Popülasyon	Enterik, Ton	Gübre, Ton	Toplam, Ton	Enterik, %	Tür, %
Siğir	11.185.000	675.394	108.457	783.850	86.16	76.53
Koyun	30.238.000	203.800	6.114	209.914	97.09	20.49
Keçi	8.376.000	29.600	888	30.488	97.09	2.98
Toplam	49.799.000	908.794	115.459	1024.252	280.34	100.00



Ruminatlarda ructus yoluyla atılan metan gazının ekonomik ve ekolojik zararlarının ortaya konulmasından sonra rumende oluşan metan gazı üretiminin azaltılmasına yönelik çalışmalar daha da hız kazanmıştır.

## 2. RUMENDE METAN OLUŞUMUNU AZALTMAYA YÖNELİK UYGULAMALAR

### 2.1. Rasyona Yağ İlave Edilmesi

Ruminant rasyonlarında enerji kaynağı olarak kullanılan yağların aynı zamanda metan oluşumunu azalttığı ifade edilmektedir (9,10). Ruminal metanogenezisi baskılamada özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin etkili olduğu bildirilmektedir (11,12). Doymuş yağ asitleri içerisinde ise orta zincir uzunluğuna sahip olanların (C8-C16) metanogenezis (13) ve metanojenlerin (14) faaliyetlerini baskılamada potansiyel etkiye sahip olduğu belirtilmektedir.

Süt ineklerinde yapılan çalışmalarda rasyona %5 miristik asit (15), %5.7 keten tohumu, ekstrude keten tohumu ve keten yağı (16) ilavesinin metan salınımını azalttığı, azalmanın miristik asitin rumendeki metanojenlerin aktivitelerini baskılamasından kaynaklandığı belirlenmiştir (15). Süt ineklerinde yapılan başka bir çalışmada ise, rasyona %2.3, 4.0 ve 5.6 oranında eşit oranlarda (50:50) pamuk tohumu yağı:kanola yağı karışımı ilavesinin metan salınımını değiştirmedeği bildirilmiştir (17).

Süt ineklerinde *in vitro* gaz üretim tekniğiyle yapılan bir çalışmada yeme hindistan cevizi yağı veya tozu ilavesinin metan üretimini kontrole göre azalttığı, bakteri ve protozoa sayısını önemli derecede düşürdüğü belirlenmiştir (18). Dohme ve ark. (9), rasyona 53 g/kg korunmuş yağ, hurma yağı, kuyruk yağı, süt yağı, iki farklı kanola yağı, hurma çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı ilavesinin metan salınımına etkilerini RUSITEC tekniğiyle araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, stearik asit bakımından fakirleştirilmiş, oleik asit bakımından zenginleştirilmiş kanola yağı, hurma çekirdeği yağı ve hindistan cevizi yağı ilave edilen gruplarda metan salınımının sırasıyla %34, 21 ve 20 oranında azaldığı ve bu azalmanın Kontrol ve diğer deneme gruplardan önemli derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Bu

çalışmada korunmuş yağın metan oluşumu üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Sabun formunda korunmuş yağlarla (palm yağı, zeytin yağı, soya yağı, ayçiçeği yağı 4:1 oranında laurik asit-miristik asit karışımı) *in vitro* şartlarda yapılan başka bir çalışmada da (19), korunmuş zeytin yağı, soya yağı ve ayçiçeği yağının metan üretimini azalttığı tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda özellikle sabun formunda korunmuş soya ve ayçiçeği yağı kullanımının ruminal metanogenezisi azaltmada alternatif olabileceği bildirilmiştir.

Süt ineklerinde yapılmış 7 farklı çalışmaya ait verilerin değerlendirildiği bir meta analiz çalışmasında (11); süt verimindeki ve rasyondaki yağ miktarı artışına bağlı olarak metan oluşumunun azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Aynı zamanda yağların doymamışlık derecesindeki artışa bağlı olarak metan üretiminin daha da azaldığı ifade edilmiştir. Ancak rasyondaki doymamış yağ asidi miktarındaki artışa bağlı olarak, yem tüketiminde azalma ya da selüloz sindiriminde düşme olabileceği belirtilmiştir.

Besi sığırlarında, kaba: konsantre yem oranı 65:35, 40:60 ve 10:90 olacak şekilde ve her orana 0 ya da 300 g/gün hindistan cevizi yağı ilave edilerek yapılan bir çalışmada (20) yağ ilave edilen tüm gruplarda metan salınımının azaldığı tespit edilmiştir. McGinn ve ark. (10) besi sığırlarında farklı uygulamaların metan salınımına etkilerini belirlemeye yönelik iki deneme halinde bir araştırma yapmışlardır. I. Denemede; rasyona monensin, ayçiçek yağı ve proteolitik enzim ilavesini, II. Denemede; rasyona iki farklı miktarda *Saccharomyces cerevisiae* ve fumarik asit ilavesini Kontrol'le karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. I. Deneme sonunda; ayçiçek yağı ilavesinin metan gazı üretimini Kontrole göre önemli derecede düşürdüğünü, monensin ve enzim ilavesinin metan gazı üretiminde değişikliğe sebep olmadığını belirlemişlerdir. Rasyona ayçiçek yağı ilavesinin NDF sindirimi ile ham enerjinin metan yoluyla atılımını % 21 oranında azalttığı, bu azalışın monensin ilave edilen grupta %9 olduğu belirlenmiştir. II. Deneme sonunda; maya ve fumarik asit ilavesinin metan salınımını etkilemediği belirlenmiştir.

Koyunlarda yeme keten tohumu yağı ilave edilerek *in vitro* şartlarda yapılan bir çalışmada metan üretiminin azaldığı tespit edilmiştir (21). Yine koyunlarda rasyona %0, 3.5 ve 7.0 oranında hindistan cevizi yağı ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan oluşumunda sırasıyla %28 ve %73 oranında azalma olduğu tespit edilmiştir (22).

Rasyonlara yağ ilave edilerek metan salınımının azaltılmasına yönelik olarak yukarıda bahsi geçen çalışmalar bir bütün olarak değerlendirildiğinde, rasyonlara yağ, özellikle de doymamış yağ asitlerince zengin yağ kaynakları ilavesinin metan salınımını azalttığı görülmektedir. Bu azalmaların nedenleri iki başlık altında toplanabilir. 1) Rasyona yağ ilavesine bağlı olarak, rumendeki mikroorganizma popülasyonu değişmekte ve/veya mikroorganizmaların aktiviteleri olumsuz yönde etkilenmektedir. Neticede yağ ilavesi ya yapısal karbonhidratların sindirimini azaltmakta, asetat: propiyonat oranı düşmekte ya da metanojenik mikroorganizmaların sayısını azaltmakta veyahutta her iki durum bir arada gerçekleşerek metan üretimi azalmaktadır. Diğer taraftan rumende metan ve propiyonat üretimi amacıyla mevcut hidrojenin kullanımı konusunda propiyonat oluşumu lehine bir artış gerçekleşmekte, bunun sonucunda da metan oluşumu azalmaktadır. 2) Rasyona doymamış yağ asitlerince zengin yağ kaynakların ilave edilmesi durumunda, rumendeki H<sub>2</sub>'nin bir kısmı rumen mikroorganizmalarınca doymamış yağ asitlerinin doyurulmasında (biohidrojenizasyon) kullanılarak ortamındaki hidrojen azalmakta, bu azalmaya bağlı olarak da metan üretimi düşmektedir.

## 2.2. Rasyonun Kaba: Konsantre Yem Oranında Değişiklik Yapılması

Rasyondaki kaba: konsantre yem oranı ve kuru madde tüketimi ile rumende üretilen metan miktarı arasında direk bir ilişki bulunmaktadır. Rasyonlara sindirilebilirliği yüksek karbonhidrat kaynakları ilavesinin rumende oluşan metan üretimini azalttığı bildirilmektedir (4,10,23). Bilindiği üzere rasyonda kaba yem oranı yüksek olduğu durumlarda rumen sıvısı asetik asit oranı, konsantre yem oranı yüksek olduğunda ise propiyonik asit oranı artmaktadır.

Rumende propiyonik asit üretimi için H<sub>2</sub>'ne ihtiyaç vardır. Konsantre yem ağırlıklı beslemede artan propiyonik asit oluşumuna bağlı olarak; daha fazla H<sub>2</sub> kullanıldığı için, ayrıca rumen ortamında oluşan amonyaktaki hidrojen de propiyonik asit üretimine sevk edildiği için metan oluşumuna yönlendirilecek H<sub>2</sub> miktarı azalmakta, bunların sonucunda da metan oluşumu düşmektedir (4,23). Ayrıca; konsantre yem ağırlıklı beslenen ruminantlarda rumen pH'sında düşme gerçekleşir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda pH'nın 6.0'nın altına düştüğünde bakterilerinin daha az metan (24) ve amonyak (25) ürettiği belirlenmiştir.

Konsantre yemlere uygulanan yem işleme tekniklerinin de (öğütme, peletleme, kimyasal muameleler) metan üretiminde %20-40 arasında azalmaya sebep olduğu, azalmanın yemlerin sindirim kanalından hızlı geçmesine bağlı olarak yapısal karbonhidrat sindirimini düşmesiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (4).

Kaba yemlerin rumendeki sindirimi konsantre yemlere göre daha uzun sürmektedir. Rasyonda kaba yem miktarının artmasına bağlı olarak yemlerin rumende kalış süresi uzamakta ve neticede metan üretimi artmaktadır (5). Kaba yem kaynağı olarak yonca kuru otu verilen Kontrol grubu ile deneme gruplarından birisine kurutulmuş üzüm posası peleti, diğerine üzüm posası silajı verilerek süt ineklerinde yapılan bir çalışmada (25), hayvan başına metan salınımı sırasıyla 470, 375 ve 389 g/gün olarak belirlemiştir. Metan salınımindaki azalmanın ruminal bakteri ve archaea sayısındaki azalmadan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Besi sığırlarında selüloz bakımından zengin rasyonlarla beslenen grupta, nişasta bakımından zengin aynı zamanda ekstrude keten tohumu ilave edilen grubun metan salınımının karşılaştırıldığı bir çalışmada (26), nişasta bakımından zengin grubun daha az metan ürettiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada bakteri ve archaea sayılarından gruplar arasında farklılık görülmezken, protozoa sayısı nişastaca zengin grupta %65 oranında daha düşük bulunmuştur. Besi sığırlarında rasyonda %0, 45 ve 90 oranında konsantre yem bulundurulmuş *in vivo* ve *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada, rasyondaki konsantre yem artışına bağlı olarak ruminal metan

üretimini azaldığı belirlenmiştir (23). Rasyondaki konsantre yem artışına bağlı olarak asetat: propiyonat oranı ve rumen amonyak oranı da azalmıştır. Söz konusu azalmaların rumen pH'sındaki azalmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Rumen fistüllü koyunlarda sadece yulaf otu (Kontrol) ve yulaf otuyla birlikte %35 ya da %70 oranında tahıl kırması verilerek yapılan bir çalışmada her iki tahıl kırması grubunda da metan salınımı Kontrol grubundan önemli derecede düşük bulunmuştur (27). Aynı çalışmada rumen sıvısı asetik asit oranında gruplar arasında farklılık görülmezken, propiyonik asit oranı, %70 tahıl kırması tüketen grupta diğer gruplardan önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Kaba yem kaynağının baklagil familyasından ya da buğdaygil familyasından oluşu da metan üretimini etkilemektedir. Ruminal metan üretimi, baklagil kaba yemleriyle beslemelerde buğdaygillerle beslemeye göre daha az olmaktadır. Azalmanın sebebi; baklagillerde yapısal karbonhidrat kaynaklarının daha az olması, buna karşın rumenden daha hızlı geçmesi ve daha fazla propiyonat üretmeleri şeklinde izah edilmektedir (4).

### 2.3. Yem Tüketim Miktarı ve Yemleme Sıklığında Değişiklik Yapılması

Yem tüketim miktarının artması yemlerin rumenden geçişini hızlandırmakta, buna bağlı olarak ta yemlerin rumende kalış süresi kısaltılmaktadır. Böyle bir durumda; bir taraftan rumenden hızlı geçen yemlerle, diğer taraftan da rumendeki diğer mikroorganizmalarla yarış halinde bulunan metanojenik mikroorganizmalar substrat bulmakta zorlanmaktadır. Ayrıca yemler rumenden hızlı geçince rumen mikroorganizmaları daha kolay sindirilebilen yemleri sindirmekte, sonuçta propiyonik asit miktarı artmaktadır. Propiyonik asit sentezinde fazla miktarda H<sub>2</sub> kullanıldığı için de metan oluşumu azalmaktadır. Rumen içeriği geçiş hızının %54'ten %68'e çıkması durumunda metan oluşumunda %30 azalma olmaktadır (2). Yaşam payı düzeyinde beslenen hayvanlara verilen yem miktarının yaşam payının iki katına çıkarıldığında üretilen metan miktarının arttığı, ancak tüketilen

birim kuru madde için üretilen metan miktarının azaldığı bildirilmektedir (28).

Rumen ekosistemi yemleme sıklığına bağlı olarak ta değişkenlik göstermektedir. Arzu edilen durum, rumen pH'sının mümkün olduğunca arzu edilen sınırlarda (6.2-6.8) stabil kalmasıdır. Mümkün olduğunca sık yemleme ya da *ad libitum* yemleme yapılması stabilitenin korunmasına yardımcı olmaktadır. Yemleme aralığının uzun olması rumen pH'sında keskin iniş ve çıkışlara sebep olmaktadır. Rumen pH'sının 6'nın altına düşmesi metanojenik mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Öğün sayısının azaltılması, asetik asit üretimini artırıp propiyonat sentezini azalttığı için metan üretiminde artışa sebep olmaktadır (29).

### 2.4. Probiyotik Kullanılması

*In vivo* (30) ve *in vitro* (31) şartlarda yapılan çalışmalarda yeme *Saccharomyces cerevisiae* ilavesinin metan oluşumunu azalttığı belirlenmiştir. Manda rumen sıvısından izole edilen *Fusobacterium sp.* bakterileriyle *in vitro* şartlarda yapılan başka bir çalışmada da, yemlere bu tür bakteri ilavesinin metan oluşumunu azalttığı, selüloz sindirimini ise arttırdığı tespit edilmiştir (32).

### 2.5. İyonofor Grubu Antibiyotiklerin Kullanılması

Ruminant rasyonlarına iyonofor grubu antibiyotik ilavesi rumende propiyonik asit miktarını artırırken, asetat: propiyonat oranını azaltmakta, sonuçta da metan üretimi baskılanmaktadır (33). İyonofor grubu antibiyotikler içerisinde metan oluşumunu baskılamada en yaygın olarak kullanılanı monensin olup, ayrıca lasolisid, narasin, salinomisin ve tetronasin de bu amaçla kullanılabilir (29). Büyükbaş ruminant rasyonlarına iyonofor antibiyotik ilavesinin metan salınımını azalttığı, ancak bu etkinin kısa süreli olduğu bildirilmektedir (4). Rasyona monensin ilavesinin besi sığırlarında metan salınımını değiştirmedığı (10), süt ineklerinde ise azalttığı tespit edilmiştir (34). Burada yem katkı maddesi olarak Ülkemizde antibiyotik kullanımının yasak olduğunun hatırlatılmasında yarar vardır.

## 2.6. Organik Asitlerin Kullanılması

Fumarik asit, propiyonik asit üretimi için kullanılan bir ara metabolittir. Fumarik asit oluşumu esnasında H<sub>2</sub> kullanılmaktadır. Dolayısıyla metan oluşumuna sevk edilecek hidrojenin bir kısmı bu yolla kullanılarak azaltılmaktadır. *In vitro* şartlarda yapılan çalışmalarda yeme ilave edilen fumaratın metan oluşumunu %5-11 arasında azalttığı, ancak *in vivo* çalışmalarla bu durumun henüz teyit edilemediği belirtilmiştir (29). Yine *in vitro* şartlarda yapılan bir çalışmada rasyona fumarik asit ilavesinin metan üretimini azalttığı belirlenmiştir (35). Rasyona fumarik asit veya kapsül halinde fumarik asit ilavesinin metan salınımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada günlük üretilen metan miktarının kontrol, fumarik asit ve kapsül halinde fumarik asit gruplarında sırasıyla 23.9, 12.2 ve 6 litre olarak tespit edilmiştir (36).

## 2.7. Bitkisel Ekstraktlar ve Esansiyel Yağların Kullanılması

Ruminal metanogenezin azaltılması üzerinde en yaygın çalışmaların yapıldığı bileşiklerden birisi tanenlerdir. Tanenler üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların verildiği Tablo 2'den de görüldüğü üzere tanenler metan üretimini azaltmaktadır. Tanenlerin metan salınımını azaltmadaki etki mekanizmaları; selülozu parçalayan mikroorganizmaların aktivite ve çoğalmalarını baskılayıp böylelikle oluşacak asetik asit miktarını azaltarak, metan üretimi için gerekli olan CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> miktarını azaltarak (37), metanojenik bakteri (38) archaea ve protozoa sayılarını (39) azaltarak gerçekleştirdiği şekilde izah edilmektedir. Ancak yüksek dozlarda kondanse tanen ilavesinin kuru madde sindiriminde olumsuz etkilediği de belirlenmiştir (39).

**Tablo 2.** Farklı tanen kaynağı ve çeşitlerinin metan üretimi üzerine etkileri.

**Table 2.** The effects of different tannin sources and types on methane production.

Araştırma tekniği	Kullanılan tanen kaynağı/çeşidi	Metan salınımına Etkisi	Kaynak
<i>In vivo</i> (Süt İneği)	Kondanse tanence zengin gazal boynuzu	Azaltmış	38
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin tropikal bir ağaç ( <i>Leucaena</i> )	Azaltmış	39
<i>In vitro</i>	Üzüm çekirdeği tanen ekstraktı	Azaltmış	40
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin akasya	Azaltmış	41
	Kondanse tanence zengin subtropikal bir ağaç ( <i>Quebracho</i> )	Azaltmış	
	Hidrolize tanence zengin kestane	Azaltmış	
	Hidrolize tanence zengin meşe palamudu	Azaltmış	
<i>In vitro</i>	Kondanse tanence zengin okaliptus yaprağı	Azaltmış	8

Süt ineklerinde rasyona %5 nane ilavesinin metan üretimini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (42). *In vitro* gaz tekniğiyle yapılan bir çalışmada rumen sıvısına 0, 0.33, 1.0 ve 2.0 µl/ml nane yağı ilavesinin metan salınımına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada deneme gruplarında metan salınımında sırasıyla %19.9, 46.0 ve 75.6 oranlarında azalma tespit edilmiştir (43). Ayrıca nane yağı ilavelerinin protozoa sayılarında ve aktivitelerinde önemli düşüşe sahip olduğu belirlenmiştir. Rumen sıvısına 0, 50, 100, 200 ve 400 µg/ml timol (kekikte bulunan farmakolojik olarak aktif bir madde)

ilavesinin metan oluşumuna etkisinin *in vitro* şartlarda araştırıldığı bir çalışmada, sadece 400 µg/ml düzeyindeki ilavede metan salınımının önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir (44). Canbolat ve ark. (45), *in vitro* gaz üretim tekniği ile yaptıkları bir çalışmada, rumen sıvısına 0, 400, 800 ve 1200 mg/l kekik yağı, nane yağı ve portakal yağı ilavesi durumunda, tüm yağ çeşitlerinin ve yağ dozlarının metan salınımını azalttığı tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara bağlı olarak ruminant beslemede esansiyel yağların düşük düzeylerde kullanılabileceği, ancak yüksek düzeyde

kullanılmasının rumen fonksiyonu ve yemden yararlamayı düşürebileceği ifade edilmiştir.

Koyunlarda yapılan bir çalışmada rasyona 5 g/kg sarımsak ya da 2 g/kg sarımsakta bulunan dially disülfid isimli etken madde ilavesinin metan salınımını etkilemediği belirlenmiştir (46).

## 2.9. Metan İnhibitörlerinin Kullanılması

Metan inhibitörleri arasında üzerinde yoğun çalışma yapılan bileşiklerden birisi nitrattır. Süt ineklerinde rasyona kuru madde bazında 21 g/kg nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada metan salınımının % 16 oranında azaldığı belirlenmiştir (47). Metan salınımının azaltılmasına bağlı olarak ne süt veriminde ne de enerji dengesinde iyileşme olmadığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada methemoglobin düzeyinin nitrat ilavesine bağlı olarak üre verilen Kontrol grubuna göre yükseldiği belirlenmiştir.

Şeker kamışına dayalı olarak beslenen besi sığırlarında rasyona kuru madde bazında 22 g/kg nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımının Kontrol grubuna göre %27 azaldığı tespit edilmiştir (48).

Rumen fistüllü koyunlarda rasyona %4 oranında nitrat ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımının Kontrol grubuna göre %23 oranında azaldığı, nitrat ilavesinin methemoglobin düzeyini etkilemediği belirlenmiştir (49). Kuzularda rasyona kuru madde bazında %2.6 oranında nitrat, sülfat ve nitrat+sülfat ilave edilerek yapılan bir çalışmada; metan salınımının aynı sıraya göre %32, 16 ve 47 oranında azaldığı tespit edilmiştir (50). Aynı çalışmada nitrat ilavesinin; metanojenik mikroorganizma sayısını azalttığı, hemoglobinin % 7'sini methemoglobine dönüştürdüğü bu oranın nitrat+sülfat grubunda %2 olduğu tespit edilmiştir.

Metan inhibitörü olarak üzerinde durulan maddelerden birisi de bromklorometandır. Bu madde ile yapılan çalışmalarda metan üretiminin azaldığı tespit edilmiştir (51-52).

Metan inhibitörü olarak kullanılan diğer bileşikler 2-bromoetan sülfonik asit (BES) ve 3-bromopropan sülfonik asittir (BPS). Bu bileşiklerden BES metanojenik bakterileri baskılayarak metan

oluşumunu azaltmaktadır. Ancak metanojenik bakterilerin kısa sürede bu bileşiğe direnç geliştirdiği, dolayısıyla etkisinin kısa sürdüğü bildirilmiştir (53). Direkt metan inhibitörleri arasında en iyi sonuçları BES verirken bu inhibitörün en büyük avantajı direkt metanojen inhibitörü olması ve diğer bakteriler üzerine herhangi bir zarar vermemesidir (33).

Mevastatin ve lavastatin gibi statin grubu maddelerin 3-hidroksi 3-metilglutaril CoA (HMG-CoA) reduktaz enzimi inhibitörleri olduğu ve rumende metan oluşumunu azalttıkları bildirilmektedir (54).

Metan inhibitörü olarak üzerinde durulan maddelerden bir diğeri de kloroformdur. Rumen fistüllü ineklerde rumene günlük 1.5 ml kloroform ilave edilerek yapılan bir çalışmada, metan salınımında ve metanojenlerin sayısında denemenin ilk 5 günü içinde hızlı ve belirgin bir düşüşe sebep olduğu belirlenmiştir (55). Ancak araştırmanın 42. gününe doğru gidildikçe metan oluşumunda yavaş yavaş artış olduğu, çalışmanın 42. gününde çalışma öncesindeki metan üretiminin %62'sine ulaştığı belirlenmiştir. Benzer durum asetat: propiyonat oranında da görülmüştür. Araştırma sonucunda metan salınımı ve metanojenler üzerinde kloroformun kalıcı bir etki göstermediği kanaatine ulaşılmıştır. Amikloral da metan oluşumunu azaltmakta, ancak uzun süreli kullanımında methemoglobinemiyeye sebep olmaktadır (2).

## 2.10. Biyoteknolojik Yöntemlerin Uygulanması

### 2.10.1 Defaunasyon

Rumendeki metanogezisin %9-25'inin protozoolarla ilişkili olduğu belirtilmektedir (56). Rumende protozoa popülasyonunun azaltılmasıyla ruminal metan üretiminin azaltılabileceği düşüncesinden hareketle özellikle saponinler üzerinde durulmaktadır. Saponinler; rumen protozoonlarını öldürerek defaunasyona sebep olmaktadır (57). Defaunasyon yapılan ya da defaunasyon yapıp tekrar fauna edilen fistüllü koyunlarda yapılan bir çalışmada, rasyona günlük 3 g saponin ilavesinin ruminal metan salınımını Kontrol grubuna göre önemli derecede azalttığı belirlenmiştir (58). Bu bildirişten farklı olarak saponin ilavesinin

ruminal metan salınımını etkilmediği yönünde çalışma sonuçları da bulunmaktadır (59,60).

### 2.10.2 Bakteriosinler

Bakteriosinler; bakteriler tarafından üretilen peptit veya protein yapısındaki bileşiklerdir (33) ve metan salınımını azaltıcı etkileri üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Nicin üzerinde en yaygın çalışılan bakteriosinlerden birisidir. Nicin; *Lactococcus lactis* bakterisi tarafından üretilmektedir. *In vitro* şartlarda yapılan iki farklı çalışmada, doğal ve güvenli bir bakteriosin olan nicin ilavesinin metan salınımını %36 oranında azalttığı belirlenmiştir (1,61). Lee ve ark. (62), tarafından *Streptococcus bovis*'ten üretilen bir bakteriosin olan HC5 bovisin ile yapılan *in vitro* bir çalışmada metan üretiminin %50 oranında azaldığı tespit edilmiştir.

### 2.10.3 Immünizasyon

Metanojenik bakterilerden izole edilen antijenlerden elde edilen aşılardan ve rumen protozoonlarına karşı hazırlanan immunolojik preparatlar ruminal metan üretimini azaltabilmektedir (63).

## SONUÇ

Ruminal metan salınımıyla yemlerle alınan enerjinin %2-12'si arasındaki bir kısmı kayba uğramaktadır. Metan sera etkisine sahip bir gaz olduğu için küresel ısınmaya katkı yaparak ekolojik bir problem de oluşturmaktadır. Ruminal metan salınımının azaltılması, söz konusu bu iki olumsuzluğun hafifletilmesine katkı sağlayacaktır.

Ruminal metan salınımının azaltılmasına yönelik hayvan besleme uygulamalarında temel olarak iki ana prensip üzerinden hareket edilmektedir. Bunlar; 1. Rumendeki metanojenik mikroorganizmaların sayısını veya aktivitesini azaltmak, 2. Rumen fermentasyonu sonucu oluşan hidrojenin, metan oluşumuna katılmadan hidrojen içeren diğer bileşiklerin sentezine yönlendirilmesidir.

Ruminal metan salınımının azaltılmasına yönelik yapılan hayvan besleme stratejilerinde; rasyona yağ ilavesi, kaba konsantre yem oranında konsantre yem lehine artış yapılması, yem tüketimi ve yemleme

sıklığının artırılması, probiyotik, iyonofor antibiyotikler, organik asitler, çeşitli tıbbi ve aromatik bitkilerin kendileri ya da bunlardan elde edilen ekstraktlar veya esansiyel yağlar, metan inhibitörleri ve biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması gibi alternatifler üzerinde durulmaktadır. Üzerinde durulan uygulamaların birçoğundan olumlu sonuç alınmakla birlikte, elde edilen etkinin uzun süreli olmaması ve zamanla rumendeki mikroorganizmaların yapılan uygulamaya karşı direnç kazanması, bazı uygulamaları sindirim üzerinde olumsuz etki oluşturması veya organizma için toksik özellikte olması söz konusu uygulamaların pratiğe aktarılmasını güçleştirmektedir.

Yukarıda bahsedilen uygulamalar genel olarak düşünüldüğünde metan salınımının azaltılmasının zor bir işlem olduğu görülmektedir. Konu ile ilgili çalışmalar yoğunlaşarak devam etmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Hegarty RS., Klieve AV., 1999. Opportunities for biological control of ruminal methanogenesis. Aust J Agric Res, 50, 1315-1320.
2. Moss A., Jouany JP., Newbold J., 2000. Methane production by ruminants: Its contribution to global warming. Ann Zootech, 49, 231-253.
3. Görgülü M., Darcan NK., Karakök SG., 2009. Hayvancılık ve Küresel Isınma. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi 30 Eylül-3 Ekim 2009 Çorlu, Tekirdağ.
4. Johnson KA., Johnson DE., 1995. Methane emissions from cattle. J Anim Sci, 73, 2483-2492.
5. McAllister TA., Okine EK., Mathison GW., Cheng KJ., 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. Can J Anim Sci, 76, 231-243.
6. Türkiye Cumhuriyeti Resmi Gazetesi, 13.05.2009 tarih ve 27227 sayılı nüshası.
7. IPCC., 2001. Intergovernmental Panel on Climate Change. Climate Change: Synthesis report. A contribution of Working Groups I, II and III to the third assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge Univ Press, Cambridge, UK.
8. Akçil E., Denek N., 2013. Farklı seviyelerde

- okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının bazı kaba yemlerin *in vitro* metan gazı üretimi üzerine etkisinin araştırılması. Harran Üniv Vet Fak Derg, 2, 75-81.
9. Dohme F., Machmüller A., Wasserfallen A., Kreuzer M., 2000. Comparative efficiency of various fats rich in medium chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. Can J Anim Sci, 80, 473-482.
  10. McGinn SM., Beauchemin KA., Coates T., Colombatto D., 2004. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. J Anim Sci, 82, 3346-3356.
  11. Giger-Reverdin S., Morand-Fehr P., Tan G., 2003. Literature survey of the influence of dietary fat composition on methane production in dairy cattle. Livest Prod Sci, 82, 73-79.
  12. Martin C., Morgavi DP., Doreau M., Jouany JP., 2006. Comment reduire la production de methane chez les ruminants? Fourrages, 187, 283-300.
  13. Blaxter KL., Czerkawsky J., 1966. Modification of the methane production of the sheep by supplementation of its diet. J Sci Food Agric, 17, 417-421.
  14. Soliva CR., Meile L., Cieslak A., Kreuzer M., Machmüller A., 2004. Rumen simulation technique study on the interactions of dietary lauric and myristic acid supplementation in suppressing ruminal methanogenesis. Br J Nutr, 92, 689-700.
  15. Odongo NE., Or-Rashid MM., Kebreab E., France J., McBride BW., 2007. Effect of supplementing myristic acid in dairy cow rations on ruminal methanogenesis and fatty acid profile in milk. J Dairy Sci, 90, 1851-1858.
  16. Martin C., Rouel J., Jouany JP., Doreau M., Chilliard Y., 2008. Methane output and diet digestibility in response to feeding dairy cows crude linseed, extruded linseed, or linseed oil. J Anim Sci, 86, 2642-2650.
  17. Johnson KA., Kincaid RL., Westberg HH., Gasking CT., Lamb BK., Cronth JD., 2002. The effect of oilseeds in diets of lactating cows on milk production and methane emissions. J Anim Sci, 85, 1509-1515.
  18. Kim ET., Park CG., Lim DH., Kwon EG., Ki KS., Kim SB., Moon YH., Shin NH., Lee SS., 2014. Effects of coconut materials on *in vitro* ruminal methanogenesis and fermentation characteristics. Asian-Aust J Anim Sci, 27, 1721-1725.
  19. Blanco C., Bodas R., Prieto N., Moran L., Andres S., Lopez S., Giraldez FJ., 2012. Vegetable oil soapstocks reduce methane production and modify ruminal fermentation. Anim Feed Sci Technol, 176, 40-46.
  20. Lovett D., Lovell S., Stack L., Callan J., Finlay M., Conolly J., O'Mara FP., 2003. Effect of forage/concentrate ratio and dietary coconut oil level on methane output and performance of finishing beef heifers. Livest Prod Sci, 84, 135-146.
  21. Broudicou L., Lassalas B., 1991. Linseed oil supplementation of the diet of sheep: Effect on the *in vitro* fermentation of amino acids and proteins by rumen microorganisms. Anim Feed Sci Technol, 33, 161-171.
  22. Machmüller A., Kreuzer M., 1999. Methane suppression by coconut oil and associated effects on nutrient and energy balance in sheep. Can J Anim Sci, 79, 65-72.
  23. Lana RP., Russell JB., Van Amburg ME., 1998. The role of pH in regulating methane and ammonia production. J Anim Sci, 76, 2190-2196.
  24. van Kessel JAS., Russell JB., 1996. The effect of pH on ruminal methanogenesis. FEMS Microbiol Ecol, 20, 205-210.
  25. Moate PJ., Williams SRO., Torok VA., Hannah MC., Ribaux BE., Tavendale MH., Eckard RJ., Jacobs JL., Auld MJ., Wales WJ., 2014. Grape marc reduces methane emissions when fed to dairy cows. J Dairy Sci, 97, 5073-5087.
  26. Popova M., Martin C., Eugène M., Mialon MM., Doreau M., Morgavi DP., 2011. Effect of fibre- and starch-rich finishing diets on methanogenic archaea diversity and activity in the rumen of feedlot bulls. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 113-121.
  27. Christophersen CT., Wright ADG., Vercoe PE.,

2008. *In vitro* methane emission and acetate: propionate ratio are decreased when artificial stimulation of the rumen wall is combined with increasing grain diets in sheep. *J Anim Sci*, 86, 384-389.
28. Blaxter KL., 1967. *Metabolism of Ruminants*. Hutchinson and Co. Ltd, London, UK.
29. Boadi D., Benchaar C., Chiquette J., Masse D., 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: Update review. *Can J Anim Sci*, 84, 319-335.
30. Mutsvangwa T., Edwards IE., Topps JH., Paterson GFM., 1992. The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensively fed bulls. *Anim Prod*, 55, 35-40.
31. Chaucheyras F., Fonty G., Bertin G., Gouet P., 1995. *In vitro* H<sub>2</sub> utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*, 61, 3466-3467.
32. Paul SS., Deb SM., Singh D., 2011. Isolation and characterization of novel sulphate-reducing *Fusobacterium* sp. and their effects on *in vitro* methane emission and digestion of wheat straw by rumen fluid. *Anim Feed Sci Tech*, 166-167, 132-140.
33. Meral Y., Biricik H., 2013. Ruminantlarda metan emisyonunu azaltmak için kullanılan besleme yöntemleri. VII. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 26-27 Eylül 2013, Ankara.
34. Sauer FD., Fellner V., Kinsman R., Kramer JK., Jackson HA., Lee AJ., Chen S., 1998. Methane output and lactation response in Holstein cattle with monensin or unsaturated fat added to the diet. *J Anim Sci*, 76, 906-914.
35. Asanuma NM., Iwamoto M., Hino T., 1999. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganism *in vitro*. *J Anim Sci*, 82, 780-787.
36. Wallece RJ., Wood TA., Rowe A., Price J., Yanez DR., Williams SR., Newbold CJ., 2006. In *Greenhouse Gases and Animal Agriculture : An Update*. (Ed. Soliva, CR., Takahashi J., Kreuzer M.) 148-151 (Elsevier International Congress Series 1293, Amsterdam, The Netherland).
37. Goel G., Makkar HPS., 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, a status review. *Trop Anim Health Prod*, 44, 729-739.
38. Woodward SL., Waghorn GC., Ulyatt MJ., Lassey KR., 2001. Early indications that feeding lotus will reduce methane emissions from ruminants. In: *Proceedings of The New Zealand Society of Anim Produc. ACIAR*, Adelaide, 23-26.
39. Tana HY., Sieoa CC., Abdullaha N., Lianga JB., Huang X.D., Ho YW., 2011. Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa *in vitro*. *Anim Feed Sci Tech*, 169, 185-193.
40. Pellikaan WF., Strigano E., Leenaars J., Bongers DJGM., van Laar-van Schuppen S., Plant J., Mueller-Harvey L., 2011. Evaluating effects of tannins on extent and rate of *in vitro* gas and CH<sub>4</sub> production using an automated pressure evaluation system (APES). *Anim Feed Sci Tech*, 166-167, 377-390.
41. Hassanat F., Benchaar C., 2013. Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production *in vitro*. *J Sci Food Agric*, 93, 332-339.
42. Hosoda K., Nishida T., Park WY., Eruden B., 2005. Influence of *Mentha piperita* L. (peppermint) supplementation on nutrient digestibility and energy metabolism in lactating dairy cows. *Asian-Austr J Anim Sci*, 18, 1721-1726.
43. Agarwal N., Shekhar C., Kumar R., Chaudhary LC., Kamra DN., 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol*, 148, 321-327.
44. Evans JD., Martin SA., 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340.
45. Canbolat Ö., Kalkan H., Karaman Ş., Filya İ., 2011. Esansiyel yağların sindirim, rumen



- fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 17, 557-565.
46. Klevenhusen F., Zeitz JO., Duval S., Kreuzer M., Soliva CR., 2011. Garlic oil and its principal component diallyl disulfide fail to mitigate methane, but improve digestibility in sheep. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 356-363.
47. van Zijderveld SM., Gerrits WJJ., Dijkstra J., Newbold JR., Hulshof RBA., Perdok HB., 2011. Persistency of methane mitigation by dietary nitrate supplementation in dairy cows. J Dairy Sci, 94, 4028-4038.
48. Hulshof RBA., Berndt A., Gerrits WJJ., Dijkstra J., van Zijderveld SM., Newbold JR., Perdok HB., 2012. Dietary nitrate supplementation reduces methane emission in beef cattle fed sugarcane-based diets. J Anim Sci, 90, 2317-2323.
49. Nolan JV., Hegarty RS., Hegarty J., Godwin IR., Woodgate R., 2010. Effects of dietary nitrate on fermentation, methane production and digesta kinetics in sheep. Anim Produc Sci, 50, 801-806.
50. van Zijderveld SM., Gerrits WJJ., Apajalahti JA., Newbold JR., Dijkstra J., Leng RA., Perdok HB., 2010. Nitrate and sulfate: Effective alternative hydrogen sinks for mitigation of ruminal methane production in sheep. J Dairy Sci, 93, 5856-5866.
51. Shima S., Warkentin E., Thauer RK., Ermler U., 2002. Structure and function of enzymes involved in the methanogenic pathway utilizing carbon dioxide and molecular hydrogen. J Biosci Bioeng, 93, 519-530.
52. Zheming Z., Qingxiang M., Zhongtang Y., 2011. Effects of methanogenic inhibitors on methane production and abundances of methanogens and cellulolytic bacteria *in vitro* ruminal cultures. Appl Environ Microbiol, 77, 2634-2639.
53. Imming I., 1996. The rumen and hindgut as source of ruminant methanogenesis. Envir Monit Assess, 42, 57-72.
54. Miller TL., Wolin MJ., 2001. Inhibition of growth of methane-producing bacteria of the ruminant forestomach by hydroxymethylglutaryl-SCoA reductase inhibitors. J Dairy Sci, 84, 1445-1448.
55. Knight T., Rominus RS., Dey D., ToOtil C., Naylor G., Evans P., Molano G., Smith A., Tavendale M., Pinares-Patino CS., Clark H., 2011. Chloroform decreases rumen methanogenesis and methanogen populations without altering rumen function in cattle. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 101-112.
56. Newbold CJ., Lassalas B., Jouany JP., 1995. The importance of methanogenesis associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. Lett Appl Microbiol, 21, 230-234.
57. Eryavuz A., Dehority BA., 2004. Effect of *Yucca schidigera* extract on the concentration of rumen microorganisms in sheep. Anim Feed Sci Tech, 117, 215-222.
58. Zhou YY., Mao HL., Jiang F., Wang JK., Liu JX., McSweeney CS., 2011. Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep. Anim Feed Sci Tech, 166-167, 93-100.
59. Yuan ZP., Zhang CM., Zhou L., Zou CX., Guo YQ., Li WT., Liu JX., Wu YM., 2007. Inhibition of methanogenesis by tea saponin and tea saponin plus disodium fumarate in sheep. J Anim Feed Sci, 7 (Suppl. 2), 560-565.
60. Guo YQ., Liu JX., Lu Y., Zhu WY., Denman SE., McSweeney CS., 2008. Effect of tea saponin on methanogenesis, microbial community structure and expression of *mcrA* gene, in cultures of rumen micro-organisms. Lett Appl Microbiol, 47, 421-426.
61. Callaway TR., Carneiro De Melo AMS., Russell JB., 1997. The effect of nisin and monensin on ruminal fermentation *in vitro*. Curr Microbiol, 35, 90-96.
62. Lee SS., Hsu JT., Mantovani HC., Russell JB., 2002. The effect of bovicin HC5, a bacteriocin from streptococcus bovis HC5, on ruminal methane production *in vitro*. FEMS Microbiol Lett, 217, 51-55.
63. Ulyatt MJ., Lassey KR., 2001. Methane emission from pastoral system: The situation in New Zealand, Arc Latinoam Prod Anim, 9, 118-126.





## Sığırlarda Eklem Hastalıklarının Tanısında Ultrasonografik Muayene\*

Nezihe GÖKHAN<sup>1</sup>✉

1 Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane MYO, Gümüşhane, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
12.08.2016	03.04.2017	20.12.2017

**Öz:** Ultrasonografi veteriner hekimlikte birçok sistemde hastalıkların tanısında kullanılmaktadır. Özellikle son dönemlerde veteriner eğitim hastanelerinde sığırların ekstremitelerde bozukluklarında tanı amacıyla rutin uygulanan görüntüleme yöntemlerinden biridir. Eklemlerin ultrasonografisi için en sık 5.0-7.5 MHz'lik linear veya convex probalar kullanılmaktadır. Hasta ve hekim açısından tehlike oluşturmaması, çabuk ve kolay uygulanması, iyonizan olmaması ve dokulara nüfuz etmemesi ultrasonografinin en önemli avantajlarıdır. Ayrıca, uygulanan sağaltımın etkinliğinin takip ve kontrol edilmesi ile diğer radyolojik yöntemlere göre üstünlüğünü kanıtlamıştır. Ultrasonografi ile artiküler ve periartiküler şişkinlikler muayene edilebilirken, akut ve kronik artritlerin ayırımı yapılabilir. Başlıca dezavantajı ise; uygulayan hekime göre değişen subjektiviteye sahip olmasıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Eklem, Sığır, Ultrasonografi.

## Diagnostic Ultrasound Examination of the Joint Diseases in Cattle

**Abstract:** Ultrasound is used to diagnose a variety of diseases in veterinary medicine. In particular, many veterinary teaching hospitals in the world are routinely used imaging method in limb disorder of cattle. The most common 5.0-7.5 MHz linear or convex ultrasound probes are used for the joints. The most important advantage is the patients and physicians can not create a hazard to, quick and easy to apply, lack ionizing and does not penetrate the tissues. Also, follow the appropriate treatment and control of my activities with other radiological methods has proven its superiority. Articular and periarticular swelling can be examined and made the distinction between chronic and acute arthritis with Ultrasonography. The main disadvantage; according to the physician that it has varying subjectivity.

**Keywords:** Beef, Joint, Ultrasonography.

✉ Nezihe GÖKHAN

Gümüşhane Üniversitesi, Gümüşhane MYO, Gümüşhane, TÜRKİYE.  
e-posta: nezihegokhan@gmail.com

\*Bu çalışma KAÜ Araştırma Fonu (proje no: 2006-VF.12) tarafından desteklenen doktora tezinden alınmıştır.

## GİRİŞ

**S**on yıllarda veteriner hekimlik alanında tanıya yardımcı, zararlı nitelik taşımayan görüntüleme yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yeni yöntemlerin en önemlilerinden biri de kuşkusuz ultrasonografidir.

İnsan hekimliği ve veteriner hekimlikte birçok farklı sistemin hastalıklarının tanısında kullanılan ultrasonografi, eklem hastalıklarının tanısında da büyük öneme sahiptir (1-7). Özellikle dünyadaki birçok veteriner eğitim hastanelerinde sığırların ekstremite bozukluklarında rutin uygulanan görüntüleme yöntemidir (8).

Eklemlerin ultrasonografik muayenesi, operasyon öncesi, eklem lezyonlarının lokalizasyonunun saptanması ve eklem içindeki sıvı miktarının belirlenmesi bakımından büyük önem taşır (9,10). Yüksek sıvı içeriğine sahip anatomik yapılarda daha iyi ultrasonografik görüntü elde edilir (11).

Ultrasonografinin en önemli avantajı; Hasta ve hekim açısından tehlike oluşturmaması, çabuk ve kolay uygulanması, iyonizan olmaması ve dokulara nüfuz etmemesidir. Bununla beraber, uygulanan sağaltımın etkinliğinin takip ve kontrol edilmesi ile diğer radyolojik yöntemlerden üstündür (3,5,12-18). Ultrasonografi ile artiküler şişkinlikler muayene edilebilir. Akut ve kronik artritlerin ayırıcı tanısı yapılabilir (2,6,12). Başlıca dezavantajı ise; uygulayan hekime göre değişen subjektiviteye sahip olmasıdır (12,19).

Ultrasonografi, insan kulağının algılayamadığı yüksek frekanslı ses dalgaları kullanılarak canlı vücudunun görüntülenmesini sağlayan bir tanı yöntemidir (7,12-17). Diagnostik ultrasonografide, insan kulağının algılayamadığı 2-10 MHz arasındaki ses dalgaları kullanılır (13,17,20). Saniyede 20.000 kez devir yapan bu ses dalgalarının her bir devrine "1 Hertz" denir. Transducer (Tarayıcı) adı verilen bu bölümde açığa çıkan bu dalgalar, piezo-elektrik özelliğine sahip kristaller tarafından elektrik enerjisi ile üretilirler (13,15,17).

Ses dalgalarının kemik dokuda yayılma hızı 4000 m/sn, yumuşak dokularda ise 1540 m/sn'dir. Değişik akustik impedanz (direnç) 'daki dokular arasında ve sınır bölgelerde ses dalgaları yansır. Büyük impedanz farkı olan yumuşak doku-hava veya yumuşak doku-kemik ortamlarında ses dalgaları büyük oranda yansıtılırken, çok az bir kısmı vücudun derin kısımlarına geçebilir (13).

Ultrasonografinin temeli detaylı olarak sadece görüntüleme yapmak değil aynı zamanda bu görüntüyü gerektiği şekilde yorumlamaya dayanır (20). Veteriner Hekimlik'te en çok Convex linear-array, Real-time ve B-mode ultrason tarayıcılar kullanılır (1,7,15-17,20). Eklemlerin ultrasonografik muayenesinde incelenen alanın en küçük derinliğini göstermek için, incelenecek bölgeye penetre olan en yüksek frekanslı transduser ile taranması gerekir (7).

Eklemlerin ultrasonografik muayenesi için en sık kullanılan 5.0-7.5 MHz'lik linear veya convex problardır (2,6,7,16,19-22). Ancak, 7.5 MHz'lik tarayıcılar derin dokulara daha az penetre olduklarından daha detaylı bir görüntü verirler (20,23).

Tendo, fasiya, kas ve ligamentlerin muayenesinde en iyi sonuçlar 10-12 MHz'lik transduser kullanılarak elde edilir. Derin dokular için 5.0-7.5 MHz'lik transduserler gereklidir. Orta derinlikteki (7-15 cm) dokular için 5 MHz'lik transduserler, omuz ve kalça eklemi gibi daha derindeki dokuların muayenesinde ise 2.5-3.5 MHz'lik transduserler kullanılır (1,5,19,24,25).

Ultrasonografi için seçilen eklem bölgesi üzerindeki kıllar tıraş edilip yıkanarak temizlendikten sonra, bölgeye temas jeli sürülerek aradaki hava bariyeri giderilmelidir (7,12).

Tanı amacıyla ultrasonografik görüntüler elde etmek, normal ve anormal ultrasono-grafik görüntüleri yorumlamak için iyi bir tanımlayıcı ve topoğrafik anatomi bilgisine sahip olmak gerekir (1,16).

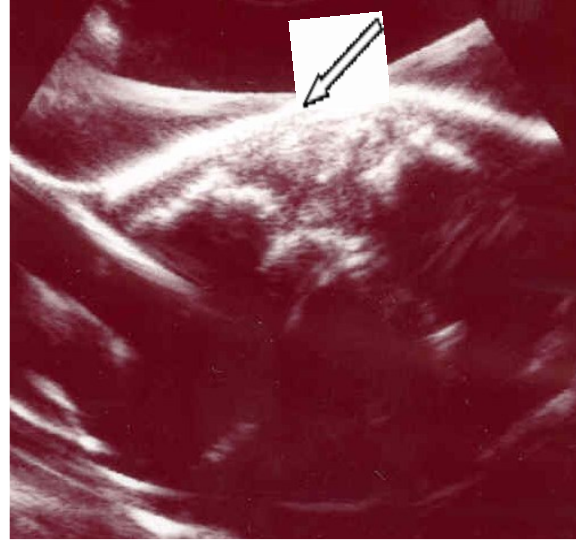
Normal eklem ultrasonografik olarak, ince sinovyal membranla sınırlanır ve daha kalın ekojenik eklem kapsulasıyla sarılır (7).

### 1. Eklem Kapsulası ve İntraartiküler Yapıların Ultrasonografik Muayenesi

Ultrasonografik muayene ile genel olarak, eklem kapsulasını açık bir şekilde görüntülemek zordur (1). Ancak, sinovyal mebranın dış hattı fibröz ekojenik yapıda görüntülenebilir (1,7,16). Topuk eklemine dorsal taraftan taranmasında kapsula, metakarpal kondilusların üzerinde şekillenmiş kalın ekojenik bir yapı olarak görüntülenir (1,16). Sağlıklı eklem kapsulası, eklem yüzeyine yakın ince ekoik bir yapıyı kapsar (8). Topuk eklemi kapsulasının dorsalinde bulunan yaralar, kalınlaşan diffuz ya da fokal hipoekojenik görülür (1). Artiküler kapsula rupturu karpal eklem dorsal yüzeyinde belirlenebilmektedir. Bu lezyon ekojenik kapsül içerisinde hipoekoik bir boşluk ile subkutanöz doku içerisinde ve yaygın digital ekstensor tendon kesesinde veya ekstensor karpal radialis tendosunda sıvı birikimini gösterir (1).

Artritris ya da sepsisle ilişkili olarak şekillenen küçük eklemlerdeki eklem effüzyonları bile ultrasonografik olarak görüntülenebilir. Sinovyal membranın hipertrofisi (örneğin; villonodüler sinovitis) ultrasonografik olarak hafif ekojenik yumuşak doku kütlesi olarak tanımlanabilir (21). Akut sinovitiste ultrasonografik olarak, sinovyal membranda kalınlaşma, sinovyal kıvrım ile villi'lerde ödem ve sinovyal sıvı effüzyonu görülür (16). Kronik proliferatif sinovitiste sinovyal membranın belirgin olarak kalınlaşması görülür. Eklem kapsülünün kalınlaşması sıklıkla eklem yaralanmalarından kaynaklanır (Şekil 1). Eklem kapsulası başlangıçta hemoraji ve ödemden dolayı normalden daha hipoekoik görülebilir. Sonra eklem kapsülü fibrozisten dolayı daha ekojenik görülebilir (7).

Sinovyal membranın yüzeysel boşluklarının muayenesinde 10 MHz'lik prob yeterlidir. Ancak, daha derin kısımları muayene edilecekse 5-7.5 MHz'lik prob gereklidir. Sinovyal sıvı varlığında, sinovyal membran kolaylıkla muayene edilebilir, aksi taktirde görüntülenmesi zordur (16).



**Şekil 1.** Eklem kapsulasında kalınlaşma, düzensizlik ve hiperekoik görünüm.

**Figure 1.** Thickening, irregularity and hyperechoic appearance in joint capsule

### 2. Eklem Kıkırdağının Ultrasonografik Muayenesi

Eklem kıkırdağının görüntülenmesi ve değerlendirilmesinde 7.5-10 MHz'lik lineer prob kullanılır. Kıkırdağın güvenilir görüntülerini elde etmek için transduserlerin artiküler yüzeye dik uygulanması gerekir. Anekoik bir kenar gösteren kıkırdak bölgelerinin altında kalan artiküler kıkırdak yüzeyi düz bir ekoik hat olarak görülür (1,25). Kıkırdak veya subkondral kemikteki düzensizlikleri görebilmek için eklem fleksiyon ve ekstensiyon hareketleri yaptırmak işlemi kolaylaştırır (26).

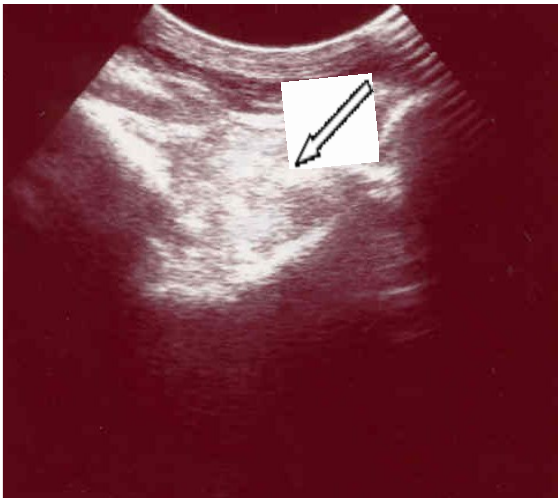
Eklem kıkırdağı kemik yüzeyinde keskin bir şekilde belirli bir hipoekoik çerçeve oluşturur. Artiküler kıkırdak yüzeyi normalde düzgündür ve altındaki kemiğin yüzeyinde görülür. Buzağılarda artiküler kıkırdak yetişkinlerinkinden daha kalındır (21). Dejeneratif yangısal eklem yıkımlanması ve travma sonucu oluşan patolojik değişiklikler (kıkırdakta incelleme ve kıkırdak kaybı), kıkırdak kenarlarının düzensizliği ve yırtılması gibi farklı bir ekojeniteyi kapsar. Artiküler kıkırdak düzensizliği osteokondritis dissekans'ta da bildirilmiştir (21). Subkondral kemik yüzeyi kıkırdağın altında uzanan düzenli bir hiperekoik hat olarak görülür. Bu hiperekoik hat, eğer transduser artiküler yüzeye dikse daha ince ve daha düzenlidir. Subkondral

kemiğin anormal ultrasonografik bulguları; düzensiz yüzey, değişmiş ekojenite ve yıkımlanmaları içerir (1,16).

Artiküler sınırların kemik yüzeyleri, ultrasonografik değerlendirmede keskin ve düzenli hiperekoik bir hat olarak görülebilir. Osteofitlerin varlığında, artiküler kenarların hiperekoik hattı girintili ve çıkıntılı, anekoik eklem boşluğu azalmış görülür. Periartiküler osteolizis olduğunda bir ya da her iki zıt artiküler kenarlarda bir defekt tanımlanabilir. Periartiküler kemik fragmentleri akustik gölgeler gösteren hiperekoik materyal olarak görüntülenir (1). Ultrasonografinin dezavantajı, eklem kırığının tamamının değerlendirilmesinin mümkün olmamasıdır (26).

### 3. Sinovyal Sıvının Ultrasonografik Muayenesi

Eğer sinovyal sıvı ekojenikse sıvı birikiminin belirlenmesi zordur. Sinovyal sıvının homojen ekojenik görünümü, hemartrozis veya septik artritiste doku birikintileriyle meydana geldiği gibi hücresel artışla uyarılabilir. Sinovyal sıvı içerisinde farklı miktarlardaki ekojenik materyal fibrin pıhtılarını ya da doku kalıntılarını gösterir (Şekil 2). Ultrasonografik muayene süresince serbest kalsifiye cisimler tanımlanabilir (1,16). Sinovyal sıvı içerisinde saçaklanma tarzındaki hipoekoik görünüm ya da sıvının total olarak ekojenik görülmesi septik artritisin belirtisidir (7).



**Şekil 2.** Sinovyal sıvının kazeifikasyondan dolayı hiperkoik görünümü

**Figure 2.** Hyperechoic appearance due to calcification of synovial fluid

Sığırlarda sinovyal boşlukların septik bozuklukları sıklıkla meydana gelir. Travmatik artrit, genellikle kollateral ligamentlerin yırtılması, eklem kapsulasının luksasyon ya da subluksasyonu ile ilişkilidir. Sinovyal effüzyon erken dönemlerde bile Ultrasonografi kullanılarak güvenli bir şekilde belirlenebilir (8). Hastalıklı sinovyal boşluk, artiküler yüzeylerden belirgin bir şekilde geçen ince ekoik kapsül ile orta ya da şiddetli bir şekilde dilate olmuş görülür. Effüzyon aralığındaki ekojenite effüzyonun niteliğine bağlı olarak (seröz, seröfibrinöz, fibrinöz, purulent) ekoikten anekoik kadar değişir. Anekoik veya hipoekoik içerik, genellikle ekoik olan sinovyal boşluğu çevreleyen dokulardan farklılık gösterir (8). Sıvı içerik anekoik sıvıda yüzüyormuş gibi görünen pıhtılar ya da anekoik parçacıkların küçük ve büyük hipoekojenitesiyle karakterize olan akış fenomenine bakılarak tanımlanabilir.

Travma sonrası eklem boşluğundaki taze kan (hemartroz) sadece birkaç dakika eski bir hematoma benzer şekilde homojen anekoik görülür. Daha sonra hastalık sürecinde Ultrasonografik görünümü, iyi sınırlanmayan anekoik alanlar ile heterojen hipoekoik kitlelerle karakterize koagüle kana benzer şekildedir (8).

Eklemleri şişkin olan sığırlarda ayırıcı tanı aynı zamanda tenosinovitis, hematoma, seroma, periartiküler apse ve ödemi de kapsar. Artiküler yapılarla ilgisi olmayan periartiküler bozukluklarda, eklem kesesi normal görünür, sıvı birikimi ise tamamen ekstraartikülerdir (8).

### 4. Eklemlerin Ultrasonografik Muayenesi

**Humeral Eklem (Omuz eklemi):** Sığır omuz eklemine diagnostik ultrasonografik muayenesi daha çok septik ve travmatik bozukluklar sonucunda sinovyal sıvıda meydana gelebilecek değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla yapılır (6).

Omuz eklemine ve çevresindeki dokuların ultrasonografik muayenesinin en iyi sonuçları 10 MHz'den yüksek frekansla çalışan lineer prob ile alınır. Konveks prob, daha derinde yer alan ve aksillar bölge gibi kıvrımlı bir yüzeye sahip bölgelerin

görüntülenmesini kolaylaştırmak amacıyla kullanılırlar (27).

Fizyolojik durumlarda scapulo-humeral eklem kapsulası longitudinal ultrasonografik muayenede sadece eklem boşluğu düzeyinde, kısmen çok küçük bir anekoik bölge olarak görüntülenir (6). Omuz eklemine ince zayıf eklem kapsulası en iyi lateral ve kaudolateral olarak görüntülenir (7). Ekojenik eklem kapsulası daha çok triangular ve anekoik olarak görülür. Artritis olgularında omuz eklemine şişkinlik şekillendiği için ultrasonografik muayene kolaylıkla yapılır (7).

**Cubiti Eklemi (Dirsek eklemi):** Dirsek eklemi ince sinovyal mebranla sınırlanır ve daha kalın ekojenik eklem kapsulasıyla çevrelenir. Dirsek eklemine ultrasonografik muayenesi için lineer 5.0-10 MHz'lik probalar kullanılır (27). Dirsek eklemine sinovyal sıvı genellikle ultrasonografik olarak görüntülenemez. Humeral trohlea'nın artiküler kıkırdağı, distal biceps brachii tendosu ile humeral trohlea arasında ince bir anekoik yüzey olarak görülür (7,24).

**Carpal Eklem (Bilek eklemi):** Karpal eklem ultrasonografik muayenesi için 7.5 MHz'lik linear transduser kullanılır (5,24). Genellikle proksimalden distale doğru muayene edilir (27). Karpus'un palmardan ultrasonografik muayenesinde eklem keseleri küçük, içi sıvı dolu anekoik bölgeler olarak görüntülenir. Dorsal keseler tanımlanamaz, sadece eklem yüzeyleri düzeyinde çok küçük, triangular anekoik bölgeler olarak görülür. Eklem kapsulası ve kapsular yağlar heterojen ekojenik olarak görülür ve dorsal olarak artiküler kemik yüzeyi ile birleşiktir. Kapsula/konnektif doku ara yüzeyini tanımlamak zordur (5,7).

Sağlıklı sığırlarda karpal eklem kesesinin ultrasonografik görüntülenmesi, sinovyal effüzyonun varlığında endikedir (5).

**Metacarpo-metatarsophalangeal Eklem (Topuk Eklemi):** Topuk eklemi 7.5-14 MHz'lik transduserler kullanılarak muayene edilir. Topuk eklemi kapsulası'nın dorsal bölümü kalınlık bakımından çeşitlilik gösterir. Anekoik eklem sıvısının çok küçük bir miktarı, eklemelerin her ikisinde de proksimopalmar veya proksimoplantarda normal olarak görüntülenir. Metakarpal kondilusların dorsal

görünümünde artiküler kapsulanın hipoekoik veya ekojenik kalınlaşması genellikle asimetriktir. Akut villonodüler sinovitis'te, kalınlaşmış dorsal sinovyal plika bulunur ve bu plika diffuz hipoekoik olarak görülür. Kronik villonodüler sinovitis'te ise ekojenite gittikçe artar. Eklem kapsulası'nda akustik gölgeye neden olan hiperekoik bölgeler görüntülenir (7).

**Coxo-femoral Eklem (Kalça eklemi):** Buzağılarda kalça eklemine ultrasonografisinde yüksek rezolüsyonlu (8-10 MHz) lineer prob kullanılması önerilir (27). Ancak yetişkin sığırlarda, coxo-femoral eklem ultrasonografik muayenesinde 3.5 MHz'lik konveks transduser kullanılır. Genellikle deri yüzeyinden 12-18 cm uzaklıktaki yapıları daha iyi gösterir (8).

Femur'un trohanter major'u ve acetabulum'un dış kısmı ultrasonografik olarak görüntülenebilir. Ancak, daha derin kısımları görüntülenemez (7). Femurun eklem kıkırdağı homojen hipoekoik olarak görülür. Kıkırdağın altındaki kemik pürüzsüz ve düzenli görülür (23).

**Genu Eklemi:** Genu eklemine ultrasonografik muayenesi için 7.5 MHz'lik linear veya konveks ya da 5 MHz'lik transduserler kullanılır (7,22). Patella, femur ve tibia'nın kemik yüzeyleri distal olarak akustik gölgelenme gösteren, hiperekoik bir çizgi ile çevrelenmiş olarak görüntülenir. Eklem boşlukları en iyi longitudinal düzlemde görülür. Femoral ve tibial kemik yüzeylerini şekillendiren huni şeklindeki boşlukların içerisi triangular meniskler tarafından doldurulur. Femoro-patellar eklem yüzeyi, medial ve lateral trohlear kondilusları ve intertrohlear sulkuslarla şekillendirilirken ince bir anekoik artiküler kıkırdak tabakasıyla kaplanır. Artiküler kıkırdak en iyi transversal ve longitudinal düzlemde görülür (21,22). Uzun ve kalın sinovyal villi'ler femoropatellar eklem medial boşluğunda görüntülenir (7).

**Tarsocrural Eklem (Tarsal eklemi):** Tarsal eklem ultrasonografik muayenesi için 7.5 MHz'lik linear ya da 5 MHz'lik sektör transduserler kullanılır (24). Bu eklem dorsalomedial kompartımanları üzerindeki eklem kapsülü ultrasonografik olarak kolaylıkla görüntülenir. Tibia'nın medial malleolus'u altından hemen görüntülenene geniş bir dorsalomedial boşluk vardır (7). Diğer sinovyal keseler gibi, tarsal

kese içerisindeki sıvı birikiminin ultrasonografik görünümü sıvının karakterine bağlıdır. Sinovyal effüzyon genellikle anekoik olarak görülür. Hipoekoik fibrin ve kalınlaşmış sinovyum sinovitis'te görülür (7).

## SONUÇ

Ultrasonografi pratikte sığırlarda kas-iskelet sisteminin yumuşak doku yapılarının hızlı ve noninvaziv bir görüntüleme yöntemidir (8). Sığırlarda normal sinovyal boşluklardaki sinovyal sıvının fizyolojik miktarı ultrasonografi ile görüntülenemez. Bununla beraber effüzyonun görüntülenmesi kolaydır ve genellikle inflamatuvar bir süreç olduğunu gösterir (8).

Ultrasonografi ile effüzyon miktarının artışına ve sinovyal kesenin gerginliğine göre sinovyal boşluklardaki yangının erken dönemde tanısı yapılır. Ultrasonografi yumuşak dokuları etkileyen durumların tanısında radyografiden üstündür. Ancak radyografi halen kırık, çıkık ve osteomyelitis gibi kemik lezyonlarının değerlendirilmesinde tercih edilen yöntem olmaya devam etmektedir (8).

## KAYNAKLAR

1. Denoix J-M., Busoni V., 1998. Ultrasonography of Joints and Synovia. In "Current Techniques in Equine Surgery and Lameness", Eds., White NA., Moore JN., 643-654, WB Saunders Co, Philadelphia.
2. Farrow CS., 1996. Musculoskeletal System. In "Small Animal Ultrasound", Ed., Green RW., 335-351, Lippincott-Raven, Philadelphia - New York.
3. Kaya M., Seyrek-İntaş D., Kahraman MM., Aytuğ N., Çelimli N., 2002. Veteriner cerrahide girişimci ultrasonografi. Vet Cer Derg, 8, 11-19.
4. Kofler J., 1995. Septic arthritis of the pastern in cattle, clinical, radiological and sonographic findings and treatment. Berl Munch Tierarztl wochenschr, 108, 218-219.
5. Kofler J., 2000. Ultrasonographic examination of the carpal region in cattle-normal appearance. Vet J, 159, 85-96.
6. Martinek BA., Grubelnik M., Kofler J., 2007. Ultrasonographic examination of important aspects of the bovine shoulder-physiological findings. The Veterinary Journal, 173, 317-324.
7. Reef VB., Whittier M., Alam LG., 2004. Joint ultrasonography. Clin Tech Equine Pract, 3, 256-267.
8. Kofler J., Geissbühler U., Steiner A., 2014. Diagnostic imaging in bovine orthopedics. In "Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice", Eds., Anderson DE., Desrochers A., Vol 30, Issue 1., 11-53.
9. Alkan Z., 1999. İskelet sistemi. In "Veteriner Radyoloji ", Ed., Alkan Z., 275-298, Mina ajans Matbaacılık, VI. Baskı, Ankara.
10. Exsell P., Uhlhorn H., Carlsten J., 1999. Evaluation of different projections for radiographic detection of tarsal degenerative joint disease in Icelandic horses. Vet Radiol Ultrasound, 40, 228-232.
11. Cecen G., Salci H., Intas DS., Celimli N., Caliskan GU., 2015. Ultrasonographic and macroscopic comparison of the thickness of the capsule, corium, and soft tissues in bovine claws: an in vitro study. J Vet Sci, 16, 107-112.
12. Alkan Z., Salih M., Bumin A., Sarierler M., 1995. Atlarda fleksör tendoların ultrasonografik muayenesi. Veteriner Cerrahi Dergisi, 1, 31-35.
13. Bilal T., 2003. Veteriner Ultrasonografi. İstanbul Üniv Vet Fak yayınları, 1-15, İstanbul.
14. Canpolat İ., 1996. Köpek ve kedilerde böbreklerin ultrasonografik anatomisi. Tr J of Veterinary and Animal Sciences, 20, 419-423.
15. Cartee RE., Hudson JA., Finn-Bodner S., 1993. Ultrasonography. Vet Clin North A: Small Anim Pract, 23, 345-377.
16. Denoix J-M., 1996. Ultrasonographic examination in the diagnosis of joint disease. In "Joint Disease in the Horse", Eds., McIlwraith CW., Trotter GW., 165-202, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
17. Herring DS., Bjornton G., 1985. Physics, facts and artifacts of diagnostik ultrasound. In, Vet Clin North A: Small Anim Pract, 15, 1107-1113.
18. Kofler J., 2006. Diagnostic ultrasonography in animals-continuation of the clinical examination. Vet J, 171, 393-395.
19. Nuss K., 2007. Ultrasonography of musculoskeletal disorders in cattle: A practical



- tool for veterinary surgeons. *Vet J*, 173, 239-240.
20. Fricke PM., 2002. Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85, 1918-1926.
21. Craychee TJ., 1995. Ultrasonographic Evaluation of Equine Musculoskeletal Injury. In "Veterinary Diagnostic Ultrasound", Eds., Nyland TG, Matton JS., 297-303, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
22. Kofler J., 1999. Ultrasonographic examination of the stifle region in cattle-normal appearance. *Vet J*, 158, 21-32.
23. Rottensteiner U., Palm F., Kofler J., 2012. Ultrasonographic evaluation of the coxofemoral joint region in young foals. *Vet J*, 191, 193-198.
24. Kofler J., 1996. Arthrosonography-the use of diagnostic ultrasound in septic and traumatic arthritis in cattle a retrospective study of 25 patients. *Br Vet J*, 152, 683-698.
25. Park RD., Steyn PF., Wrigley RH., 1996. Imaging techniques in the diagnosis of equine joint disease. In "Joint Disease in the Horse", Eds., McIlwraith CW., Trotter GW., 145-164, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
26. Nichols S., Larde H., 2014. Noninfectious Joint Disease in cattle. In "Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice ", Eds., Anderson DE., Desrochers A P., 205-223.
27. Kramer M., Anjou MA., 2013. İskelet kas sistemi. In "Küçük hayvan ultrasonografi atlası. (Türkçe çeviri editörü: Seyrek-İntaş D.)" Eds., Penninck D, Anjou MA p. 465-495, Medipress.Matbaacılık Ltd. Şti. Malatya.

## YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.

2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç Hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootekni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyostatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootekni), Hayvansal Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Egzotik Hayvanlar Bilimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve davetli veya editörün onayı alınmış derlemeler yayımlanır.

3. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanması amacıyla gönderilen makale ile ilgili olarak; yazarlar gerekli olan etik kurulu onayı aldıkları kurum ve onay numarasını makalenin Materyal ve Metot kısmına yazmalıdırlar. Yayın kurulu eğer isterse etik kurul onay belgesini isteyebilir.

4. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.

5. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na belirtilen "İhbarı Mecburi Hastalıklar" ile ilgili makalelerin değerlendirmeye alınabilmesi için T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınmış izin yazısının Dergi Editörlüğüne sunulması zorunludur.

6. Makaleler değerlendirme için en az iki hakeme gönderilir. Makalenin yayına kabulü, hakemlerin ve dergi editörlüğünün kararına bağlıdır.

7. Sorumlu yazar Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisine yayımlanmak üzere göndereceği makale ile birlikte "**Makale Kontrol Formu**"nu da göndermek zorundadır.

8. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne ulaşan makale ve makale kontrol formu, dergi editörlüğünce ön değerlendirmeye tabi tutulur. Editörlük, ön değerlendirme sonucuna göre makaleyi reddetme veya hakem değerlendirmesine tabi tutmadan önce düzeltme isteme hakkına sahiptir.

## MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal

bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.

2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha st versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.

3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna st simge olarak \* işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Tablo ve Şekiller:** Tablo ve Şekiller ana dökümandan ayrı olarak gönderilmelidir. Tablolar Dikey sayfa olanlar genişlik 7 cm’ye sığacak şekilde en fazla 35 satır, yatay sayfaya 15 cm’ye sığacak şekilde en fazla 25 satır olmalıdır. Şekiller bulanık olmayacak şekilde, jpeg, tiff, bmp veya gif formatında ve en az 150 dpi çözünürlükte hazırlanmalı, şekil üzerine yazılan yazılar ve işaretlemeler aynı şekilde resim işleme programlarında (Photoshop, paint vs.) “Calibri” fontu ile 12 puntoyu geçmemesi gerekmektedir. Grafikler resim formatında değil doc, docx, xls veyaxlsx formatında hazırlanmalıdır. Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde Şekil olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; Şekil 1, Tablo 1). Tablo ve şekillerin başlık ve açıklamaları hem Türkçe hemde İngilizce olarak eklenmelidir. Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü kısaltma tablo ve şekil altında açıklanmalıdır.

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

### **Olgu Sunumları İçin:**

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

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

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

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

### **Derlemeler İçin:**

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren GİRİŞ ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, SONUÇ ve KAYNAKLAR ile tamamlanmalıdır.

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

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

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi’ne yayımlanmak üzere gönderilen derlemenin sorumlu yazarının derlemenin konusu ile ilgili en az 3 (üç) adet makalesinin olması gerekmektedir. Sorumlu yazar, derlemesini gönderirken konu ile ilgili makalelerinin de künye bilgilerini dergi editörlüğüne göndermelidir (makale künyeleri, makale metninin en son sayfasında sunulmalıdır)

### **Kaynaklar**

Kullanılan kaynak sayısı olgu sunumları için 10’dan az, araştırma makaleleri için 20’den az ve tüm makale türleri için 45’den fazla olmamalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kullanılan kaynakların (makalenin gönderildiği yıl baz alınarak) en az beşte birlik kısmı son 3 yıla ait olmalıdır.

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

### Metin içerisinde:

Metin içerisinde kaynaklara 1’den başlamak üzere numara verilmelidir ve bu numaralar (1), (1,2), (1,4-7,13) şeklinde parantez içerisinde belirtilmelidir. Yazar isminin kullanılacağı yerlerde ise yazarın soyadı ve parantez içerisinde kaynağın numarası Aktaş (22), Aktaş ve ark. (13) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.

### Kaynaklar Bölümünde:

Metin içerisinde numaralandırılan kaynaklar, makalenin kaynaklar bölümünde numaralarına göre sıralandırılmalıdır.

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin isminin kısaltması kullanılmalıdır.

Kaynak makale ise; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect Immun*, 69, 4657-4660.

Kaynak kitap ise; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

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

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

Kaynak bir kuruluşun yayını ise; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

Kaynak bir yazılım ise; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

## **MAKALENİN GÖNDERİLMESİ**

Makale online sistem (<http://dergipark.gov.tr/ataunivbd>) aracılığıyla dergi editörlüğüne gönderilmelidir.

## **DERGİ BASKISI**

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

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

Sorumlu yazara makalenin basıldığı sayıdan bir örnek ücretsiz olarak gönderilir.

**Bu yazım kuralları, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Yayın Kurulu**

**tarafından revize edilmiştir. 01.05.2017 tarihinden sonra gönderilecek makaleler bu**

**kurallara tabidir.**

## **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

1. Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci."

2. Original research papers, case reports and invited or Editor-approved reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.

3. Ethics committee approval, institution, and approval number are required for the article sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must be specified in the Material and Method section of the article. The editorial board may also request an ethics committee approval document when deemed necessary. In the articles summarized from the thesis studies, the decision of the ethics committee is not required.

4. Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s).

5. Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board.

6. The responsible author has to send the "Article Check List" along with the article to be sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication.

7. Article and article check list reaching Atatürk University Journal of Veterinary Sciences Editor is subject to preliminary evaluation by a journal editor. The editorial has the right to refuse the article according to the preliminary evaluation result or to request a correction before subjecting it to the referee evaluation.

## **MANUSCRIPT PREPARATION**

1. Manuscripts should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.

2. Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.

3. Line numbers (be started from the 2<sup>nd</sup> page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.

4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (\*) with further explanation below the title in italic format.

5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

### **For Research Articles:**

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

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

### **For Case Reports:**

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

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

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

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

### **For Reviews:**

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

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

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

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

The corresponding author of the compilation sent to the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must have at least 3 articles on the subject of the compilation. The corresponding author must send the citation information of relevant articles related to the subject along with his/ her article (relevant article citations must be presented on the last page of the article)

### **References**

The number of resources used must not be less than 10 for case reports, less than 20 for research articles, and more than 45 for all article types.

Regardless of the type of article (original research article, case report, compilation), at least one-fifth of the resources used (based on the year the article was submitted) must belong to the last three years.

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

#### For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

#### For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For manuscripts; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6<sup>th</sup> edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

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

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

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user’s guide: Statistics, 4<sup>th</sup> edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

### **MANUSCRIPT SUBMISSION**

The article must be sent to the journal editor through online system (<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd/>).The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

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

### **JOURNAL’S PRESS**

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

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

A copy of the issue of the journal with the article is sent for free to the corresponding author of the article.

---

# ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

## YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

---

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

**Makale Başlığı:**.....

.....

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

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

Yazarın Adı ve Soyadı (Makaledeki İsim Sırasına Göre)	İmza	Tarih
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

### Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

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

### DERGİ ADRESİ

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

Tel: +90 442 231 7222, Fax: +90 0442 2317244, E-posta: vetdergisi@atauni.edu.tr/ atavetderg@atauni.edu.tr

---

**ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES**

**COPYRIGHT DECLARATION FORM**

---

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

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

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

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

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

**Signature**

**Date**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

**Corresponding Author**

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....

Signature:.....

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

**JOURNAL'S ADDRESS**

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

Phone: +90 442 2317222, Fax: +90 0442 2317244, E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@atauni.edu.tr

- ▶ **Luğman Awla HAMZA, Cumali ÖZKAN.** Serological Investigation of Maedi-Visna in Sheep with Chronic Respiratory Disease in Erbil, Iraq (*Irak, Erbil Bölgesinde Kronik Solunum Sistemi Hastalığı Olan Koyunlarda Maedi-Visna Hastalığının Serolojik Araştırılması*) 227-234
- ▶ **İbrahim AKIN.** Calf Metacarpal Fractures in Association with Bovine Dystocia: Case Series Among Calves (*Siğırlarda Güç Doğum ile İlişkili Buzağı Metakarpal Kırıkları: Buzağular Arasından Olgu Serisi*) 235-241
- ▶ **Recep GÜMÜŞ, Halit İMİK, Hüseyin Serkan EROL, Seçkin ÖZKANLAR, Mesut HALICI.** Sıcaklık Stresine Maruz Kalan Broylelerin Rasyonuna Katılan Vitamin C ve  $\alpha$ -Lipoik Asidin Karaciğer ile But Etinde Antioksidan Metabolizma Üzerine Etkisi (*Effects of Dietary Vitamin C and  $\alpha$ -Lipoic Acid Supplementation on Antioxidant Metabolism in Liver and Drumstick Meat Tissues for Heat Stress-Exposed Broilers*) 242-249
- ▶ **Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Derviş ÖZDEMİR, Hülya BALKAYA, Hülya KARA, Seval ÖZÜDOĞRU.** Cıvcıvlerde Adrenal Bezin Gelişimi Üzerine Farklı Fotoperiyotların Etkisi (*The Effects of Various Photoperiods on Development of Adrenal Gland in Chicks*) 250-258
- ▶ **Murat KARABAĞLI.** Köpeklerde Perineal Fıtıkların Sağaltımında Dört Tekniğin Bir Arada Kullanılmasının Nüksleri Önlemedeki Etkinliği: Obturator Internus Kas Transpozisyonu, Kastrasyon, Sistopeksi ve Kolopeksi (*Prevention of Perineal Hernia Recurrences by Four-In-One Procedure in Dogs: Obturator Internus Muscle Transposition, Castration, Cystopexy and Colopexy*) 259-268
- ▶ **Duygu UDUM KÜÇÜKŞEN.** Koyunlarda Doğum Sonrası Erken Laktasyon Döneminde Leptin ve Ghrelin Seviyelerinin Değişimleri (*Changes of Leptin and Ghrelin Levels in the Early Lactation Period After Birth in Sheep*) 269-275
- ▶ **Murat GENÇ, Ekrem LAÇIN, Nilüfer SABUNCUOĞLU, Ömer ÇOBAN.** Farklı Işık Kaynaklarının (Monokrom Işık ve Floresan) Broylelerde Besi Performansı Üzerine Etkisi (*The Effects of Different Light Sources (Monochromatic Light and Fluorescent) on Fattening Performance in Broilers*) 276-282
- ▶ **Mustafa KÖSE, Metin ERDOĞAN, Kürşat KARTAL.** Afyonkarahisar Yöresi Koyun Akciğer Kılkurdu Türlerinin Moleküler Karakterizasyonu (*Molecular Characterization of Lungworm Species of Sheep in Afyonkarahisar Region*) 283-288
- ▶ **Halil İbrahim DENİZ, Serap KILIÇ ALTUN.** Şanlıurfa İlinde Tüketime Sunulan Yöresel Peynirlerde Virülent *Listeria monocytogenes* İzolasyonu ve İdentifikasyonu (*The Isolation and Identification of Virulent Listeria monocytogenes Consumption of Local Cheeses in Şanlıurfa Province*) 289-295
- ▶ **Halil ŞİMŞEK, Enes KAYA, Mehtap ÖZÇELİK.** Radyasyona Maruz Bırakılan Ratlarda Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Parametreler Üzerine Propolisin Etkisi (*The Effect of Propolis on Lipid Peroxidation and Some Antioxidants Parameters in the Radiation Exposed Rats*) 296-303
- ▶ **Tubanur ASLAN, Fikret ÇELEBİ, Emin ŞENGÜL, Volkan GELEN, Ali ÇINAR.** *Usnea Longissima* Ach. Liken Türününün Metanol Ekstresinin İn Vitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi (*Effect of Methanol Extract of Usnea Longissima Ach. Lichen Species on Gastric Acid Secretion in In Vitro Rat Stomach*) 304-314
- ▶ **Mehmet KALE, Yakup YILDIRIM, Oğuzhan AVCI, Şima ŞAHİNDURAN, Sibel HASIRCIOĞLU, Hasbi Sait SALTİK, Necmettin Sarp SEVGİSUNAR.** Burdur Yöresindeki Gastroenteritisli Köpeklerde Canine Parvovirus Enfeksiyonunun Virolojik Araştırılması (*Virological Investigation of Canine Parvovirus Infection in Dogs with Gastroenteritis in Burdur District*) 315-319

## Derlemeler / Reviews

- ▶ **Efe KURTDEDE, Mert PEKCAN, Hilal KARAGÜL.** Türkiye'de Florozis Sorunu ve Florun Biyokimyasal Etkileşimi (*Fluorosis Problem in Turkey and Biochemical Interaction of Fluorine*) 320-326
- ▶ **Cavit ARSLAN, Esra ÇELEBİ.** Ruminantlarda Rumende Oluşan Metan Üretimini Azaltmaya Yönelik Çalışmalar (*Studies on Reduction of Ruminant Methane Production in Ruminants*) 327-337
- ▶ **Nezihe GÖKHAN.** Siğırlarda Eklem Hastalıklarının Tanısında Ultrasonografik Muayene (*Diagnostic Ultrasound Examination of the Joint Diseases in Cattle*) 338-344