

ISSN 2146-717X
e-ISSN 2146-7188

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

*Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*



1.Uluslararası GAP 1st International GAP
Tarım ve Hayvancılık Kongresi Agriculture & Livestock Congress
25-27 Nisan 2018, 25-27 April 2018,
Şanlıurfa Şanlıurfa

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınıdır
Published by Harran University Faculty of Veterinary Medicine

YIL/YEAR: 2018 CİLT/VOLUME: 7 ÖZEL SAYI/SPECIAL ISSUE 1

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine

**Harran Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Adına
Sahibi/Owner
Prof. Dr. Murat SEVGİLİ
Dekan/Dean**

**Baş Editör/Editor in Chief
Prof. Dr. Hisamettin DURMAZ**

**Editörler/Editors
Doç. Dr. Faruk BOZKAYA
Dr. Öğr. Üyesi Nihat YUMUŞAK
Dr. Öğr. Üyesi Aydın DAŞ**

**Dergi Sekreteri/Journal Secretary
Arş. Gör. Gülşah GÜNGÖREN**

**Yayın Kurulu/Editorial Board
Prof. Dr. Murat SEVGİLİ
Prof. Dr. Ali HAYAT
Prof. Dr. Osman Yaşar TEL
Doç. Dr. Şükrü GÜRLER
Dr. Öğr. Üyesi. İrfan ÖZGÜNLÜK
Dr. Öğr. Üyesi Birten EMRE
Dr. Öğr. Üyesi Serap KILIÇ ALTUN
Dr. Öğr. Üyesi M. Yaşar DÖRTBUDAK**

**Yazışma /Correspondence
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü Eyyübiye Kampüsü,
63200 - Şanlıurfa/TÜRKİYE
Tel: +90 414 318 38 59
+90 414 318 38 55
Faks: +90 414 318 39 22
e-mail: harranvet@gmail.com**

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Hakemli Bir Dergi Olup, Yılda 2(iki)
Sayı Olarak Yayınlanır.
Yıl/Year: 2018 - Cilt/Volume: 7
Özel Sayı/Special Issue 1

Danışma Kurulu/Advisory Board

Prof. Dr. Ergun AKÇAY, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, Atatürk Üniv. Vet. Fak. Erzurum, Türkiye.
Prof. Dr. Halil Selçuk BİRİCİK, Aksaray Üniv. Vet. Fak. Aksaray, Türkiye
Prof. Dr. Ali BUMİN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın Türkiye.
Prof. Dr. Hasan EREN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın, Türkiye.
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Anila HODA, Agric. Uni. of Tirana, Fac. of Agric. & Environ. Tirana,
Albania.
Prof. Dr. Osman KUTSAL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniv. Vet. Fak. Kayseri, Türkiye.
Prof. Dr. Manzoor Ur Rahman MIR, SKUAST Kashmir Fac. of Vet. Sci. &
Anim. Husbandry. Kashmir, India.
Prof. Dr. Sema TEMİZER OZAN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Gerald REINER, Justus-Liebig Uni. Fac. of Vet. Med. Giessen,
Germany.
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Atilla ŞİMŞEK, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Mehmet Emin TEKİN, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Ender YARSAN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Halis YERLİKAYA, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Murat YILDIRIM, Kırıkkale Üniv. Vet. Fak. Kırıkkale, Türkiye.

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
2018 Yılı 7. Cilt Özel Sayı. Sayı Hakem Listesi (alfabetik sıra)
The Referees List of This Issue (in alphabetical order)

Prof. Dr. Abuzer TAŞ	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Fatma Seda Bilir ORMANCI	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Loğman ASLAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mustafa Ardıç	Aksaray Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Mutlu Buket Akın	Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Muzaffer Aydın KETANİ	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Nihat ŞINDAK	Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Seval YILMAZ	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tülay BÜYÜKOĞLU	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Osman AYGÜN	Fırat Üniversitesi Keban MYO
Doç. Dr. Özgür KAYNAR	Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Zeki GÜRLER	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Aslı Çelikel Güngör	Mardin Artuklu Üniversitesi Turizm Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Deniz KORKMAZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Hakan Sancak	Bitlis Eren Üniversitesi Tatvan MYO
Dr. Öğr. Ü. Leyla Eren Karahan	Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Mustafa Ünal BOYRAZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Serap KILIÇ ALTUN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Sayfa /Page

1. Ratlarda Gebeliğin Değişik Dönemlerinde Trofoblastların Özellikleri Üzerinde Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Çalışmalar.
Histochemical and Immunohistochemical Investigation on Trophoblasts Characteristic in Different Stages of Pregnancy in Rats.
İsmail Şah HAREM, Belma ALABAY **1-11**
 2. Beslenme ve Epigenetik
Nutrition and Epigenetic
Belgin SIRIKEN, Fatih SIRIKEN, Cengiz ÜNSAL, Gülay ÇİFTÇİ **12-18**
 3. Şanlıurfa Yöresi Ankara Tiftik ve Halep Keçi Irklarına Ait Bazı Biyokimyasal Kan Parametreleri ile Malondialdehit Düzeylerinin Tespiti.
The Determination of Some Biochemical Blood Parameters and Malondialdehyde Levels Related to Angora and Halep Goats in Sanliurfa Province.
Sema GÜRGÖZE, Esra GÖKALP **19-23**
 4. Şiş Köfte, Şiş Kebap ve Lahmacunlarda Et Türlerinin Araştırılması.
Investigation of Meat Species in Şiş Meatball, Şiş Kebab and Lahmacun.
Semra GÜRBÜZ, Serap KILIÇ ALTUN **24-27**
 5. Mardin’de Satışa Sunulan Geleneksel Fermente Sucukların Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri.
Some Microbiological and Chemical Properties of Traditional Fermented Sausages Marketed at Mardin.
Semra GÜRBÜZ, Aslı ÇELİKEL GÜNGÖR **28-32**
 6. Farklı Çözdürme Yöntemlerinin Lahmacunun Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi
Effects of Different Thawing Methods on Microbiological Quality of Lahmacun
Hisamettin DURMAZ, Serap KILIÇ ALTUN, Mehmet Emin AYDEMİR **33-36**
 7. Meyan Bitkisinin (Glycyrrhiza glabra L.) Antibakteriyel ve Antioksidan Aktiviteleri.
Determination of Antibacterial and Antioxidant Activities of Licorice plant (Glycyrrhiza glabra L.).
Hisamettin DURMAZ, Mehmet HÜLÜL, Hakim ÇELİK **37-41**
 8. Koyunlarda Ksilazin-Ketamin, Ksilazin-Propofol, Ksilazin-Ketamin-Propofol’ün Bazı Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkileri.
Effects of Xylazine-Ketamine, Xylazine-Propofol and Xylazine-Ketamine-Propofol Administration on Some Physiological Parameters in Sheeps.
Esra GÖKALP, Sema GÜRGÖZE, Semih ALTAN **42-46**
- Olgu Sunumu/Case Report**
9. Bir Montofon Melezi Süt İneğinde Kutanöz Aktinobasilloz Olgusu.
A Case of Cutaneous Actinobacillosis in A Dairy Cross-Breed Brown Swiss Cow.
Abdullah KARASU, Serkan YILDIRIM, Caner KAYIKCI, Yağmur KUŞCU, Tunahan SANCAK **47-50**

Ratlarda Gebeliğin Değişik Dönemlerinde Trofoblastların Özellikleri Üzerinde Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Çalışmalar**

İsmail Şah HAREM¹, Belma ALABAY²

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Geliş Tarihi: 24.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmada, ratlarda gebeliğin değişik dönemlerinde plasentada bulunan trofoblastlar ve plasentaya ait diğer yapıların (desidua hücreleri, dev hücreler, glikojen hücreleri) histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlandı. Materyal olarak gebeliğin değişik dönemlerinde bulunan, erişkin ve sağlıklı 20 adet rat kullanıldı. Histokimyasal olarak yapılan incelemeler sonucunda, gebeliğin ilk yarımında sitotrofoblastlar ve dev hücrelerinde kuvvetli PAS (+), sinsisyotrofoblastlarda ise kuvvetli AB (+) reaksiyon gözlemlendi. Gebeliğin ikinci yarımında görülen glikojen hücrelerinde mor renkli granüller halinde PAS/AB (+) boyanma gözlenirken, küçük bazofilik hücreler gittikçe artan miktarda AB (+) reaksiyon gösterdiler. Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde vakuollü yapı gösteren desidua hücrelerinde de artan miktarda PAS (+) reaksiyon saptandı. İmmunohistokimyasal incelemelerde, trofoblast ve dev hücrelerinde implantasyonun olmasından gebeliğin sonuna kadar, hormonal aktivite oldukça fazla görüldü. Östrojen ve progesteron hormonlarına ait reseptörler hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinde yoğun olarak bulunuyordu. Gebeliğin sonuna doğru progesteron reseptörlerinde azalmanın olduğu, fakat gebeliğin her döneminde iki hormona ait reseptörlerde, reaksiyon şiddetinin fazla olduğu dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Histokimya, İmmunohistokimya, Plasenta, Rat, Trofoblast.

Histochemical and Immunohistochemical Investigation on Trophoblasts Characteristic in Different Stages of Pregnancy in Rats

Abstract: In this study, it was aimed to examine trophoblast cells and other placental structures (decidua cells, giant cell, glycogen cell) histochemically and immunohistochemically in various periods of gestation in rats. Twenty adult, healthy and pregnant rats were used as materials. By histochemical examinations it was observed that there were significant AB (+) reactions in syncytiotrophoblasts, PAS (+) reactions in giant cells and cytotrophoblasts in the first half of gestation. In the second half of gestation, glycogen cells were stained with PAS/AB (+) in purple coloured granules and small basophilic cells showed gradually increasing AB (+) reactions. In the advanced state of gestations, decidua cells having vacuoles showed increasing PAS (+) reactions. In immunohistochemical examinations, hormonal activities increased significantly in trophoblasts and giant cells during the period staining from the implantation to the end of gestation. Oestrogen and progesterone receptors were found in high density in the cytoplasm and nucleus of the cells. Progesterone receptors decreased slightly towards the end of pregnancy, however, reactions were high in receptors belonging to both hormones in every period of pregnancy.

Keywords: Histochemistry, Immunohistochemistry Placenta, Rat, Trophoblast.

Giriş

Gebeliğin başlangıcı ve bitışı arasındaki süreçte, canlı vücudunda meydana gelen değişiklikler, gebeliğin sorunsuz devam etmesini ve sonlanmasını sağlayan etkenler araştırılmaya değer konulardır. Bu çalışmada temel amaç, östrojen ve progesteron reseptörlerinin, bilinen hedef dokularında aktivitelerinin histokimyasal metotlar yanında daha dinamik, belirleyici bir yöntem olan immunohistokimyasal metot ile araştırılması, bu hormonların ve bu hormonları salgılayan hücrelerin

gelişim üzerindeki etkileri ve önemini vurgulamaktır. Besleme ve bakım koşullarının uygunluğu, genetik ve fizyolojik olarak insana yakın oluşu embriyolojik çalışmalarda ratların kullanılmasına olanak sağlamıştır. Blastosölü çevreleyen ektoderm katına trofoblast denir. Nodus embriyonalisi örten trofoblastlara polar trofoblast (Rauber tabakası), blastosölü çevreleyenlere de parietal trofoblast ismi verilir (Hassa ve Aştı, 1997). Plasenta hem östrojen, hem de progesteron hormonunun ana kaynağıdır

(Ogle, 1986; Özer, 1997; Rivera ve Cano, 1989). Trofoblast hücrelerinin bol mitoz geçirerek sayılarını arttırmaları ile iki tabaka gelişir. İçteki tabaka sitotrofoblastlar, uterus endometriyumu ile yakın temasta olan dıştaki tabaka ise sinsisyotrofoblast hücrelerinden oluşur (Dellmann ve Eurell, 1998; Enders ve Schlafke, 1967; Gartner ve Hiatt, 1997; Gürsoy ve Koptagel, 1997). Ultrastrüktürel özellikleri sinsisyotrofoblastların chorionic gonadotropin, plasental lactogen, östrojen ve progesteron hormonunun (steroidler) sekresyonunda önemli rol oynadığına işaret etmektedir (Demir, 1995; Gürsoy ve Koptagel, 1996; Ogle ve ark., 1989; Strauss ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarla sitotrofoblastların human chorionic gonadotropin (hCG) (Demir, 1995), kortikotropin relasing faktör (CRF), gonadotropin relasing hormon (GnRH, plasental LRF), nöropeptid-Y (NPY), inhibin (Petraglia, 1987; Petraglia, 1989) salgıladığı gösterilmiştir.

Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak gebeliğin farklı dönemlerindeki (6, 10, 15 ve 20 günlük) 20 adet sağlıklı ve erişkin Wistar albino rat kullanıldı. Dişi ratlar kafeslere konularak siklik takibe alındılar. Takip edilen ratlardan vaginal smear alınarak, sitolojik olarak östrusta olduğu saptanan dişi ratların kafeslerine erkek rat bırakılmıştır. Alınan smear örnekleri Papanicolaou boyama tekniğine göre boyanmış (Papanicolaou, 1942), smearlerde muköz plakların, yoğun lökosit infiltrasyonunun, intermediyer, az sayıda parabazal ve keratinize hücrelerin görülmesiyle gebeliğin oluştuğu anlaşılmıştır. Gebeliğin farklı dönemlerindeki ratlardan eter anestezisi altında doku örnekleri alınarak, materyal histokimyasal ve immunohistokimyasal amaçla işlendi.

Histokimyasal incelemeler için doku örnekleri Bouin ve %10'luk nötral Formol solüsyonlarında tespit edildi. Daha sonra rutin histolojik aşamalardan geçirilerek hazırlanan bloklardan 6-7 mikron kalınlığında seri kesitler alındı ve dokunun genel yapısını ortaya koymak amacıyla Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama tekniği, nötral mukosubstans için Periyodik Asit Schiff (PAS) reaksiyonu (Denk ve ark., 1989), asidik mukosubstans için Alcian Blue (AB) pH 2.5 metodu (Culling ve ark., 1985), nötral ve asidik mukosubstansın birlikte demonstrasyonu için PAS/AB pH 2.5 kombine boya yöntemi (Denk ve ark., 1989) uygulandı. İmmunohistokimyasal incelemeler için parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında seri kesitler adhezivli lamlara alındı. Trofoblast hücrelerindeki östrojen ve progesteron

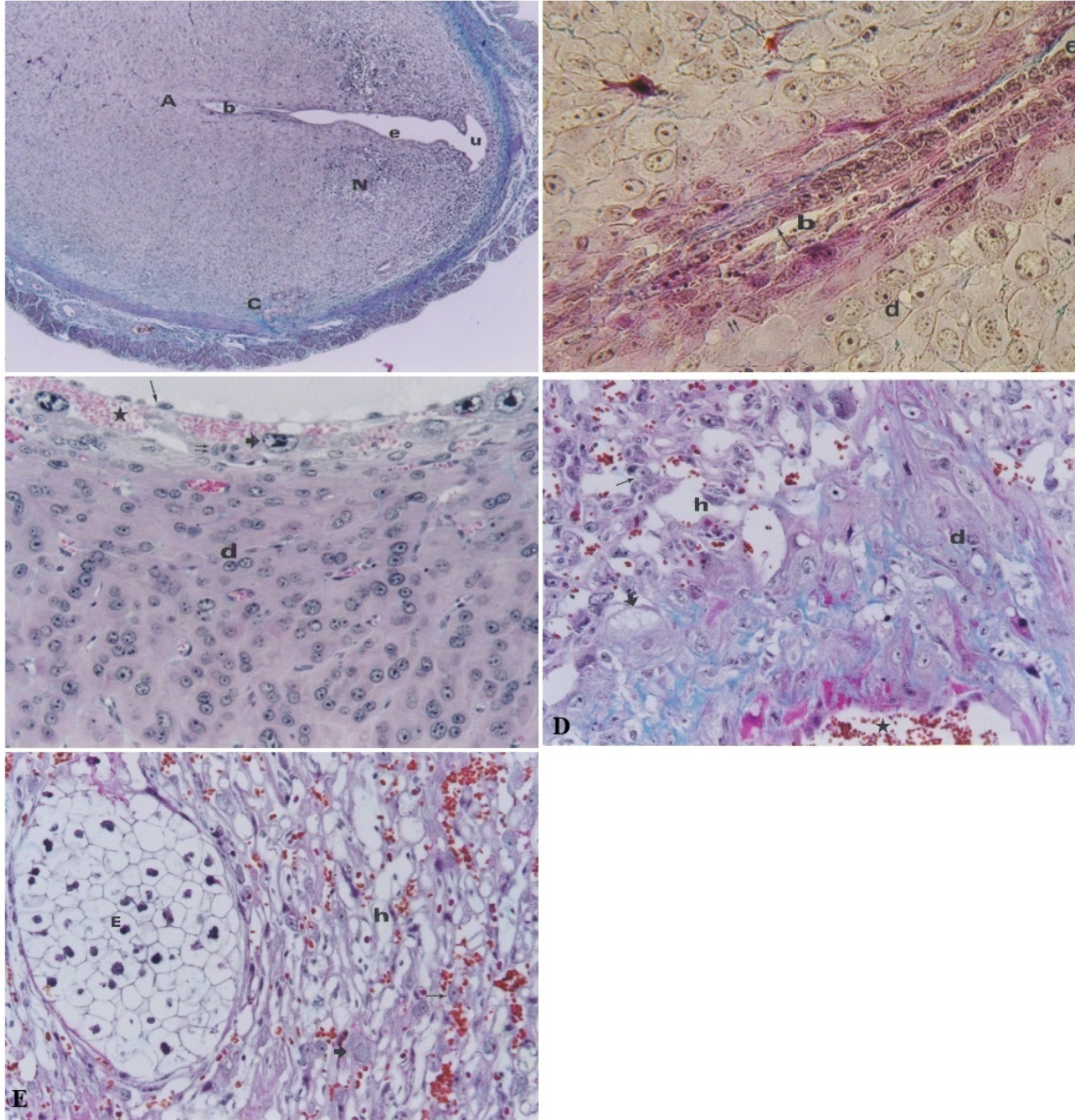
reseptörlerini ortaya koymak için Labelled Streptavidin-biotin metodu uygulanarak, kullanıma hazır Estrogen/Progesterone Receptor Kit (DAKO ER/PR System, K1900 1D5-1A6) kullanıldı.

Bulgular

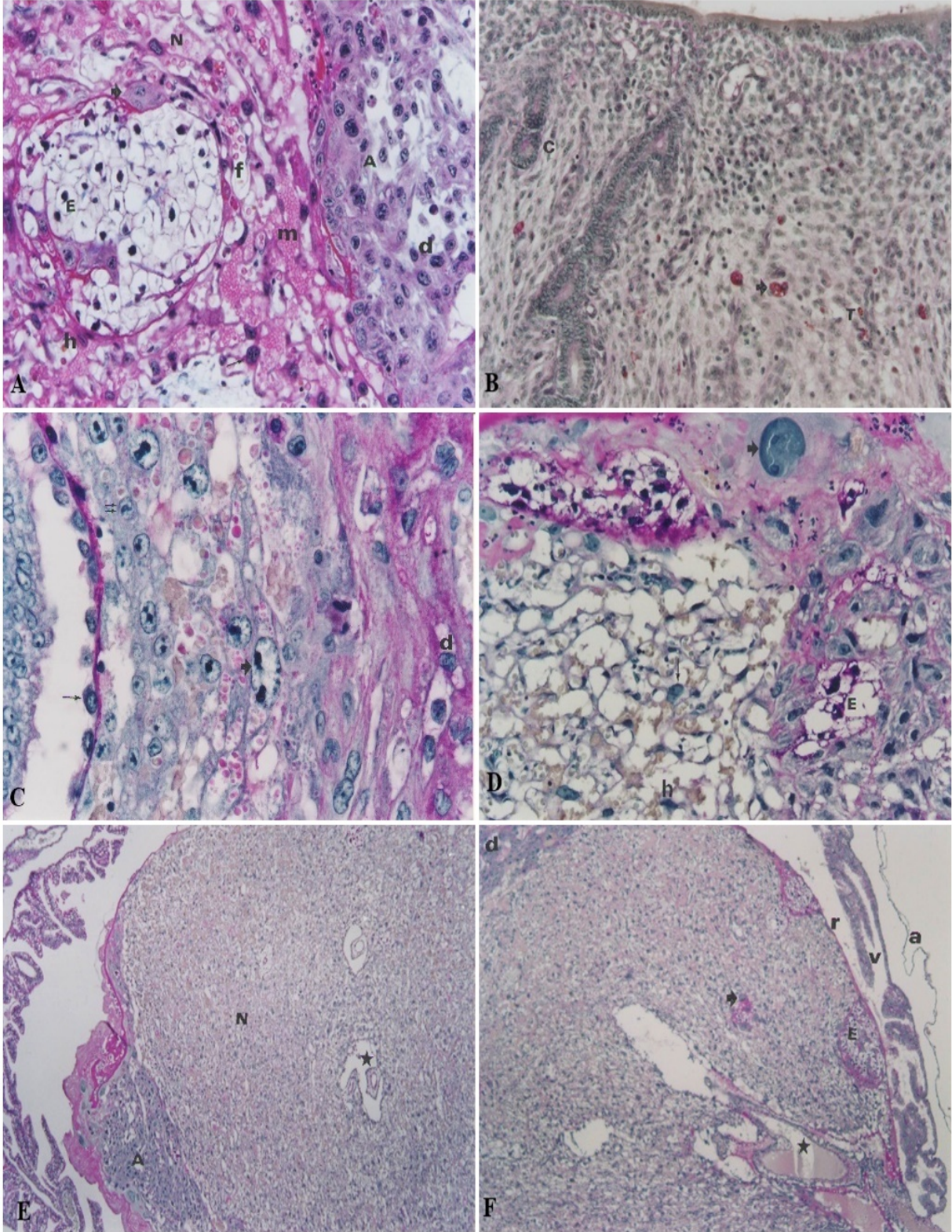
Gebeliğin 6. gününde üçlü boyamada, luminal epitel tek katlı prizmatik hücrelerden oluşuyordu. Desidua hücreleri büyüktü. Miyometriyuma komşu olan bölgede uterus bezleri vardı (Şekil 1A). Blastosist etrafında yerleşim gösteren sito ve sinsisyotrofoblastlar görüldü. Labirint ve desidual bölgede trofoblastik dev hücrelerine rastlandı (Şekil 1B). Onuncu günde, sitotrofoblastlar oval ve koyu boyanan çekirdekleri ile ayırt edildi. Bunların hemen altında hücre sınırları belirgin olmayan, çekirdekleri açık boyanan sinsisyotrofoblastlar gözlemlendi (Şekil 1C). On beşinci günde, labirint bölgesinde topluluklar yapmış glikojen hücreleri gözlemlendi (Şekil 1D). Büyük çekirdekleri ve geniş sitoplazmaları ile karakterize dev hücreleri görüldü. Bu bölgede, maternal damarlara bitişik pozisyonunda, büyük çekirdeğe ve veziküler sitoplazmaya sahip küçük bazofilik hücreler, dev hücreleri ve vakuollü glikojen hücreleri görüldü (Şekil 1E). Yirminci günde, dev hücreler, desidual bölgede yer yer vakuollü hücreler gözlemlendi. Maternal ve fetal damarlar etrafında koyu çekirdekleriyle küçük bazofilik hücreler ve 1-2 çekirdekli sitotrofoblast hücreleri gözlemlendi (Şekil 2A). Gebeliğin 6. gününde PAS boyamasında, sinsisyotrofoblastlar ve dev hücrelerin sitoplazmalarında kuvvetli PAS (+) reaksiyon vardı (Şekil 2B). Onuncu günde, dev hücrelerin sitoplazmalarında granül tarzında, sitotrofoblastların bazalinde oldukça kuvvetli, sinsisyotrofoblastlarda ise daha zayıf PAS (+) reaksiyon gözlemlendi (Şekil 2C). On beşinci günde, glikojen hücrelerini çevreleyen kapsülde oldukça kuvvetli PAS (+) reaksiyon görüldü. Dev hücrelerinin sitoplazmasında diffuz reaksiyon gözlemlendi (Şekil 2D). Küçük bazofilik hücrelerde reaksiyon gözlenmedi (Şekil 2E). Yirminci günde, dev hücrelerin sitoplazmalarında ve glikojen hücre topluluklarını çevreleyen kapsülde kuvvetli PAS (+) reaksiyon görüldü (Şekil 2F). Gebeliğin 6. gününde AB boyamasında, sinsisyotrofoblastların sitoplazmasında kuvvetli AB (+) reaksiyona rastlandı (Şekil 3A, 3B). Onuncu günde, trofoblastlardaki reaksiyon oldukça zayıftı. Dev hücrelerin sitoplazmaları ve etrafını saran kapsül az boyanmıştı (Şekil 3C). On beşinci günde, glikojen hücre topluluklarında reaksiyon çok azdı. Dev hücrelerinin sitoplazmaları oldukça soluk boyanmıştı (Şekil 3D). Yirminci günde, dev hücrelerin sitoplazmasında çekirdeğe yakın bölgede AB (+) reaksiyon görüldü

(Şekil 4A, 4B). Gebeliğin 6. gününde PAS/AB boyamasında, trofoblastların sitoplazmasında asidik mukosubstansların ve nötral mukosubstansların az ve soluk olduğu görüldü (Şekil 4C). Dev hücrelerin sitoplazmasında çok az nötral mukosubstans vardı ve asidik mukosubstans görülmedi (Şekil 4D). Onuncu günde, sitotrofoblastların bazal membranında asidik mukosubstanslar görüldü. Sinsisyotrofoblastlarda asidik ve nötral

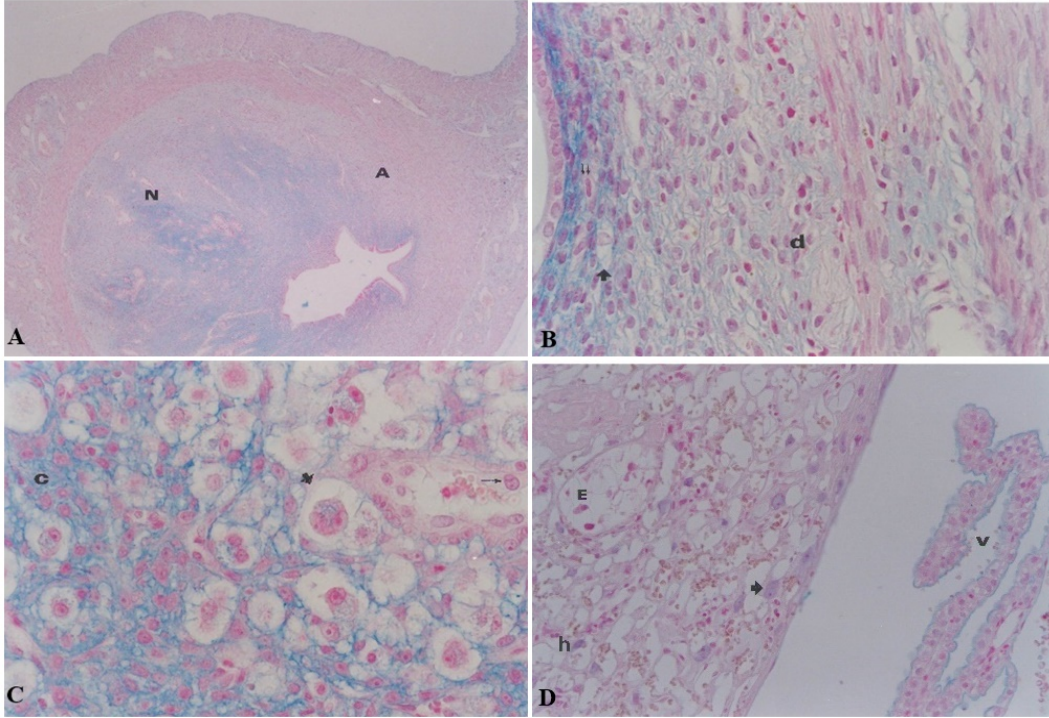
mukosubstans azdı. Dev hücrelerinin sitoplazmasında asidik mukosubstansa rastlandı (Şekil 5A). On beşinci günde, dev hücrelerinin sitoplazmasında nötral mukosubstans fazlaydı. Sitotrofoblastlardaki nötral ve asidik mukosubstans yoğunluğu azdı (Şekil 5B). Yirminci günde, dev hücrelerde ve trofoblastlarda asidik mukosubstans az olarak görüldü (Şekil 5C, 5D).



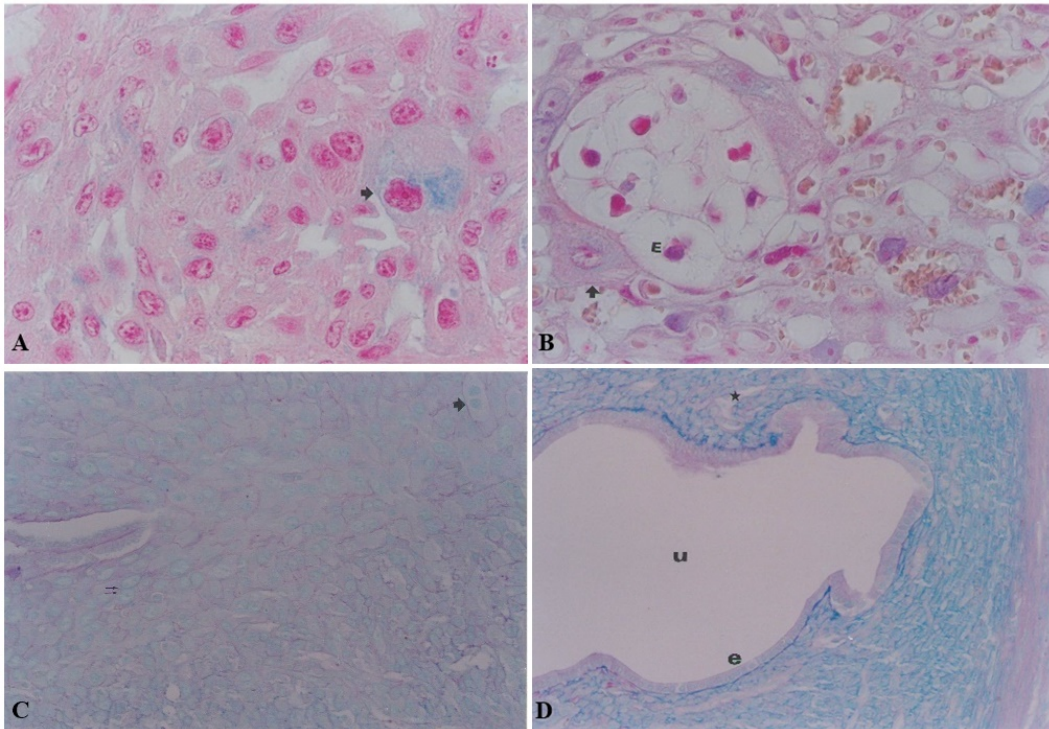
Şekil 1. (A) Gebeliğin 6. günündeki rat plasentasında desidual bölge (A), labirint bölgesi (N), uterus bezleri (C), uterus lumeni (u), uterus epiteli (e), blastosist (b) Triple x62. (B) Gebeliğin 6. gününde blastosist (b), sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), desidua hücresi (d), uterus epiteli (e) Triple x650. (C) Gebeliğin 10. gününde plasenta. Sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidua hücresi (d), kan damarı (★) Triple x300. (D) Gebeliğin 15. gününde plasentada sitotrofoblast (uzun ok), desidua hücresi (d), küçük bazofilik hücre (h), dev hücre (kalın ok), kan damarı (★) Triple x270. (E) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), dev hücre (kalın ok), glikojen hücre topluluğu (E), küçük bazofilik hücre (h) Triple x300.



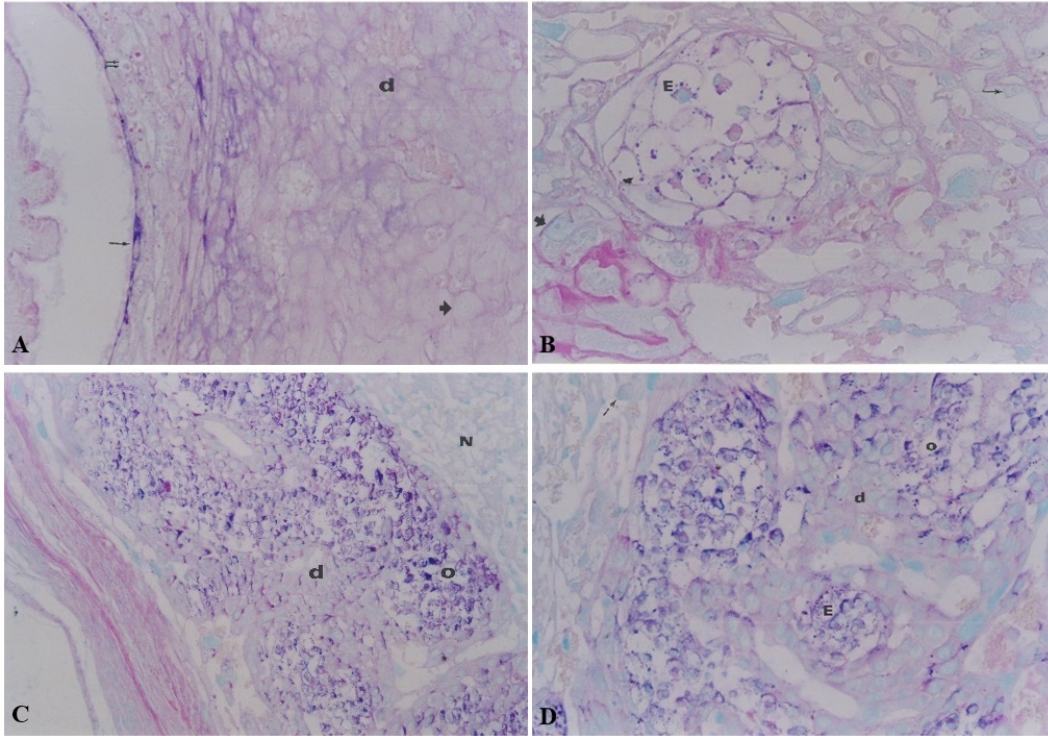
Şekil 2. (A) Gebeliğin 20. gününde labirint bölgesi (N), desidual bölge (A), sitotrofoblast (uzun ok), desidia hücresi (d), dev hücre (kalın ok), glikojen hücre topluluğu (E), küçük bazofilik hücre (h), fetal damar (f), maternal damar (m) Triple x297. (B) Gebeliğin 6. günü, trofoblast (T), dev hücre (kalın ok), uterus bezleri (C) PAS x290. (C) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidia hücresi (d) PAS x590. (D) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok), küçük bazofilik hücre (h) PAS x295. (E) Gebeliğin 15. günde desidual bölge (A), labirint bölgesi (N), kan damarı (★) PAS x62. (F) Gebeliğin 20. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok), desidia hücresi (d), kan damarı (★), amniyon (a), vitellüs kesesi (v), Reichert's membranı (r) PAS x60.



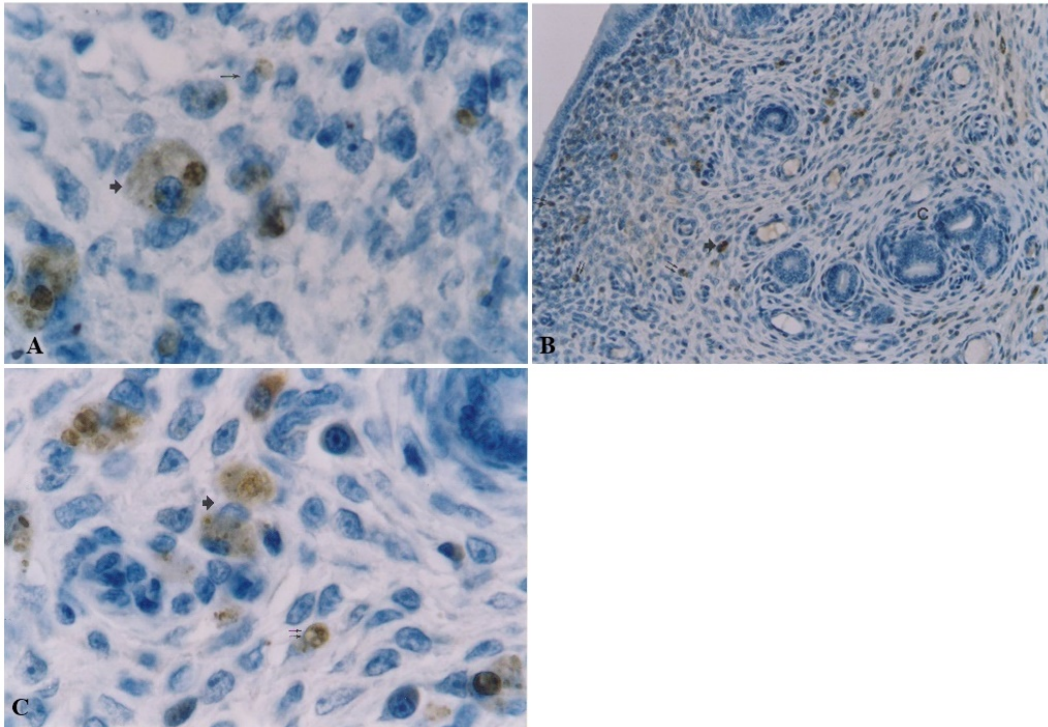
Şekil 3. (A) Gebeliğin 6. gününde desidual bölge (A), labirint bölgesi (N) AB x56. (B) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok), desidua hücresi (d), dev hücre (kalın ok) AB x550. (C) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), dev hücre (kalın ok), bağdoku (c) AB x620. (D) Gebeliğin 15. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) küçük bazofilik hücre (h), vitellüs kesesi (v) AB x310.



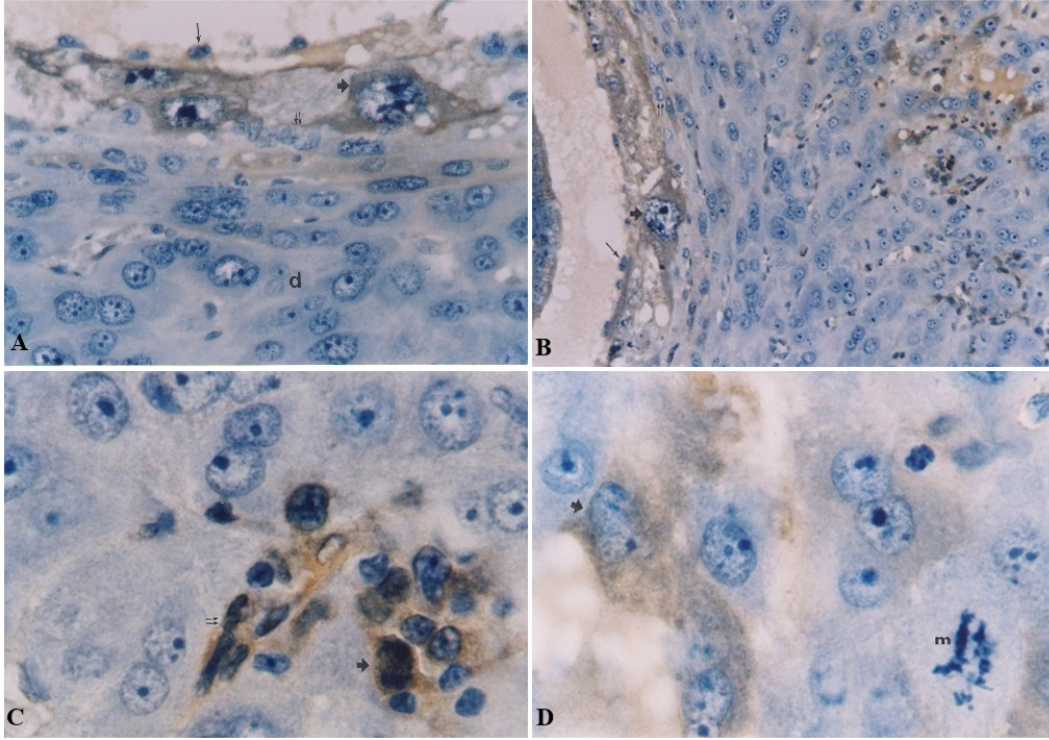
Şekil 4. (A) Gebeliğin 20. gününde dev hücre (kalın ok) AB x600. (B) Gebeliğin 20. gününde glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) AB x610. (C) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok) PAS/AB x300. (D) Gebeliğin 6. gününde uterus lumeni (u), uterus epiteli (e), kan damarı (★) PAS/AB x290.



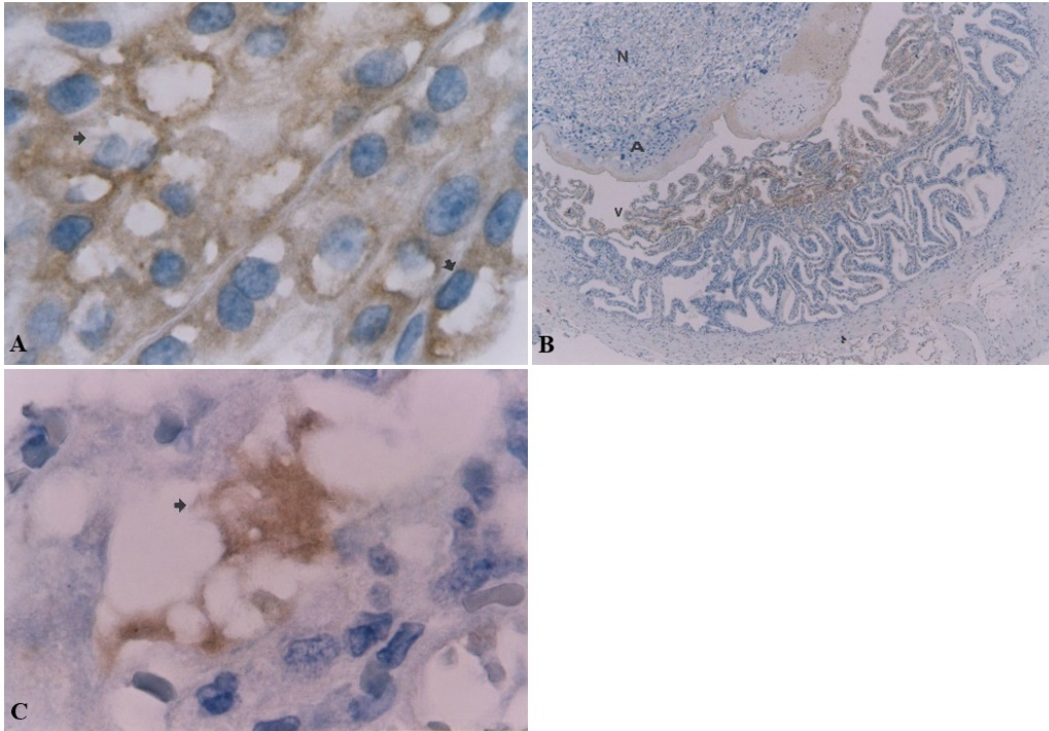
Şekil 5. (A) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsisyotrofoblast (çift ok), dev hücre (kalın ok), desidua hücresi (d) PAS/AB x300. (B) Gebeliğin 15. gününde sitotrofoblast (uzun ok), glikojen hücre topluluğu (E), dev hücre (kalın ok) PAS/AB x615. (C) Gebeliğin 20. gününde desidua hücresi (d), labirint bölgesi (N), vakuollü hücreler (o) PAS/AB x150. (D) Gebeliğin 20. gününde sitotrofoblast (uzun ok), desidua hücresi (d), glikojen hücre topluluğu (E), vakuollü hücreler (o) PAS/AB x290.



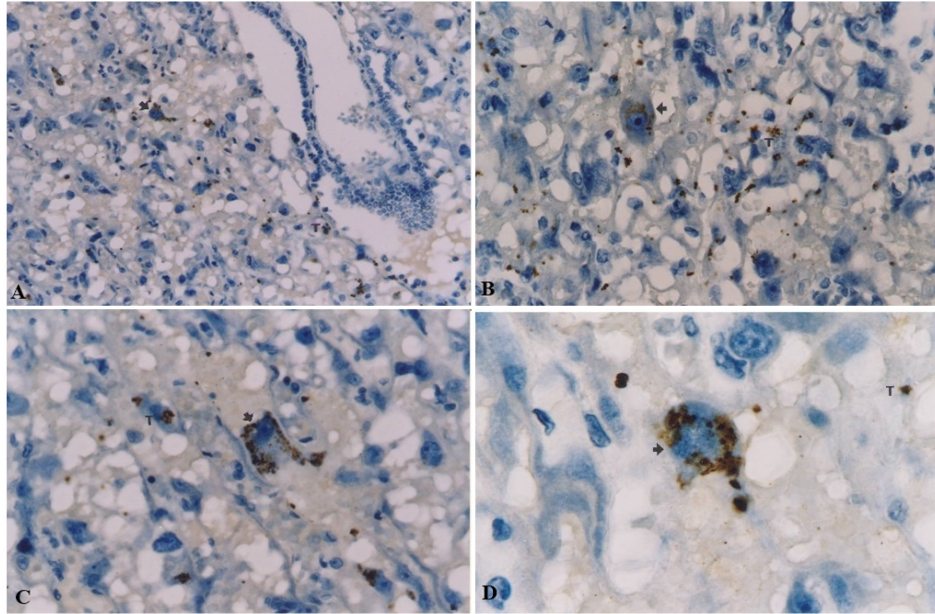
Şekil 6. (A) Gebeliğin 6. gününde sitotrofoblastlarda (uzun ok) ve dev hücrede (kalın ok) östrojen reseptörleri x1540. (B) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift oklar) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü, uterus bezleri (C) x295. (C) Gebeliğin 6. gününde sinsisyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1430.



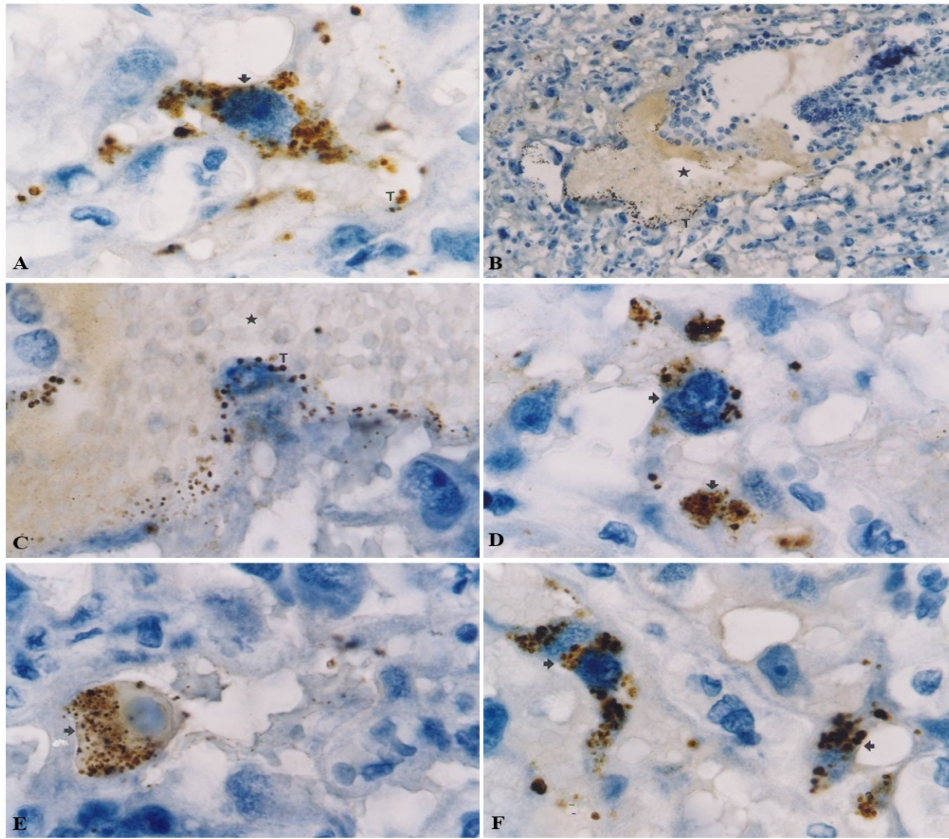
Şekil 7. (A) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsiyotrofoblast (çift ok), dev hücresi (kalın ok) ve desidua hücresinde (d) östrojen reseptörleri x610. (B) Gebeliğin 10. gününde sitotrofoblast (uzun ok), sinsiyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x310. (C) Gebeliğin 10. gününde sinsiyotrofoblast (çift ok) ve dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1500. (D) Gebeliğin 10. gününde dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü ve mitotik figür (m) x1450.



Şekil 8. (A) Gebeliğin 15. gününde dev hücrelerinde (kalın ok) östrojen reseptörü x1480. (B) Gebeliğin 15. gününde desidua bölge (A), labirint bölgesi (N), vitellüs kesesi (v) progesteron reseptörü x60. (C) Gebeliğin 15. gününde dev hücrede (kalın ok) progesteron reseptörü x1500.



Şekil 9. (A) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x310. (B) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x595 (C) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x590. (D) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x1470.



Şekil 10. (A) Gebeliğin 20. gününde trofoblast (T) ve dev hücrede (kalın ok) östrogen reseptörü x1550. (B) Gebeliğin 20. gününde trofoblastlardaki (T) progesteron reseptörü, kan damarı (★) x300. (C) Gebeliğin 20. gününde trofoblast'taki (T) progesteron reseptörü, kan damarı (★) x1485. (D) Gebeliğin 20. gününde dev hücrede (kalın ok) diffuz sitoplazmik progesteron reseptörü x1485. (E) Gebeliğin 20. gününde dev hücre (kalın ok) sitoplazmasında nokta şeklinde progesteron reseptörü x1430. (F) Gebeliğin 20. gününde dev hücrenin (kalın ok) sitoplazma ve çekirdeğindeki progesteron reseptörleri x1470.

Gebeliğin 6. gününde immunohistokimyasal boyama sonucunda, trofoblast hücrelerinde östrojen reseptörleri (Re) bol olarak görüldü. Trofoblastik dev hücrelerde nükleer östrojen reseptörü (Ren) az, sitoplazmik reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde yoğun olarak bulunuyordu (Şekil 6A). Labirint bölgesindeki trofoblast hücrelerinde sitoplazmik progesteron reseptörü (Rpc) fazla, nükleer reseptörler (Rpn) az sayıda görüldü (Şekil 6B). Dev hücrelerin sitoplazmik progesteron reseptörü hem diffuz hem de granüler bir dağılım gösteriyorlardı. Bu hücrelerin nükleer reseptörleri az sayıda ve nokta şeklindeydi (Şekil 6C). Onuncu günde, sito- ve sinsisyotrofoblastların sitoplazmasında diffuz şekilde Ren görüldü. Dev hücrelerinin Ren'i hücrenin her tarafında görülüyordu (Şekil 7A). Sito- ve sinsisyotrofoblastlardaki progesteron reseptörleri sitoplazmik olarak yerleşim gösteriyorlardı (Şekil 7B, 7C). Dev hücrelerin sitoplazmalarında reseptörler diffuz bir dağılım sergiliyorlardı (Şekil 7D). On beşinci günde, sitotrofoblastlarda östrojen reseptörleri diffuz ve oldukça fazlaydı. Dev hücrelerin sitoplazmalarında da sitoplazmik reseptörler diffuz olarak görüldü (Şekil 8A). Labirint bölgesindeki trofoblastlarda sitoplazmik progesteron reseptörleri görüldü (Şekil 8B). Dev hücrelerde progesteron reseptörleri sitoplazmik ve diffuz bir dağılım gösteriyordu (Şekil 8C). Yirminci gününde, trofoblast hücrelerinde östrojenin sitoplazmik reseptörleri nükleer reseptörlere oranla daha fazla görüldü. Bu reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde bir dağılım gösteriyorlardı (Şekil 9A, 9B, 9C). Trofoblastik dev hücrelerde hem sitoplazmik hem de nükleer reseptörler oldukça yoğun bir dağılım gösteriyorlardı (Şekil 9D, 10A). Damarların etrafındaki trofoblast hücrelerinin sitoplazmalarında nokta şeklinde progesteron reseptörleri belirlendi (Şekil 10B, 10C). Dev hücrelerdeki sitoplazmik reseptörler hem diffuz hem de nokta şeklinde oldukça fazla görüldü. Nükleer reseptörlerin yoğunluğu oldukça azdı. Genel tabloya bakıldığında gebeliğin 20. gününde östrojen reseptörlerinin yoğunluğu progesteron reseptörlerine göre fazlaydı (Şekil 10D, 10E, 10F).

Tartışma ve Sonuç

Abrohomsohn ve Zorn (1993), Demir ve ark. (1989), Enders ve Schlafke (1967), Tachi ve ark. (1970), implantasyonun ratlarda 6. günde olduğunu söylemişlerdir. Bu çalışmada alınan kesitler incelendiğinde implantasyonun gebeliğin 6. gününde olduğu görülmüştür. Bazı araştırmacılar (Abrohomsohn ve Zorn, 1993; Benirschke, 2002;

Gürsoy ve Koptagel, 1997) laboratuvar rodentlerinde implantasyonun antimezometriyal olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda bölgesel ayırım yapıldığında, bulguların araştırmacıların bulgularıyla uygunluk gösterdiği saptanmıştır. Dellmann ve Eurell (1998), Enders ve Schlafke (1967) ve Gürsoy ve Koptagel (1997) trofoblastlarda mitozun bol olarak görüldüğü ve bu hücrelerin sito- ve sinsisyotrofoblast adı verilen iki tabaka halinde şekillendiği vurgulanmaktadır. Sunulan bu çalışmada da bu iki tabakanın ayrımı yapılmış ve çok sayıda mitotik figür belirlenmiştir. Trofoblastın maternal doku, maternal kan veya bunların salgılarıyla doğrudan doğruya temas kurduğunu Johnson ve Selwood (1996) ile Ogle ve ark. (1997) çalışmalarında ortaya koymuşlardır. Elde edilen bulgular araştırmacıların bulgularıyla paralellik göstermektedir. Bir grup araştırmacı (Davies ve Glasser, 1968; Enders, 1965; Soares ve ark., 1996) yaptıkları çalışmalarda, koriyoallantoik plasentada morfolojik ve fonksiyonel olarak iki ayrı bölgenin oluştuğunu ve bu bölgelerin bağlantı bölgesi (bazal bölge, junctional bölge) ve labirint bölge olarak adlandırıldığını, bazal bölgenin maternal yüzeyle bağlantı halinde olduğunu, trofoblastik dev hücrelerini, glikojen hücrelerini ve desidua hücrelerini içerdiğini, plasental labirintin plasentanın büyük bir kısmını kapladığını, bu bölgede oldukça ince olan fetal damarların bulunduğunu ve bu damarların etrafında trofoblast hücrelerinin yerleştiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmadaki bulgular araştırmacıların bulgularıyla tamamen uyumaktadır. Benirschke (2002) ve Davies ve Glasser (1968)'in yaptıkları çalışmada, gebeliğin 14. gününden sonra bazal bölgede küçük bazofilik hücreler, dev hücreleri ve vakuollü glikojen hücreleri tespit etmişlerdir. Çalışmamızda hazırlanan kesitleri incelendiğimizde aynı bölgede bu hücreler tanımlanmıştır. Placenta bariyerinin fötusun koriyon epitelini (trofoblast hücreleri), koriyon mezenseimi (embriyonal bağdokusu) ve damar endoteli ile uterus mukozasında da epitel katı, bağdokusu ve damar endotelinden oluştuğunu Enders (1965) belirtmiştir. Araştırmamızda da bariyeri oluşturan bu yapılar görülmüştür ve elde edilen bulgular araştırmacının bulgularıyla aynıdır. Junqueira ve ark. (1992), polisakarit olan glikojenin PAS reaksiyonu ile gösterilebileceğini söylemişlerdir. Sunulan bu çalışmadaki bulgular ve uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda elde edilen veriler diğer araştırmacıların bulgularıyla örtüşmektedir. Benirschke (2002) fareler üzerinde yaptığı çalışmada, dev hücrelerinde mitoz görülmediğini vurgulamıştır, bu çalışmada da gebeliğin 10. günündeki rat plasentasında dev hücrede mitotik

figüre benzeyen oluşumlar bulunmuştur. Bu nedenle aynı türden olan rat ve farelerdeki bu farklılık araştırıcının bulgusuyla uymamaktadır. Yine aynı çalışmada, dev hücrelerin gebeliğin 12. gününde daha büyük olarak görüldüğü ve her bir hücrenin PAS ile pozitif reaksiyon verdiği ileri sürülmüştür. Çalışmada da yapılan PAS boyaması ile bu hücrelerin pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır. Ayrıca Deane ve ark. (1962)'nin rat ve farelerde yaptıkları araştırmada PAS boyaması ile dev hücrelerinin sitoplazmasında orta derecede fakat farklı miktarda boyanan, bazen küçük nokta şeklinde granüller, bazen de daha büyük kitleler halinde boyanan materyal bulunduğunu bildirmişlerdir. Kesitlere uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda araştırıcının bulguları bizim bulgularımızı desteklemektedir. Dev hücrelerinin trofoblast kökenli olduğu, östrojen ve progesteron hormonlarını ve dolayısıyla bu hormonların reseptörlerini de taşıdıklarını Abrahamsohn ve Zorn (1993), Davies ve Glasser (1968), ile Hiroi ve ark. (1999) yaptıkları çalışmalarda bildirmişlerdir. İmmunohistokimyasal boyamalardan elde edilen bulgularda da, bu hücrelerin her iki hormona ait reseptörleri fazla sayıda bulduklarını bildirmişlerdir. Bir grup araştırıcı (Dellmann ve Eurell, 1998; Demir, 1995; Denker, 1993; Enders, 1965; Enders ve Schlafke, 1967; Enders ve Schlafke, 1969; Gürsoy ve Koptagel, 1997) yaptıkları çalışmalarda, trofoblast hücrelerinin bol mitoz geçirip sayılarını arttırdıklarını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da bu hücrelerde oldukça bol miktarda mitotik figür tespit edilmiştir. Demir (1995), Gürsoy ve Koptagel (1997), Junqueira ve ark. (1992), Ogle ve ark. (1989) ile Strauss ve ark. (1996)'nın çalışmalarında sinsisyotrofoblastların östrojen ve progesteron hormonunun sekresyonunda önemli rol oynadıklarına işaret etmişlerdir. Yapılan çalışmada, hücrelerde hem östrojen hem de progesteron reseptörleri tespit edilmiştir, bu bulgular araştırıcıların bulgularıyla paralellik göstermektedir. Östrojen ve progesteron reseptörlerinin sitoplazmik ve nükleer olmak üzere iki alt tipinin olduğu, progesteron reseptörünün ratlarda gebeliğin 9. gününde çok fazla olduğu, östrojen reseptörlerinin de benzer bir dağılım gösterdiği, Ogle ve ark. (1989) ile Ogle ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Guyton (1986)'da aynı bilgileri vermiş ve gebelik boyunca her iki hormonun seviyesinin giderek arttığını, fakat gebeliğin sonuna doğru progesteron miktarının sabit kaldığını hatta biraz azaldığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada hormon seviyeleri ölçülmemiş fakat uygulanan immunohistokimyasal metot ile bu hormonların taşıdıkları reseptörlerin yoğunluğu tespit edilmiş ve

elde edilen bulguların araştırıcıların bulgularıyla uyumlu olduğu görülmüştür.

Elde edilen bulguların sonucunda, rat plasentası epiteli, tek katlı prizmatik hücrelerden oluşuyordu. İmplantasyon antimezometriyal kısımda, plasentanın genel olarak labirint zon ve desidual zon'dan oluştuğu, labirint bölgesinin plasentada geniş bir yer tuttuğu, gebeliğin ilerlemesine bağlı olarak bu bölgede lakunların sayısının arttığı, trofoblastik dev hücreler, küçük bazofilik hücreler, sitotrofoblast ve sinsisyotrofoblast hücreler, glikojen hücreleri tespit edildi. Yapılan boyamalarla trofoblast hücrelerinde ve dev hücrelerinde nötral mukosubstansın fazla olduğu, asidik mukosubstansın az olduğu görüldü. İmmunohistokimyasal boyalarla trofoblast ve dev hücrelerinde östrojen ve progesteron hormon reseptörlerinin çok olduğu görüldü. Gebeliğin sonuna doğru progesteron reseptörlerinde azalmanın olduğu, fakat her iki hormona ait reseptörlerde reaksiyon şiddetinin her dönemde fazla olduğu dikkati çekti. Bu da plasentanın, canlılığın gebeliğe hazırlanması, gebeliğin başlaması ve sorunsuz bir şekilde devam etmesi için gerekli olan materyallerin (hormonlar, enzimler, elektrolitler, su, protein v.s.) gerek salgılanması ve gerekse dışarıdan temin edilmesi için ne kadar önemli bir organ olduğunu göstermektedir. Placenta hem östrojen hem de progesteron hormonunun ana kaynağıdır.

Östrojen ve progesteron hormonlarının hedef dokuları, bu dokuların hücre içi reseptörlerine bağlanma kapasiteleri ile belirlenir. Ratlarda bu hedef dokular uterus, ovarium, prostat, akciğer, beyin, sidik kesesi ve kemik olarak gösterilmiştir. Sonuç olarak, çalışmadan elde edilen bulguların ışığında, başta meme ve endometriyumda görülen bir grup hastalıkta ve östrojen ve progesteron hormonlarının etkilediği diğer hedef dokularda meydana gelebilecek hastalıkların teşhisinde bu hormonlara ait reseptör yoğunluğunun tespit edilmesi son derece önemlidir. Yapılan çalışma ile östrojen ve progesteron reseptörlerinin tespit edilmesinde immunohistokimyasal yöntemlerin parafinize edilmiş dokularda da rahatlıkla kullanılabileceği, çok iyi ve hızlı sonuçlar verdiği görülmüştür. Bu nedenle çalışma ileride yapılacak çalışmalara kaynak oluşturacak ve ışık tutacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi (HÜBAM) tarafından 250 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Abrahamsohn PA, 1983: Ultrastructural study of the mouse antimesometrial decidua. *Anatomy Embryology*, 166, 263-274.
- Abrahamsohn PA, Zorn TMT, 1993: Implantation and decidualization in rodents. *The Journal of Experimental Zoology*, 266, 603-628.
- Benirschke K, 2002: House (Domestic, laboratory) mouse. Erişim: <http://medicine.ucsd.edu/cpa/mous.html>. Erişim tarihi: 04.12.2003.
- Culling CFA, Allison RT, Barr WD, 1985: Cellular Pathology Technique. 4th Ed., Butterworths, London, pp. 214-255.
- Davies J, Glasser SR, 1968: Histological and fine structural observations on the placenta of the rat. *Acta Anatomica*, 69, 542-608.
- Deane HW, Rubin BL, Driks EC, Lobel BL, Leipsner, 1962: Trophoblastic giant cells in placentas of rats and mice and their probable role in steroid-hormone production. *Endocrinology*, 70, 407-419.
- Dellmann HD, Eurell J, 1998: Textbook of Veterinary Histology. 5th Ed. Baltimore, Philadelphia, London, Paris, Bangkok, Buenos Aires, Hong Kong, Munich, Sydney, Tokyo, Wrocław: Williams & Wilkins A Waverly Company, pp. 273-286.
- Demir R, Üstünel İ, Demir N, 1989: Light and electron microscopical observations on cellular interactions during initial stages of implantation and trophoblastic invasion in rats. *Placenta*, 10, 464-465.
- Demir R, 1995: İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. Ankara: Palme Yayıncılık.
- Denk H, Künzele H, Plenck H, Rüschoff J, Sellner W, 1989: Romeis Mikroskopische Technik. 17, neubearbeitete Auflage. Urban und Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, pp. 439-450.
- Denker HW, 1993: Implantation: A cell biological paradox. *The Journal of Experimental Zoology*, 26, 541-558.
- Enders AC, 1965: A comparative study of the fine structure of the trophoblast in several hemochorial placentas. *American Journal of Anatomy*, 116, 29-68.
- Enders AC, Schlafke S, 1967: A morphological analysis of the early implantation stages in the rat. *American Journal of Anatomy*, 120, 185-226.
- Enders AC, Schlafke S, 1969: Cytological aspects of trophoblast-uterine interaction in early implantation. *American Journal of Anatomy*, 125, 1-30.
- Gartner LP, Hiatt JL, 1997: Color Textbook of Histology. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: W. B. Saunders Company, pp. 382-402.
- Guyton AC, 1986: Tıbbi Fizyoloji (Textbook of Medical Physiology). 7. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi (İstanbul), 1430-1431.
- Gürsoy E, Koptagel E, 1997: Embriyoloji Atlası. Esnaf Ofset Matbaacılık.
- Hassa, O, Aştı RN, 1997: Embriyoloji. 3. Baskı (Ankara).
- Hiroi H, Inoue S, Watanabe T, Goto W, Orimo A, Momoeda M, Tsutsumi O, Taketani Y, Muramatsu M, 1999: Differential immunolocalization of estrogen receptor α and β in rat ovary and uterus. *Journal of Molecular Endocrinology*, 22, 37-44.
- Johnson MH, Selwood L, 1996: Nomenclature of early development in mammals. *Reproduction Fertilization Development*, 8, 759-764.
- Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO, 1992: Temel Histoloji. 7. Baskı, Barış Kitabevi (İstanbul), 532-542.
- Ogle TF, 1986: Evidence for nuclear processing of progesterone receptors in rat placenta. *Journal of Steroid Biochemistry*, 25, 183-190.
- Ogle TF, Mills TM, Soares MJ, 1989: Changes in cytosolic and nuclear progesterone receptors during pregnancy in rat placenta. *Biology of Reproduction*, 40, 1012-1019.
- Ogle TF, Dai D, George P, Mahesh VB, 1997: Stromal cell progesterone and estrogen receptors during proliferation and regression of the decidua basalis in the pregnant rat. *Biology of Reproduction*, 57, 495-506.
- Özer E, 1997: Dişi fetüs ve infantlarda östrojen ve progesteron reseptör aktivitesinin araştırılması. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 22(2), 69-77.
- Papanicolaou, GN, 1942: A new procedure for staining vaginal smears. *SCI*. 95, 438-439.
- Petraglia F, 1987: Localization, secretion and action of inhibin in human placenta. *Science*, 237, 187-189.
- Petraglia F, 1989: Identification of immunoreactive neuropeptide-Y in human placenta: localization, secretion and bindingsites. *Endocrinology*, 124, 2016-2022.
- Rivera J, Cano A, 1989: Oestrogen and progesterone receptors in human term placenta. Measurement by binding assays and immunological methods. *Placenta*, 10, 579-588.
- Soares MJ, Chapman BM, Rasmussen CA, Dai G, Kamei T, Orwig KE, 1996: Differentiation of trophoblast endocrine cells. *Placenta*, 17, 277-289.
- Strauss JF, Martinez F, Kiriakidou M, 1996: Placental steroid hormone synthesis: Unique features and unanswered questions. *Biology of Reproduction*, 54, 303-311.
- Tachi S, Tachi C, Lindner HR, 1970: Ultrastructural features of blastocyst attachment and trophoblastic invasion in the rat. *Journal of Reproduction Fertilization*, 21, 37-56.

** : Bu çalışma 2004 yılında Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yapılan 157330 nolu Doktora tezinden özetlenmiştir.

*Yazışma Adresi: İsmail Şah HAREM
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: harem63@hotmail.com

Beslenme ve Epigenetik

Belgin SIRIKEN^{1*}, Fatih SIRIKEN², Cengiz ÜNSAL², Gülay ÇİFTÇİ²

^{1*}Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Su ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı, ⁴Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye.

²Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye.

Geliş Tarihi: 25.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Epigenetik, DNA diziliminde herhangi bir değişiklik olmaksızın kromatin ve DNA'da reverzibil nitelikte meydana gelen moleküler değişiklikleri kapsayan kalıtsal mitotik çalışmalar olarak tanımlanır. Başlıca epigenetik süreçler metilasyon, kromatin modifikasyonu, fosforilasyon, ubiquitinilasyon ve sumuilasyondur. Bunlar arasında, DNA metilasyonu ile kromatin modifikasyonu en iyi bilinenidir. Kromatin, çekirdekte bir araya getirilen bir protein (histon) ve DNA kompleksidir. Bu kompleks, mikroRNA'lar ve küçük RNA interferansı (RNA girişimi) gibi bazı RNA formları, enzimler ve asetil gruplar gibi maddeler tarafından değiştirilebilir. Bu değişiklikler gen ifadesinin etkilenmesine neden olarak kromatin yapılarını da değiştirir. Epigenetik modifikasyonlar, büyümenin kritik dönemlerindeki beslenme ve hastalıklara yol açabilen gen ifadelerindeki değişimler arasında potansiyel bir bağlantı sağlar. Bu nedenle, epigenetik işaretlerin çevre, beslenme ve hastalıklar arasında mekanik bir bağlantı sağladığı kabul edilmektedir. Besinler ve biyoaktif gıda bileşenleri ya direkt olarak DNA metilasyonu ile histon modifikasyonunu katalize eden enzimleri inhibe ederek ya da bütün enzimatik reaksiyonlar için gerekli ulaşılabilir substratları değiştirmek suretiyle epigenetik fenomenleri etkileyebilir. Örneğin, yeşil çay yapraklarında bulunan folatlar, kahve, hububat taneleri, erik ve kivi meyvelerinde bulunan sinamik asit, yeşil çaydan elde edilen epigallocatechin-3-gallate (EGCG) gibi fenoller, kırmızı üzüm ve ürünlerinde bulunan resveratrol, turpgillerde bulunan izotiyosiyanat ve sulforafan, keten tohumundaki lignanlar, selenyum ve bazı vitaminler epigenetik besinler olarak değerlendirilir. Bu derlemenin amacı epigenetik değişikliklerle beslenme arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır.

Anahtar Kelimeler: Epigenetik, Besinler, Beslenme, Hastalık.

Nutrition and Epigenetic

Abstract: Epigenetics is defined as the mitotically heritable studies on potentially reversible, molecular modifications of DNA and chromatin without any alteration in DNA sequence. Many types of epigenetic processes have been identified such as methylation, chromatin modification, acetylation, phosphorylation, ubiquitylation and sumylation. However, DNA methylation and chromatin modification are the best known epigenetic processes. Chromatin is the a complex of proteins and DNA (histones) in the nucleus. The complex can be modified by substances such as acetyl groups, enzymes and some RNA forms like microRNAs and small interfering RNAs. This modification alters chromatin structure to influence gene expression. Epigenetic modifications provide a potential link between the nutrition during critical periods in development and changes in gene expression that may cause disease. It is recognized that epigenetic marks provide a mechanistic link among environment, nutrition and disease. Nutrients and bioactive food components can influence epigenetic phenomena either directly by inhibiting enzymes that catalyze DNA methylation, histone modifications, or by altering the necessary substrates availability for enzymatic reactions. For example, folate from green leafy vegetables, cinnamic acids from coffee, grain cereals, plums and kiwifruit, polyphenols like epigallocatechin-3-gallate (EGCG), resveratrol, sulforaphane and isothiocyanates, lignans from green tea, red grapes and their products, cruciferous vegetables, linseed, respectively, selenium and vitamin are considered as epigenetic nutritions. The aim of the review have shown that the link between nutrition in epigenetic changes.

Keywords: Epigenetic, Nutrition, Diet, Diseases.

Giriş

Canlı vücudunun düzenli olarak çalışması, DNA'nın kararlı bir şekilde muhafaza edilmesine ve gen ifadesinin doğal olmayan yollardan değişikliğe uğramamasına, başka bir deyişle aynı kalmasına bağlıdır. Bu değişiklikler, kimyasal veya metabolik nedenli mutasyonlar ve modifikasyonlara neden olarak sitotoksik ve kanserojenik etkilere yol açabilmektedir (Portela ve Esteller, 2010). DNA dizisinden bağımsız olarak gen ifadesinde meydana gelen kalıtsal değişiklikler "epigenetik" olarak

adlandırılmaktadır. Bu terim 1940'lı yıllarda Conrad Waddington tarafından "gelişim esnasında genotipin fenotipi nasıl oluşturduğunu inceleyen bilim dalıdır" şeklinde tanımlanmıştır (Dolinoy, 2007; Waddington 1940). Günümüzde ise bu terim "DNA dizisiyle açıklanamayan mitoz ve/veya mayoz bölünme ile kalıtsal olabilen gen fonksiyonundaki değişiklikler" olarak tanımlanmaktadır (Youngson ve Whitelaw, 2008). Bu değişikliklerin bazıları tüm yaşam boyunca kazanılmış olabileceği gibi, bazıları

reverzibil de olabilir, fakat kısmen stabildir (Bishop ve Ferguson, 2015). Yapılan çalışmalar kişilerin beslenme alışkanlıkları ile epigenetik değişikliklere neden olan gen ifade değişiklikleri arasında ilişkinin varlığını ortaya koymuştur. Başta gebelik döneminde olmak üzere annenin beslenme durumu ile babanın beslenme alışkanlıklarının doğacak çocukların bulaşıcı olmayan hastalıkların (diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, obezite ve kanser gibi) ortaya çıkmasında rol oynadığını göstermiştir (Supic ve ark., 2013; van Dijk ve ark., 2015). Bu nedenle bu derlemede epigenetik değişiklikler ile bu değişikliklerde beslenmenin önemi ele alınmıştır.

Epigenetik

Genetik kod olarak da isimlendirilen DNA, canlı sistemlerin gen ifadesi şeklinde ortaya çıkan metabolik özellikleri taşımakta ve bu özellikleri kalıtsal olarak da yeni nesillere aktarılmasını sağlamaktadır. Genetik kod üzerindeki bazı modifikasyonlar doğal metabolik süreçlerin sonucunda meydana gelir ve canlı metabolizmaların sağlıklı bir şekilde işlemesi gerekir. Bu doğal modifikasyonlar ve bunların kontrolü sayesinde hücre cinsi, hücre statüsü ve gelişim safhası gibi etkilere bağlı olarak DNA'nın hangi bölgelerindeki kodun gen ifadesiyle (transkripsiyon ve translasyon) proteinlere dönüştürüleceği belirlenir (Portela ve Esteller, 2010). Epigenetik, çeşitli faktörlerin etkisiyle farklı genetik varyasyonların oluşmasıdır. Bu epigenetik modifikasyonlar aynı zamanda kalıtsal özellikler taşımakta ve hücre bölünmesi sırasında yeni oluşan hücrelere de aktarılabilmektedir (Eser ve ark., 2016). Epigenetik modifikasyonlar arasında en yaygın olanı metillenmedir. Metillenme, DNA, RNA veya histon proteinlerinde meydana gelebilir. Bu olayda metil-transferaz enzimleri tarafından metil grubu (-CH₃) eklenmektedir. Bu modifikasyon başta gen ifadesinin düzenlenmesi, hücre farklılaşması ve embriyogenez gibi birçok biyolojik süreçte önemli rol oynayabilmektedir (Fu ve ark., 2014). DNA metilasyonu: metil transferaz (DNMT) adı verilen ve DNMT1, DNMT3a ve DNMT3b olmak üzere 3 izoformdan oluşan enzimler tarafından, 5'-sitozin-fosfat-guanozin-3' dinükleotidlerin sıklıkla bulunduğu 500-2000 baz çifti uzunluğundaki DNA bölgelerinde yer alan CpG (sitozin fosfat Guanin) adacıklarında görülmektedir. Bu enzimlerden DNMT1, mitotik hücre bölünmesi sırasında yeni oluşan hücrelere metilasyon profilini kopyalamaktan sorumlu iken, DNMT3a ve 3b ise

novo metilaz enzimleri olarak işlev görürler (Klose ve Bird, 2006).

Çevresel faktörler tarafından başlatılan epigenetik değişiklikler örneğin, obezite, tip 2 diyabet (T2D) ve kardiyovasküler hastalıklar (KVH) gibi metabolik bozukluklar ile ilişkilidir. Epigenetik farklılıklar genetik olarak aynı olduğu düşünülen monozygotik ikizlerde metabolik sağlık farklılıklarına sahip olabilmektedirler (Nilson ve ark., 2014). Günümüzde genetik varyasyonlar düşük oranda-örneğin obezitedeki payı %2-10 oranında-kalıtsal hastalık risklerinden sorumludur (Locke ve ark., 2015). Oysa epigenom ve metabolik hastalık riskleri üzerine prenatal ve postnatal çevresel etkilerini ele alan çalışmalar mevcuttur. Örneğin, prenatal ya da postnatal dönemde besinsel yetersizlik veya fazlalığın önemli oranda obezite insidensinde artışa neden olan epigenetik programlanmaya yol açmaktadır (van Dijk ve ark., 2015). Metabolik bozuklukların altında yatan epigenetik mekanizmalardan birincisi DNA modifikasyonu (metilasyon ve hidoksimetilasyon), ikincisi histon modifikasyonu (metilasyon, asetilasyon, ubiquitilasyon, sumuilasyon, sitrulinasyon ve ADP ribosilasyon) ve üçüncüsü ise non-koding (kodlama yapmayan) RNA'ların değiştirilmiş ifadesidir. Epigenetik varyasyon bireysel mekanizmaya bağlı olarak gen ifadesini uyarabilir veya baskılayabilir (Barres ve Zierath, 2016; Schones ve ark., 2015). Genelde, birinci mekanizmada; gen promotörlerinde DNA metilasyonu ve gen susturulmasına eğilimi artırırken, gen vücudunda DNA metilasyonu gen ifadesini teşvik eder (Dayeh ve ark., 2014). Bir nükleozomu şekillendirmek için, (ikinci mekanizma) DNA histon (H) proteininin merkezi (oktomer H2A, H2B, H3 ve H4'ün iki kopyasından oluşur) etrafını sarabilir ve histon modifikasyonları gen ifadesinin düzenlenmesinde modifikasyon veya transkripsiyon için DNA'nın maruz kalmasını artırabilir (Lawrence ve ark., 2016). H3 histon metilasyonu transkripsiyona hazır genlerin yakınında baskılayıcı bir işarete (H3K27me₃ gibi) veya aktif bir işarete (H3K4me₃ gibi) ev sahipliği yapar. Uzun non-koding RNA ve küçük non-koding RNA'lar (mikroRNA) gibi non-koding RNA'lar üçüncü epigenetik mekanizmayı temsil eder. Bu mekanizmada, metabolik bozukluklarda ya kromatinli etkileşim veya direk olarak gen ifadesini düzenler. Koordine edilmiş epigenetik değişimler sadece gen ifadesini değil, aynı zamanda DNA onarımı ve realizasyonunu da kontrol eder (Barres ve Zierath, 2016; Schones ve ark., 2015).

Epigenetik ve bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH):

Epigenetik süreç, dokuya özel gen ifadesinin düzenlenmesinde merkezi rol oynar. Bu süreçteki değişiklikler, gen ifadesinde ve tüm yaşam süresince mevcut olan metabolizmada değişikliklere neden olabilir. Diabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar (KVH) ve obezite gibi bulaşıcı olmayan hastalıklar dünya genelinde meydana gelen ölümlerin %60'undan sorumludur. Fötal ve erken postnatal çevrenin BOH oluşma riski üzerine güçlü etkileri vardır ve epigenetik süreçler erken yaşam çevrelerinin gelecek hastalık riskleri üzerine etkileri nedeniyle mekanizmada kritik role sahiptir (Lillycrop ve Burdge, 2012). Bu konu ile ilgili olarak, doğum ağırlığı ve KVH kaynaklı ölümler ile obezite, hipertansiyon ve T2D arasında artan şekilde kuvvetli ilişkiler bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Barker ve ark., 1989; Godfrey ve Barker, 2001). Doğum öncesi erken yaşam beslenmesinin, yavruya daha sonra gelişen hastalıklar üzerine etkisi "Hollanda Açlık Kışı (Dutch Hunger Winter)" olarak bilinen ve 1944 yılında Hollanda'da kışın yaşanan kıtlıkta görülmüştür. Bu olayda, hamile anneler gebeliğin ilk üç ayında açlığa maruz kaldıklarında dünyaya gelen çocukların doğum ağırlığı üzerine etkisi olmazken, yetişkinlik dönemlerinde açlığa maruz kalmayanlara göre artan oranda obezite ve KVH riskinde artış görülmüştür. Oysa, anneleri hamileliğin daha ileriki dönemlerinde açlığa maruz kalanlarda daha düşük doğum ağırlığı görülmüş ve bu bireylerde insülin direnci ve hipertansiyon görülme olgularında artış görülmüştür (Painter ve ark., 2005). Bu durum, sadece açlık ile ilişkili fenotipik değişiklikler olmayıp, aşırı beslenme ile ilişkili metabolik hastalıkların görülme oranında da artışlar görülmektedir. Her iki durumda da doğum ağırlığı ve daha sonraki yaşamlarında insülin direnci ve obezite riski arasındaki ilişkide U ve J-şekillerin bu metabolik hastalıkların görülmesine neden olduğu görülmüştür. Beslenme ile ilgili olarak hayvan modelleri ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır. Bu amaçla, hamilelikte ve/veya laktasyon dönemlerinde izokalorik düşük proteinli diyet, global diyet kısıtlaması veya yüksek-yağ diyeti ile ratlar ve fareler ile ilgili hayvan modelleri çalışmaları yapılmıştır. Farklı diyetlerle beslenen annelerden doğan çocuklar obezite, insülin direnci, hipertansiyon ve artan serum kolesterol düzeyleri dahil kardiyometabolik hastalıklı insanlar şeklinde ortaya çıkan bozukluklardan farklı özellikler göstermiştir. Örneğin, gebelik döneminde protein kısıtlı diyetle beslenen ratlarda glukoz dengesinde

bozukluklar (Burns ve ark., 1997), vasküler fonksiyon bozuklukları (Torrens ve ark., 2006), bağışıklık sisteminde bozulmalar (Calder ve Yaqoob, 2000), oksidatif strese yatkınlık (Langley-Evans ve Sculley, 2005), yağ deposunda artış ve beslenme alışkanlığında değişiklikler görülmüştür. Bütün bunlar annenin diyetindeki değişimler tarafından yaşamlarının erken dönemlerinde fizyolojik değişikliklere maruz kalan yavruların fizyolojilerindeki kalıcı değişimler, metabolik yolak aktivitelerinde ve homostatik kontrol proseslerinde değişimlerle ortaya çıkan gen ifadesindeki uzun dönem değişimleri tetiklediğini ve bu nedenle yukarıda belirtilen olumsuz değişimler ortaya çıktığını göstermektedir (Lillycrop ve Burdge, 2012). Gen ifade değişimiyle ilgili olarak, örneğin, gebe ratların düşük proteinli diyet ile beslenmeleri glukokortikoid reseptör (GR) ifadesinde ve yavrularda karaciğer, akciğer, böbrek ve beyinde kortikosteroidleri devre dışı bırakan 11 β -hidroksisteroiddehidrojenaz tip II (11 β HSD)-2 ifadesinin azalmasına neden olur (Whorwood ve ark., 2003). Karaciğerde artan GR aktivitesi fosfofenol piruvat karboksikinas (PEPCK) ifadesini up-regülasyonunda (ortamda hormon az ya da yetersiz bulunduğu hedef hücredeki reseptör sayılarındaki artışı, hormona yanıt artışı ve aktivite glukoneogenezis kapasitesinde) bir artışa neden olur (Burns ve ark., 1997). Gen ifadesindeki uzun dönem değişimleri gebelik sırasında yetersiz diyetle beslenen annelerin yavruları erişkinlik dönemlerinde de bildirilmiştir. Gluckman ve ark. (2007) gebelik sırasında %30 global yetersiz diyet (*ad libitum*) ile beslenen annelerden doğan yavruların erişkinliklerinde peroxisomproliferator-activated receptors (PPARs) ve GR ifadelerinde down-regülasyona (hormon ortamda fazla bulunduğu hedef hücre reseptörlerinin azalışı ve sonucunda hormona yanıt azalışı) neden olur. Başka bir çalışmada ise bu çalışmanın aksine, çiftleşme öncesi – gebelik ve laktasyon süresi boyunca batı tipi beslenme yani aşırı beslenen anne ratların yavruları maternal obesitenin yanı sıra hiperfaji (oburluk-aşırı yeme), yağ dokusunda artış, kas kütlelerinde azalış, lokomotif aktivitede azalış ve yavrunun pubertaya erişim hızında artış yani erken ergenliğe girme görülmüştür (Guo ve Jen, 1995). Hayvan modelleri ayrıca baba diyetinin gelecekte BOH riski ile ilgili potansiyel önemini de göstermiştir. Corone ve ark. (2010) sütten kesme döneminden seksüel olgunluğa kadar düşük protein diyetle beslenen erkeğin yavrusunun karaciğerinde lipid ve kolesterol biyosentezinde görevli pek çok gen ifadesinde artışlar görülürken, kolesterol

esterlerin düzeyinde ise azalış saptanmıştır. Birçoğu hücrel proliferasyon ile ilişkili çok sayıda mikroRNA (miRNA)' ları kalıcı olarak değiştirilmiştir. Ng ve ark. (2010) babanın yüksek-yağlı-diyetinin (YYD) dişi yavrularında vücut ağırlığı, glukoz toleransındaki bozukluklar ve insülin hassasiyetindeki artışa neden olduğunu göstermiştir. Bu durum babanın YYD' i erişkin dişi yavrularının da 642 pankreatik adacık genlerinin ifadesini değiştirdiği belirlenmiştir. İfadesi değişen bu genler katyon ve ATP bağlanması, hücre iskeleti ve hücre içi transportunu kapsamaktadır.

Beslenmenin epigenetik modifikasyon ve kanser ilerlemesi ve/veya gelişmesi üzerine etkileri

Çok sayıda diyet bileşikleri kanserin gelişmesine veya inhibisyonuna neden olabilir. Bu oluşumlara yeşil yapraklı sebzelerdeki folat, kahve, hububat, erik ve kivedeki sinamik asit, yeşil çaydan epigallocatechin-3-gallate gibi polifenoller, kırmızı üzüm ve ürünlerinden resveratrol, turpgillerdeki izotiyosiyanat ve sulforafan, keten tohumundan lignan, selenyum ve vitamin E örnekleri verilebilir. Pek çok diyet bileşikleri epigenetik modifikasyonu etkilemek suretiyle kansere karşı koruyucu bir etkiye sahiptir (Supic ve ark., 2013). Bu besinsel etkiler organa özgü olabilir (Khare ve Verma, 2012). Soya fasulyesindeki polifenoller (Genistein) androjen reseptörlerinin ifadesini baskılar (Tablo 1).

Epigenetik obezite, T2D ve KVH' lar gibi eşzamanlı hastalığı pozitif enerji balansıyla büyük ölçüde ilişkilendirilmiştir (Cheng ve Almeida, 2014; Liu ve ark., 2017). Malnutrisyon, obez veya diyabetik hastalarda epigenetik profili değiştirebilir ve etkisi nesiller boyunca yavrularına aktarılabilir (Barres ve Zierath, 2016; van Dijk ve ark., 2015;). Yüksek-yağlı diyetin, kromatinde ve epigenom ara kuşaklarında kendine özgü varyasyonlara neden olduğu gösterilmiş, ayrıca düşük-doğum ağırlıklı kişilerin daha az DNA metilasyon plastisine sahip olduğu görülmüştür (Hjort ve ark., 2017; Jacobsen ve ark., 2014; Leung ve ark., 2014). Gebelik ve laktasyon sırasında yetersiz beslenme (açlık gibi) epigenetik etkileri nedeniyle böyle kişilerin yavrularında obezite ve T2D gelişme riskinde artış olmaktadır (Barres ve Zierath, 2016; van Dijk ve ark., 2015). Aksine, fiziksel aktivite enerji harcamasını artırarak obezite ve T2D gelişmesini önlemek için etkili olduğu ve bu durumun güçlü epigenetik yeniden programlanması ile ilişkili olduğu

gösterilmiştir (Merlotti ve ark., 2014; Mudaliar ve ark., 2016).

Metabolik bozukluklarda epigenetik yeniden programlanması

Obez ve diyabetik hastalarda DNA metilasyonu adipoz doku, karaciğer, iskelet kasları ve pankreas dahil dokularda metabolik değişikliklere giden değişimler keşfedilmiştir. Epigenetik yeniden programlanması; 1) İnsülin işareti (IRS1, IRS2, SORBS2), 2) İnsülin sekresyonu (PPARGC1A, CCD2, CILP2, FHI2 vs.), 3) Adiboz farklılıklar, transdiferasyonlar (PPARG, PPARGC1A vs) 4) Mitokondrial fonksiyon ve redoks regülasyonu (PPARGC1A, TFAM, MT-ND6 vs.) 5) Lipid ve glukoz hemostazı (SREBF1, ABCG1, CPT1A vs), sitokin sinyali ve inflamasyon (SOCS3, ADIPOQ, ABCG1) ve hücre siklus, apoptosis ve otofaji (DAPK3 VS CDKN1A) gibi kritik yolları veya düzenleyici prosesleri etkileyebilir (Cheng ve ark., 2018). Bu yollar obezite ve T2D' in patogenezinde rol oynadığı vurgulanmıştır. Örneğin, adipozit farklılaşma veya genişleme, kronik yangı ve insülin direnciyle ilişkili olan adibosit ve sitokin sekresyon regülasyonu ve sinyal yollarının bozukluğunda artışa katkıda bulunabilir (Rutkowski ve ark., 2015). Öte yandan, adibosit trans-diferensiyalleşmenin yer alması sonucu beyaz adiboz dokunun kahverengiye dönmesi enerji harcamasını, obeziteyi önleme ve insülin hassasiyetinde iyileşmeyi artırabilir (Atshuler-Keylin ve Kajimura, 2017).

Sonuç

Canlı vücudunun düzenli olarak çalışması, DNA' nın kararlı bir şekilde muhafaza edilmesine ve gen ifadesinin doğal olmayan yollardan değişikliğe uğramasına bağlıdır. Epigenetik, çeşitli faktörlerin etkisiyle farklı genetik varyasyonların oluşmasıdır. Bu epigenetik modifikasyonlar aynı zamanda kalıtsal özellikler taşımakta ve hücre bölünmesi sırasında yeni oluşan hücrelere de aktarılabilir. Epigenetik süreçte beslenmenin önemli rolü vardır. İnsanoğlunun kötü beslenme alışkanlıkları sonucu kimyasal veya metabolik nedenli birtakım mutasyonlar ve modifikasyonlar meydana gelerek gen ifadesi değişebilmektedir. Aşırı yağlı, düşük proteinli veya düşük kalorili beslenme veya aşırı kalorili beslenme tipleri gen ifadesindeki değişiklikleri tetiklemektedir. Bu değişikliklerin sonucu olarak metabolizmada da birtakım değişikliklere neden olmaktadır. Tüm bu

değişiklere bağlı metabolik hastalıklar (diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar ve obezite gibi) görülmektedir. Özellikle gebelik dönemindeki beslenme bozuklukları, yavrunun ileriki yaşamında bu metabolik hastalıkların görülme riskini artırmaktadır. Yavrunun epigenetik değişikliklerinde sadece anne değil, baba da önemli rol oynamaktadır. Babanın özellikle erişkinlik dönemine kadar (düşük proteinli diyetle beslenme gibi) beslenme durumu ve sonraki beslenme alışkanlıkları çocuklarının ileriki dönemlerinde adı geçen hastalıkların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır.

Sağlıklı toplum ve nesil için fiziksel aktivite ile beraber hem annenin hem de babanın beslenme alışkanlıklarının düzenlenmesi ve doğacak çocukların iyi beslenme alışkanlıkları ile kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve obezite başta olmak üzere epigenetik değişikliklere bağlı hastalıkların görülme oranının azaltılabileceği, selenyum, vitamin E, çinko, omega 3, α -linoleik asit, polifenol, folik asit, izotiyosinat gibi bileşikler içeren gıdaların yenmesi kansere yol açan epigenetik değişikliklerin oluşmasını önleyebileceği bilinmektedir.

Tablo. 1. Gıda bileşenlerinin epigenetik ve anti-kanser etkileri (Bishop ve Ferguson, 2015).

Gıda Bileşeni	Kaynak	Epigenetik veya Hücrel Etkileri	Kanser Etkileri
Polifenoller: Genistein	Soya fasülyesi	Androjen reseptör (ER- β)'ün ifadesinin baskılanması DMNT'in inhibisyonu RAR β , p16 ve MGMT promotorlarının demetilasyonu Mir-29a ve mir-1256 promotorlarının demetilasyonu DNMT 3b inhibitör: resveratrol	PCa hücre proliferasyon ve invazyonunun inhibisyonu PCa ve göğüs kanser riskinin azaltılması
Polifenoller: Resveratrol	Üzüm, fıstık	sirkülasyonunda artışı ile RASSF-1 α metilasyonun azalması Androjen reseptörün ifade baskılanması	PCa ve göğüs kanser riskinin azaltılması
Polifenoller: Epigallocatechin-3-gallat	Yeşil çay	TSG promotorların metilasyonunu baskılatır ve/veya demetilasyonu HDAC aktivitesi inhibisyonu	Antioksidant aktivite; anjiyogenesinin inhibisyonu; Apoptosisin başlaması İnsan pankreatik adenokarsinoma hücre hattında invaziv metastasin inhibisyonu
İsotiyosiyanat	Turpgiller	Ksenobiyotik bileşiklerüketimi, sigara içme ve turpgillerin tüketimi ile etkileşimi	Anti-kanser etkileri:apoptozisi başlatır ve akciğer hücrelerinde metastatic üreme potansiyelini baskılatır.
Folat	Perikonseptiyonal folik asit desteği; Koyu yeşil yapraklı sebzeler	Yavrularda daha yüksek IGF2 metilasyonu Daha yüksek HMLHI promotor metilasyonu	Daha düşük doğum ağırlığı CRC riski ile ilişkili
Çinko	Deniz ürünleri, sığır eti, koyun eti	Çinko yetersizliği protein kinaz B'yi başlatabilir ve böylece PTEN aktivitesini inhibe eder veya yangısal yolak ile ilişkili alternatif kanseri inhibe eder.	İnsan prostatik karsinoma hücre hattında hücre üremesi inhibisyonu
α -linoleik asit	Ketentohumu	Erkek Fisher ratlar beslendiğinde, COX 1 ve COX 2 ifadesinde azalış, Beyin ile ilişkili genlerin ifadesinde değişiklik	Tümör insidensi, çoğalması ve büyüklüğünde küçülme, Yumurtalık kanser insidensinde ve ciddiyetinde azalış, Beyin gelişimi üzerine etkileri
Omega 3-EPA ve DHA	Balık yağı	Sayırsız kanser hücre hatlarında COX 2'nin metilasyonu COX 2 sessizliği ile ilişkilidir; Maternal PUFA'nın alımı yavruda FADS 2'nin epigenetik regülasyonunu etkiler.	Balık yağı tümör başlangıcı sırasında apoptosi artırır ve COX 2 yolak yoluyla hareket eder; Daha düşük COX 2 ifadesi
Trans yağ asitleri	Endüstriyel işlenmiş gıdalar ve ette düşük düzeyde	Yavrunun beyninde DNA hipometilasyonu Histon modifikasyonu Diyetle yüksek omega 6 PUFA 'ya yanıtta Er geninde Sacl bölgesinde hipometilasyon	Serum trans MUFA düzeylerinin 7 yıllık takibide invaziv göğüs kanser riski ile ilişkili bulunmuştur.

PCa: Prostat kanseri

Kaynaklar

- Altshuler-Keylin S, Kajimura S, 2017: Mitochondrial homeostasis in adipose tissue remodeling. *Sci Signal*, 10, pii: eaai9248
- Barker DJ, 2004: Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health*, 58 (2), 114-115.
- Barres R, Zierath JR, 2016: The role of diet and exercise in the transgenerational epigenetic landscape of T2DM. *Nat Rev Endocrinol*, 12, 441-51.
- Bishop KS, Ferguson LR, 2015: The interaction between epigenetics, nutrition and the development of cancer. *Nutrients*, 7, 922-947.
- Burns CM, Chu H, Rueter SM, Hutchinson LK, Canton H, Sanders-Bush E, Emeson RB, 1997: Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature*, 387(6630), 303-8.
- Cheng Z, Almeida FA, 2014: Mitochondrial alteration in type 2 diabetes and obesity: an epigenetic link. *Cell Cycle*, 13, 890-7.
- Cheng Z, Zheng L, Almeida F, 2018: Epigenetic reprogramming in metabolic disorders: nutritional factors and beyond. *JNB*, 54, 1-10.
- Corona M, Estrada E, Zurita M, 2010: Differential expression of mitochondrial genes between queens and workers during caste determination in the honeybee *Apis mellifera*. *J Exp Biol*, 8(11), e1000506.
- Dayeh T, Volkov P, Salo S, Hall E, Nilsson E, Olsson AH, Kirkpatrick CL, Wollheim CB, Eliasson L, Rönn T, Bacos K, Ling C, 2014: Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and nondiabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genet*, 10(3), e1004160.
- Dolinoy DC, Weidman JR, Jirtle RL, 2007: Epigenetic gene regulation: Linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol*, 23, 297-307.
- van Dijk SJ, Molloy PL, Varinli H, Morrison JL, Muhlhausler BS, 2015: Epigenetics and human obesity. *Int J Obes*, 39, 85-97.
- Eser BE, Yazgan ÜC, Gürses AA, Aydın M, 2016. Diabetes Mellitus ve Epigenetik Mekanizmalar. *Dicle Tıp Derg*, 43 (2), 375-382.
- Fu Y, Dominissini D, Rechavi G, He C, 2014: Gene expression regulation mediated through reversible m(6)A RNA methylation. *Nat Rev Genet*, 15, 293-306.
- Gluckman PD, Lillycrop KA, Vickers MH, Pleasants AB, Phillips ES, Beedle AS, Burdge GC, Hanson MA, 2007: Metabolic plasticity during mammalian development is directionally dependent on early nutritional status. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(31), 12796-12800.
- Godfrey KM, Barker DJ, 2001: Fetal programming and adult health. *Public Health Nutr*, 4, 611-624.
- Gua F, Jen KI, 1995. High feeding during pregnancy and lactation affects offspring metabolism in rats. *Physiol Behav*, 57(1), 681-686.
- Hjort L, Jorgensen SW, Gillberg L, Hall E, Brons C, Frystyk J, Vaag AA, Ling C, 2017: 36 h fasting of young men influences adipose tissue DNA methylation of LEP and ADIPOQ in a birth weight-dependent manner. *Clin Epigenetics*, 9, 40.
- Lawrence M, Daujat S, Schneider R, 2016: Lateral thinking: how histone modifications regulate gene expression. *Trends Genet*, 32, 42-56.
- Leung A, Parks BW, Du J, Trac C, Setten R, Chen Y, Brown K, Lusic AJ, Natarajan R, Schones DE, 2014: Open chromatin profiling in mice livers reveals unique chromatin variations induced by high fat diet. *J Biol Chem*, 289, 23557-67.
- Lillycrop KA, Burdge GC, 2012: Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract Res Clin Endocr Metab*, 26, 667-676.
- Liu L, Zheng LD, Donnelly SR, Emont MP, Wu J, Cheng Z, 2017: Isolation of mouse stromal vascular cells for monolayer culture. *Methods Mol Biol*, 1566, 9-16.
- Merlotti C, Morabito A, Pontiroli AE, 2014: Prevention of type 2 diabetes; a systematic review and meta-analysis of different intervention strategies. *Diabetes Obes Metab*, 16, 719-27.
- Mudaliar U, Zabetian A, Goodman M, Echouffo-Tcheugui JB, Albright AL, Gregg EW, Mohammed KA, 2016: Cardiometabolic risk factor changes observed in diabetes prevention programs in US settings: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med*, 13, e1002095.
- Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, Barres R, Owens JA, Morris MJ, 2010: Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature*, 467, 963-966.
- Nilsson E, Jansson PA, Perfilyev A, Volkov P, Pedersen M, Svensson MK, Poulsen P, Ribel-Madsen R, Pedersen NL, Almgren P, Fadsta J, Rönn T, Klarlund Pedersen B, Scheele C, Vaag A, Ling C, 2014: Altered DNA methylation and differential expression of genes influencing metabolism and inflammation in adipose tissue from subjects with type 2 diabetes. *Diabetes*, 63, 2962-76.
- Rutkowski JM, Stern JH, Scherer PE, 2015: The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol*, 208, 501-12.
- Supic G, Jagodic M, Magic Z, 2013: Epigenetics: A New Link Between Nutrition and Cancer. *Nutr Cancer*, 65, 781-792.
- Torrens C, Brawley L, Dance CS, Itoh S, Poston L, Hanson MA, 2002: First evidence for transgenerational vascular programming in the rat protein restriction model. *J Physiol*, 543, 41-42.
- Jacobsen SC, Gillberg L, Bork-Jensen J, Ribel-Madsen R, Lara E, Calvanese V, Ling C, Fernandez AF, Fraga MF, Poulsen P, Brønns C, Vaag A, 2014: Young men with low birthweight exhibit decreased plasticity of genome-wide muscle DNA methylation by high-fat overfeeding. *Diabetologia*, 57, 1154-8.
- Karlsson O, Baccarelli AA, 2016: Environmental health and long non-coding RNAs. *Curr Environ Health Rep*, 3, 178-87.
- Khare S, Verma M, 2012: Epigenetics of colon cancer. *Methods Mol Biol*, 863, 177-185.
- Klose JR, Bird AP, 2006: Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. *Trends Biochem Sci*, 31(2), 90-97.
- Langley-Evana SC, Sculley DV, 2005: Programming of hepatic antioxidant capacity and oxidative injury in

- the ageing rat. *Mech Ageing Dev*, 126 (6-7), 804-812.
- Leung A, Parks BW, Du J, Trac C, Setten R, Chen Y, Brown K, Lusi AJ, Natarajan R, Schones DE, 2014: Open chromatin profiling in mice livers reveals unique chromatin variations induced by high fat diet. *J Biol Chem*, 289, 23557-67.
- Liu L, Zheng LD, Donnelly SR, Emont MP, Wu J, Cheng Z, 2017: Isolation of mouse stromal vascular cells for monolayer culture. *Methods Mol Biol*, 1566, 9-16.
- Locke AE, Kahali B, Berndt SI, Justice AE, Pers TH, Day FR, et al., 2015: Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature*, 518, 197-206.
- Painter RC, Roseboom TJ, Bleker OP, 2005: Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Repro Toxicol*, 20, 345-352.
- Portela A, Esteller M, 2010: Epigenetic modification and human disease. *Nat Biotechnol*, 28(10), 1057-1068.
- Pietilainen KH, Ismail K, Jarvinen E, Heinonen S, Tummers M, Bollepalli S, Lyle R, Muniandy M, Moilanen E, Hakkarainen A, Lundbom J, Lundbom N, Rissanen A, Kaprio J, Ollikainen M, 2016: DNA methylation and gene expression patterns in adipose tissue differ significantly within young adult monozygotic BMI-discordant twin pairs. *Int J Obes*, 40, 654-61.
- Schwenk RW, Vogel H, Schurmann A, 2013: Genetic and epigenetic control of metabolic health. *Mol Metab*, 2, 337-47.
- Schones DE, Leung A, Natarajan R, 2015: Chromatin modifications associated with diabetes and obesity. *ATVB*, 35, 1557-61.
- Waddington C, 1940: Organisers and genes. UK Cambridge University Press, Cambridge.
- Youngson NA, 2008: Whitelaw, E. Transgenerational epigenetic effects. *Annu Rev Genom Hum G*, 9, 233-257.

***Yazışma adresi:** Belgin SIRIKEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim Dalı Kurupelit Kampüsü, Samsun-Türkiye
e-mail: bsiriken@omu.edu.tr

Şanlıurfa Yöresi Ankara Tiftik ve Halep Keçi Irklarına Ait Bazı Biyokimyasal Kan Parametreleri ile Malondialdehit Düzeylerinin Tespiti

Sema GÜRGÖZE^{1*}, Esra GÖKALP²

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

²Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 12.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmanın amacı Ankara Tiftik ve Halep ırkı keçilere ait kan örneklerinde bazı biyokimyasal parametreler ile malondialdehit düzeylerinin belirlenmesidir. Araştırmada, Şanlıurfa ili Eyyübiye merkez ilçesinde yetiştirilen iki farklı işletmedeki 6 aylık, klinik olarak sağlıklı, 46 adet Ankara Tiftik ve 48 adet Halep ırkı keçi kullanıldı. Bu hayvanlara ait serum örneklerinde Alkalen fosfataz (ALP), Alanin transaminaz (ALT), Aspartat transaminaz (AST), kolesterol, kreatinin, glikoz, total protein, trigliserit, üre, kalsiyum (Ca), sodyum (Na), potasyum (K), fosfor (P), magnezyum (Mg) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü. Kan serumu biyokimyasal değerleri bakımından Ankara keçilerinde kolesterol (P<0.05), kreatinin (P<0.001), glukoz (P<0.01), total protein (P<0.01), Ca (P<0.001), K (P<0.001) ve Mg (P<0.05) düzeylerinin Halep keçilerine göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek olduğu saptandı. Sonuç olarak, ölçülen biyokimyasal parametreler bakımından ırk farklılıklarının dikkate alınması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Biyokimyasal parametreler, Malondialdehit, Ankara, Tiftik, Halep, Keçi, Serum.

The Determination of Some Biochemical Blood Parameters and Malondialdehyde Levels Related to Angora and Halep Goats in Sanliurfa Province

Abstract: This study was aimed at the determination of certain biochemical parameters and malondialdehyde levels in blood samples taken from Angora and Halep goats. Six-month-old and clinically healthy 46 Angora and 48 Halep goats, which were raised in two separate holdings located in the Eyyübiye central district of the Sanliurfa province, constituted the study material. Serum samples obtained from these animals were analyzed for Alkaline phosphatase (ALP), Alanine transaminase (ALT), Aspartate transaminase (AST), cholesterol, creatinine, glucose, total protein, triglyceride, urea, calcium (Ca), sodium (Na), potassium (K), phosphorus (P), magnesium (Mg) and malondialdehyde (MDA) levels by using a biochemical autoanalyzer. Comparative assessment of the serum biochemical parameters demonstrated that the cholesterol (P<0.05), creatinine (P<0.001), glucose (P<0.01), total protein (P<0.01), Ca (P<0.001), K (P<0.001), and Mg (P<0.05) levels measured in the Angora goats were significantly higher than the levels measured in the Halep goats. In result, it was concluded that the breed differences should be taken into consideration when the measurement of the serum levels of biochemical parameters are analyzed.

Keywords: Biochemical Parameters, Malondialdehyde, Angora, Halep, Goat, Serum.

Giriş

Keçiler, hastalıklara ve zor koşullara oldukça dayanıklı olmaları ve yüksek kalitede et ve süt üretebilme yetenekleri nedeniyle küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde ideal hayvanlar olarak kabul edilmektedirler (Silanikove, 2010). Türkiye’de yaygın olarak kıl keçisi yetiştirilmekle birlikte bu ırkı takiben tiftik keçisi (Ankara Keçisi) ve Kilis keçileri ile çeşitli melez keçilerde üretilmektedir (Daşkiran, 2012). Bununla birlikte Akdeniz, Güneydoğu Anadolu ve Ege bölgelerinde Halep keçilerine de rastlanmaktadır (Şimşek ve ark., 2015). Fizyolojik koşullarda, organizmada oksidanlar ve antioksidanlar bir denge halinde bulunmaktadır. Serbest radikallerin artması veya antioksidanların azalması oksidatif strese ve oksidatif hasara neden olmaktadır (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007;

Mutinati ve ark., 2013; Pourova ve ark., 2010). Oksidatif hasarın belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan malondialdehit (MDA) oksidatif stres altında lipid peroksidasyonu oluşumunun genel bir göstergesidir (Biondi ve ark., 2005; Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007; Morrow, 2000). Hekimler tarafından hematolojik ve biyokimyasal kan analizleri, hastalıkların teşhis ve tedavisinde, tedavinin seyrinin takibinde ve genel olarak hayvanların sağlık durumunun izlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Meyer ve Harvey, 2004). Her ırka özgü referans değerlerinin tespiti biyokimyasal tahlil sonuçlarının doğru değerlendirilmesi için önemlidir. Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı keçi ırklarında, ırk, yaş, cinsiyet, beslenme, gebelik ve mevsimin

biyokimyasal kan değerleri üzerine olan etkileri incelenmiştir (Balamurugan ve ark., 2015; Barwary ve ark., 2016; Madan ve ark., 2016; Piccione, 2012; Piccione, 2014; Tanrıtanır ve ark., 2010; Urwat ve ark., 2015). Urwat ve ark. (2015) Pashmina keçilerinde kış ve yaz mevsiminin biyokimyasal kan parametreleri üzerine etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, ALP, ALT, AST, HDL, trigliserit, albümin ve total protein düzeylerinin kış mevsiminde daha yüksek, üre ve LDL düzeylerinin ise daha düşük olduğunu, ancak ölçülen parametrelerde cinsiyetler arasında mevsimsel bir farklılık görülmediğini bildirmişlerdir. Piccione ve ark. (2012) serum elektrolitlerinde koyun ve keçiler arasında mevsimsel farklılıkların olduğunu rapor ederken, Tanrıtanır ve ark. (2010) Siirt kıl keçilerinde doğumdan sonra ALP, total protein ve kolesterol düzeylerinin önemli oranda arttığını saptamışlardır. Madan ve ark. (2016) Beetal erkek ve dişi keçi yavruları arasında kan biyokimyası bakımından (glukoz, trigliserit, kolesterol, BUN, total protein, albümin) önemli bir farklılık görülmediğini bildirirken, Balamurugan ve ark. (2015) Desi erkek keçilerinde, kolesterol hariç kan biyokimya değerlerinin (total protein, albümin, globülin, glukoz, üre, kreatinin, kalsiyum, fosfor) dişilere göre daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Yapılan literatür taramalarında Ankara Tiftik ve Halep keçilerinde biyokimyasal kan parametreleri ile MDA değerlerinin karşılaştırmalı ortaya konulduğu bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Mevcut çalışmada altı aylık Ankara Tiftik ve Halep keçi ırklarına ait bazı biyokimyasal kan parametreleri ve mineral madde düzeyleri ile MDA düzeylerinin tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak Şanlıurfa ili Eyyübiye merkez ilçesinde yetiştiriciliği yapılan benzer bakım ve beslenme koşullarına sahip iki farklı işletmedeki 6 aylık, klinik olarak sağlıklı, 46 adet Ankara Tiftik ve 48 adet Halep ırkı keçi kullanıldı. Her iki ırk için çalışmada kullanılan erkek ve dişi keçi sayıları birbirine yakın tutularak ırklar arasında cinsiyet farklılığından doğabilecek olası değişiklikler ortadan kaldırılmıştır. Keçilerden aynı gün V. jugularisten antikoagülsüz tüplere alınan kan örnekleri 3000 xg'de 10 dk santrifüj edildi. Kan örneklerinden ayrılan serumlar analiz edilinceye kadar -20 °C'de saklandı. Örneklemeler Mayıs ayı içerisinde gerçekleştirildi. Kan serumu örneklerinde ALP, ALT, AST, kolesterol, kreatinin, glukoz, total protein, trigliserit, üre, Ca, Na, K, P ve Mg düzeylerinin ölçümü biyokimya otoanalizörü (AIRONE 200, Medisis Medikal Sistemler Ltd.) kullanılarak gerçekleştirildi. Serumda MDA düzeyleri Satoh (1978) ve Yagi (1984)'den modifiye edilen metoda göre tiobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu ile ölçüldü. Çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşan MDA, peroksidasyon reaksiyonu için bir gösterge olarak kabul edildi. TBA ile MDA reaksiyon ürününün absorbanansı spektrofotometrede (Shimadzu UV 1601, Japan) 532 nm'de ölçüldü.

Araştırma sonucunda elde edilen veriler, SPSS 18.0 paket programında değerlendirildi. Independend samples t-testi yardımıyla gruplar arasındaki farklılıklar belirlendi. Tüm değerler ortalama \pm standart sapma ($x \pm SD$) olarak $P < 0.05$ olarak ifade edildi.

Tablo. Ankara Tiftik ve Halep Keçi Irklarına Ait Bazı Biyokimyasal Kan Parametreleri.

Parametreler	Ankara Tiftik n: 46			Halep Keçisi n: 48			P Değeri
	Ortalama	Standart Sapma	Alt-Üst	Ortalama	Standart Sapma	Alt-Üst	
Intrasellüler							
Antioksidan							
MDA(nmol/ml)	1.46	0.33	0.81-2.28	1.91	0.34	1.25-3.1	-
Enzimler							
ALP(U/L)	129.58	108.36	24-368	127.7	116.01	15-373	-
ALT(U/L)	18.23	13.53	11-77	13.44	7.32	6-53	-
AST(U/L)	80.23	50.03	16-278	67.51	56.17	25-366	-
Metabolitler							
T.Protein(g/dl)	6.75	1.10	4.5-8.5	5.27	1.99	2.5-10.01	P<0.01
Kolesterol(mg/dl)	53.27	9.77	34-80	40.88	14.64	19-76	P<0.05
Trigliserit(mg/dl)	28.81	13.90	9-71	19.65	11.04	7-65	-
Kreatinin(mg/dl)	0.56	0.07	0.39-0.68	0.43	0.14	0.20-0.76	P<0.001
Glukoz(mg/dl)	53.88	10.74	36-78	44.44	17.1	18-77	P<0.01
Üre(mg/dl)	10.81	3.72	4-18	8.88	5.11	3-27	-
Mineraller							
Ca(mg/dl)	8.63	1.12	6.4-10.6	6.8	2.3	3-12	P<0.001
Na(mmol/l)	152.65	64.11	105-459	123.09	23.91	100-188	-
K(mmol/l)	5.12	0.67	3.5-6.7	4.17	1.18	2.2-6.6	P<0.001
P(mg/dl)	6.6	1.54	4.0-10.1	4.99	1.51	2-7.2	-
Mg(mg/dl)	2.2	0.52	0.32-3.11	1.83	0.64	0.74-3.03	P<0.05

Bulgular

Ankara Tiftik ve Halep Keçi ırklarına ait bazı biyokimyasal kan parametreleri ve bunların diğer keçi ırkları ile olan karşılaştırmaları Tablo'da verilmiştir. Çalışmada, kan serumu biyokimyasal değerleri bakımından Ankara Tiftik keçilerinde kolesterol ($P<0.05$), kreatinin ($P<0.001$), glukoz ($P<0.01$), total protein ($P<0.01$), Ca ($P<0.001$), K ($P<0.001$) ve Mg ($P<0.05$) düzeylerinin Halep keçilerine göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek olduğu saptandı. ALP, ALT, AST, trigliserit, üre, Na, P, ve MDA düzeylerinde ise ırka bağlı önemli bir fark gözlenmedi ($P>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Laboratuvardan gelen sonuçların doğru bir şekilde yorumlanabilmesi için klinik olarak sağlıklı hayvanların referans değerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmada 6 aylık klinik olarak sağlıklı Ankara Tiftik ve Halep keçilerinde bazı biyokimyasal parametreler ile MDA düzeyleri karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Serbest radikal tayini için direkt yöntemlerin zorluğu nedeniyle daha çok reaksiyon ürünleri ölçülmektedir. Bunlar arasında en çok kullanılan indikatör MDA'nın ölçüldüğü TBA testidir (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007; Morrow, 2000; Pourova ve ark., 2010). Bu çalışmada MDA düzeyi Halep keçilerinde 1.91 ± 0.34 nmol/ml, Ankara Tiftik keçilerinde ise 1.46 ± 0.33 nmol/ml olarak ölçüldü. Çalışmamızda MDA değerleri bazı literatürlere (Aköz ve ark., 2017; Akşit ve ark., 2014; Aydın ve Köse, 2015; Fidancı ve ark., 2001; Yaraloğlu ve Özdemir, 2002) göre düşük olarak saptanmakla birlikte, Çetin ve ark. (2005)'nin koyunlarda yapmış olduğu bir çalışmanın bulgularıyla benzerlik gösterdi. Glukoz değerleri Halep keçilerinde 44.44 ± 17.10 mg/dl, Ankara Tiftik keçilerinde ise 53.88 ± 10.74 mg/dl olarak saptandı. Schultz (1968), ruminantlarda kan glikozunun normal olarak 40-50 mg/dl olduğunu bildirmektedir. Bu çalışmadaki glukoz düzeyleri çoğu araştırmacının sonuçlarıyla paralellik gösterirken (Balamurugan ve ark., 2015; İriadam, 2004; Khan ve ark., 2016; Madan ve ark., 2016; Şimşek ve ark., 2015), Saanen keçi oğlaklarında (Elitok, 2012) belirlenen değerlerden yüksek, Persian yaban keçilerinde (Omidi ve ark., 2018) ve Pakistan'ın güney Punjab bölgesindeki bir yaş altı keçilerde (Kiran ve ark., 2012) ölçülen glukoz değerlerinden ise düşük tespit edildi. Total protein değerleri Halep keçilerinde 5.27 ± 1.99 g/dl, Ankara Tiftik keçilerinde ise 6.75 ± 1.10 g/dl olarak bulundu. Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bazı yazarların (Balamurugan ve ark., 2015; İriadam, 2004; Madan ve ark., 2016;

Omidi ve ark., 2018; Piccione ve ark., 2014; Şimşek ve ark., 2015) bulguları ile benzerlik gösterirken, Elitok (2012)'un Saanen keçilerinde bildirdiği değerlerden düşük bulundu. Trigliserit değeri Halep keçilerinde 19.65 ± 11.04 mg/dl, Ankara Tiftik keçilerinde 28.81 ± 13.90 mg/dl olarak saptanırken, kolesterol seviyeleri Halep keçilerinde 40.88 ± 14.64 mg/dl, Ankara Tiftik keçilerinde ise 53.27 ± 9.77 mg/dl olarak tespit edildi. Ölçülen trigliserit değerleri, Elitok (2012)'un Saanen keçilerinde, Khan ve ark. (2016)'nın Maraz keçilerinde saptadıkları değerlerden düşük iken bazı yazarlarla uyumluluk gösterdi (Madan ve ark., 2016; Omidi ve ark., 2018; Urwat ve ark., 2015). Çalışmada belirlenen kolesterol değerlerinin Saanen (Elitok, 2012), Changthangi Pashmina (Urwat ve ark., 2015) ve Omani keçi ırkları (Al-Bulushi ve ark., 2017) ile Persian yaban keçisi (Omidi ve ark., 2018) ve Punjab bölgesi keçilerinde (Kiran ve ark., 2012) saptanan değerlere benzerlik gösterdiği ancak diğer ırklara ait değerlerden düşük olduğu gözlemlendi. (Balamurugan ve ark., 2015; Khan ve ark., 2016; Madan ve ark., 2016). Üre değeri Halep keçilerinde 8.80 ± 5.11 mg/dl, Ankara Tiftik keçilerinde 10.81 ± 3.72 mg/dl olarak bulunurken, kreatinin seviyeleri Halep keçilerinde 0.43 ± 0.14 mg/dl, Ankara Tiftik keçilerinde ise 0.56 ± 0.07 mg/dl olarak tespit edildi. Saptanan üre değerleri bazı yazarların (Al-Bulushi ve ark., 2017; Balamurugan ve ark., 2015; Elitok, 2012; Madan ve ark., 2016; Omidi ve ark., 2018; Şimşek ve ark., 2015) bildirdikleri değerlerden düşük olmakla birlikte sadece Khan ve ark. (2016)'nın Maraz keçilerinde elde ettiği bulgularla paralellik gösterdi. Kreatinin değerlerinin ise literatürlere göre düşük olduğu gözlemlendi (Balamurugan ve ark., 2015; Elitok, 2012; Omidi ve ark., 2018; Şimşek ve ark., 2015). ALP, AST ve ALT aktiviteleri Halep keçilerinde sırasıyla 127.70 ± 116.01 IU/L, 67.51 ± 56.17 IU/L, 13.44 ± 7.32 IU/L, Ankara Tiftik keçilerinde ise sırasıyla 129.58 ± 108.36 IU/L, 80.23 ± 50.03 IU/L, 18.23 ± 13.53 IU/L olarak tespit edildi. Bu çalışmada saptanan ALP, AST ve ALT aktivitelerinin literatürlere paralellik gösterdiği saptandı. (Al-Bulushi ve ark., 2017; Elitok, 2012; Khan ve ark., 2016; Kiran ve ark., 2012; Şimşek ve ark., 2015; Urwat ve ark., 2015). Na, K, Ca, P ve Mg değerleri Halep keçilerinde sırasıyla 123.09 ± 23.91 mmol/L, 4.17 ± 1.18 mmol/L, 1.70 ± 0.57 mmol/L, 1.61 ± 0.48 mmol/L ile 0.75 ± 0.26 mmol/L olarak bulundu. Ankara Tiftik keçilerinde ise belirtilen mineral madde düzeyleri sırasıyla 152.65 ± 64.11 mmol/L, 5.12 ± 0.67 mmol/L, 2.15 ± 0.28 mmol/L, 2.13 ± 0.49 mmol/L ile 0.90 ± 0.21 mmol/L olarak saptandı. Bu çalışmada Ankara Tiftik ırkı keçilerde bulunan mineral madde düzeyleri, literatürlere uyum gösterirken, Halep keçilerinde ölçülen mineral madde düzeyleri literatürlere göre düşük tespit

edildi (Balamurugan ve ark., 2015; Erdoğan ve ark., 2002; İriadam, 2004; Madan ve ark., 2016; Piccione ve ark., 2010; Polat ve Dellal, 2008). Kan serumu biyokimyasal değerleri bakımından Ankara keçilerinde kolesterol (P<0.05), kreatinin (P<0.001), glukoz (P<0.01), total protein (P<0.01), Ca (P<0.001), K (P<0.001) ve Mg (P<0.05) düzeylerinin Halep keçilerine göre istatistiksel açıdan önemli derecede yüksek olduğu saptandı. Ancak üre ve kreatinin hariç tüm parametrelerde her iki ırk arasında görülen farklılığın referans sınırlar içerisinde olduğu belirlendi. Bildirilen referans aralıkların dışında kalan bu parametrelerin ırka bağlı değişimden kaynaklandığı, Ankara Tiftik ve Halep keçi ırklarına özgü değerler olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yapılan çalışma ile bölgemizde yetiştirilen Ankara Tiftik ve Halep keçilerinde bazı biyokimyasal kan parametreleri için referans değerler belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin, bu ırklara ait hastalıkların teşhisinde, uygulanan tedavinin seyrinin izlenmesinde ve sağlık durumunun takibinde veteriner hekimlere fikir verebileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Aköz M, Aydın İ, Çitil ÖB, 2017: The effect of litter size and gender on immunoglobulins and oxidative stress in Damascus goats Eurasian. *J Vet Sci*, 33, 4, 208-213.
- Akşit H, Kırıl F, Yılmaz M, Ural M, 2014: Saanen keçilerinde erken ve geç laktasyon döneminde oksidatif durum. *Balikesir Sağlık Bil Derg*, 3, 2, 74-78.
- Al-Bulushi S, Shawaf T, Al-Hasani A, 2017: Some hematological and biochemical parameters of different goat breeds in Sultanate of Oman "A preliminary study". *Vet World*, 10, 4, 461-466.
- Aydın İ, Köse AM, 2015: Saanen ırkı keçilerde gebelik sırasında serum oksidatif durum ve biyokimyasal parametre düzeyleri. *Eurasian J Vet Sci*, 31,4,197-203.
- Balamurugan R, Durgalakshmi R, Sheeba A, 2015: Effect of gender on certain serum biochemical parameters of Desi goats in cauvery delta region. *J Anim Nutr and Physiol*, 1, 34-36.
- Barwary MS, Alkass JE, Ahmed SJ, 2016: Studies on the effect of selenium and vitamine on some haematological and biochemical parameters in female Meriz goats. *J Univ Duhok Agri Vet Sci*, 19,1, 210-215.
- Biondi C, Pavan B, Lunghi L, Fiorini S, Vesce F, 2005: The role and modulation of the oxidative balance in pregnancy. *Curr Pharm Desing*, 11, 2075-2089.
- Çetin H, Gürgöze SY, Keskin O, Atlı MO, Korkmaz Ö, 2005: Investigation of antioxidant enzymes and some biochemical parameters in ewes with gangrenous mastitis. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 303-308.
- Daşkıran İ, Koluman N, Konyalı A, 2012: Keçi Yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Elitok B, 2012: Reference values for hematological and biochemical parameters in Saanen goats breeding in Afyonkarahisar province. *Kocatepe Vet J*, 5, 1, 7-11.
- Erdoğan S, Ergün Y, Erdoğan Z, Konaş T, 2002: Hatay bölgesinde merada yetiştirilen koyun ve keçi serumlarında bazı mineral madde düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci*, 26, 177-182.
- Fidancı UR, Turgay F, Zengin S, Kargin F, Çelik S, Taşdemir U, 2001: Genotipin Ankara keçilerinde antioksidatif metabolizma üzerine etkisi. *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 975-981.
- İriadam M, 2004: Kilis keçilerine ait bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51, 83-85.
- Khan KMH, Ali MK, Abdullah MM, Amin SAH, 2016: Reference values for hemato-biochemical parameters in the Maraz goats. *Res Opin Anim Vet Sci*, 6, 2, 74-77.
- Kiran S, Bhutta AM, Khan BA, Durrani S, Ali M, Ali M, Iqbal F, 2012: Effect of age and gender on some blood biochemical parameters of apparently healthy small ruminants from Southern Punjab in Pakistan. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2, 4, 304-306.
- Lykkesfeldt J, Svendsen O, 2007: Oxidants and antioxidants in disease, oxidative stress in farm animals. *Vet J*, 173, 502-511.
- Madan J, Sindhu S, Gupta M, Kumar S, 2016: Hematobiochemical profile and mineral status in growing Beetal goats kids. *J Cell Tissue Res*, 16, 1, 5517-5522.
- Meyer DJ, Harvey JW, 2004: Veterinary Laboratory Medicine. "Interpretation and Diagnosis", 3rd ed., WB Saunders Company., Philadelphia, USA.
- Mutinati M, Piccinno M, Roncetti M, Campanile D, Rizzo A, Sciorsci RL, 2013: Oxidative stress during pregnancy in the sheep. *Reprod Dom Anim*, 48, 353-357.
- Morrow JD, 2000: The isoprostanes, their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. *Drug Metab Rev*, 32, 377-385.
- Omidi A, Nik HA, Nazifi S, 2018: Biochemical Reference Values For Healthy Captive Persian Wild Goat (Capra Aegagrus). *Comp Clin Pathol*, 27, 483-491.
- Pourova J, Kottova M, Voprsalova M, Pour M, 2010: Reactive oxygen and nitrogen species in normal physiological processes. *Acta Physiol*, 198, 15-35.
- Piccione G, Casella S, Lutri L, Vazzana I, Ferrantelli V, Caola G, 2010: Reference values for some haematological, haematochemical, and electrophoretic parameters in the Girgentana goat. *Turk J Vet Anim Sci*, 34, 197-204.
- Piccione G, Messina V, Vazzana I, Dara S, Giannetto C, Assenza A, 2012: Seasonal variations of some serum electrolyte concentrations in sheep and goats. *Comp Clin Pathol*, 21, 911-915.
- Piccione G, Monteverde V, Rizzo M, Vazzana I, Assenza A, Zumbo A, Niutta PP, 2014: Reference intervals of some electrophoretic and haematological parameters in Italian goats, comparison between Girgentana and Aspromontana breeds. *J of Appl Anim Res*, 42, 4, 434-439.
- Polat H, Dellal G, 2008: Ankara keçisi oğlaklarında serum kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) seviyelerinin değişimi.

- Ankara Üniv Ziraat Fak Tarım Bil Derg, 14, 2, 139-142.
- Satoh K, 1978: Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric Method. *Clin Chim Acta*, 90, 37-43.
- Schultz LH, 1968: Ketozis in dairy cattle. *J Dairy Sci*, 51, 1130-1140.
- Silanikove N, 2010: The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Rumin Res*, 35, 181-193.
- Şimşek Ö, Atmaca N, Güner B, Kabakçı R, Bilmen FS, 2015: Sağlıklı Halep keçilerinde bazı hematolojik ve biyokimyasal kan parametreleri. *Türk Vet Hek Brlg Derg*, 1, 2, 86-92.
- Tanrıtanır P, Ceylan E, Dede S, 2010: Sağlıklı Siirt Kıl keçilerinde doğum öncesi ve doğum sonrası bazı kan parametrelerinin araştırılması. *YYU Vet Fak Derg*, 21, 2, 103-105.
- Urwat U, Fazili IS, Ruby, Rafeequi TA, Shiekh FD, Naykoo NA, Malik FA, Shah RA, Ganai NA, 2015: Sex and seasonal variations in the serum biochemical profile of Changthangi Pashmina goats. *Anim Sci Rep*, 9, 4, 138-148.
- Yagi K, 1984: Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol*, 105, 328-331.
- Yaralıoğlu S, Özdemir N, 2002: Ruminantların eritrosit antioksidan enzim ve plazma lipid peroksidasyon düzeyleri üzerine tür ve cinsiyetin etkileri. *Fırat Üniv Sağ Bil Vet Derg*, 16, 1, 31-36.

***Yazışma Adresi:** Sema GÜRGÖZE

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 21280 Diyarbakır, Türkiye
e-mail: syaralioglu@hotmail.com

Şiş Köfte, Şiş Kebap ve Lahmacunlarda Et Türlerinin Araştırılması

Semra GÜRBÜZ¹, Serap KILIÇ ALTUN^{2*}

¹Mardin Artuklu Üniversitesi, Turizm ve Otel İşletmeciliği Yüksekokulu, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Mardin, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 21.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: İnsan tüketimine sunulan ekonomik değeri yüksek gıda maddelerinde hilelere sıklıkla rastlanabilmektedir. Bu hileler ekonomik, dini, ahlaki ve sağlık riskleri açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada Şanlıurfa ve Mardin illerindeki restoranlarda tüketime sunulan koyun ve sığır etinden yapılan şiş köfte, şiş kebab ve lahmacun harçlarında et türlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır. Şanlıurfa ve Mardin'deki restoranlardan satın alınan sırasıyla 31 (17 şiş köfte, 4 şiş kuşbaşı, 10 lahmacun içi) ve 34 (23 şiş köfte, 2 şiş kebab, ve 9 lahmacun içi) örnek olmak üzere toplam 65 örnek kullanılmıştır. Örnekler tek tırnaklı, domuz ve kanatlı etinin varlığı yönünden ELISA-TEK kullanılarak test edilmiştir. Test edilen 65 örnekten 2 (%3.1) şiş köfte örneğinde kanatlı eti tespit edilmiştir. Örneklerin hiçbirinde at ve domuz eti tespit edilmedi. Et ve et ürünlerindeki hilelerin sağlık riskleri oluşturabilme ihtimalinin önlenmesi ve haksız rekabete neden olması nedeniyle sık ve düzenli kontrollerin yapılması önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Et ürünleri, Et türünün tespiti, ELISA, Hile.

Investigation of Meat Species in Şiş Meatball, Şiş Kebab and Lahmacun

Abstract: Adulteration can be found frequently in food items with high economic value offered to human consumption. These adulterations are important for economic, religious, moral and health reasons. In this research, it was aimed to investigate the presence of meat species other than those declared to be in şiş meatballs, şiş kebabs and lahmacun mixtures made from sheep or beef meat, which were served in restaurants of Şanlıurfa and Mardin cities. A total of 65 samples consisting of 31 samples (17 şiş meatballs, 4 şiş kebabs and 10 lahmacun mixtures) from Şanlıurfa and 34 samples (23 şiş meatballs, 2 şiş kebabs and 9 lahmacun mixtures) from Mardin were purchased from the restaurants. The samples were tested for the presence of equine, pig and poultry meat by using the ELISA-TEK identification Kit. Poultry meat was detected in 2 (3.1%) şiş meatballs samples of tested 65 samples. No equine or porcine meat was detected in any of the samples. It is important to carry out frequent and regular checks to prevent health risks in meat and meat products and to avoid unfair competition.

Keywords: Meat products, Identification of meat species, ELISA, Adulteration.

Giriş

Düşük ekonomik değere sahip et türlerinin, et ve et ürünlerine kısmen katılması veya yüksek ekonomik değerli et türü yerine tüketiciye sunulması ile yapılan hile uygulamalarına tüm dünyada rastlanılmaktadır (Hsieh ve Ofori, 2014; Özpınar ve ark., 2012; Rahmati ve ark., 2016). Dünya nüfusundaki sürekli artış, piyasaya sunulan et miktarının talebi karşılamaması ve et fiyatlarındaki artış neticesinde cazip hale gelen bu tür hile uygulamaları son yıllarda daha sıklıkla görülmeye başlanmıştır (Bo ve ark., 2016; İşleyici ve ark., 2017; Sentandreu ve Sentandreu, 2014). İşlem görmüş et ürünleri (örneğin hamburger, hazır köfte vb.), işlem görmemiş etlere göre hileler açısından daha fazla risk oluşturmaktadır (Flores-Munguia ve ark., 2000; Hsieh ve Ofori, 2014; Özpınar ve ark., 2012). Türkiye'de ve diğer ülkelerde et ve et ürünlerindeki et türlerine ilişkin hileli uygulamaların tespitine yönelik çok sayıda araştırma bulunmaktadır (Ayaz ve ark., 2006; Atasever, 2011; Başkaya ve ark., 2004; Di Pinto ve ark., 2015; Günşen ve ark., 2006; İşleyici ve ark., 2017; Keyvan ve ark., 2017; Walker

ve ark., 2013 Yalçın ve Alkan 2012). Avrupa'da 2013 yılının başlarında % 100 dana kıyma olarak piyasaya sunulan ürünlerde at DNA'sı tespit edilmesi yaşanan büyük gıda skandallarından birini oluşturmuş ve ürünler piyasadan toplatılmıştır (Hsieh ve Ofori, 2014; Rahmati ve ark., 2016). Yapılan çalışmalar et ve et ürünlerindeki hile uygulamalarında tek veya birden fazla farklı et türünün katılması ile yapılabildiğini göstermektedir (Ayaz ve ark., 2006; Keyvan ve ark., 2017; Yosef ve ark., 2014).

Müslüman ve Yahudilerin domuz eti yemesinin dinen yasak olması nedeniyle et ve et ürünlerindeki hile uygulamaları dini açıdan endişelere neden olmaktadır (Bo ve ark., 2015). Bunun bir sonucu olarak da Müslüman topluluklar tükettikleri gıdanın içeriğinden emin olmak için Helal Sertifikası talep etmekte, geleneksel ve bölgesel ürünlere ilgi de artmaktadır (Sentandreu ve Sentandreu, 2014). Bu tür gıda güvenliği ihlalleri zoonoz hastalıklar, metabolik bozukluklar, alerji vb. gibi sağlık problemlerini de beraberinde getirme riski taşımaktadır. İnsan tüketimine uygun olmayan ilaç

kalıntıları ya da yeterince pişirilmemiş ve çiğ tüketilen etler yoluyla insanlara bulaşabilecek zoonoz hastalık etkenleri içerebilecek etlerin gıda zincirine girmesi insan sağlığı için tehlike oluşturmaktadır. (Bo ve ark., 2015; Hsieh ve Ofori, 2014; Sentandreu ve Sentandreu, 2014). Diğer taraftan, ekonomik olarak düşük değere sahip etlerin yüksek fiyatlı et olarak pazarlanması neticesinde haksız rekabet oluşturmakta ve tüketicinin ekonomik olarak aldatılmasına da neden olmaktadır. Bu tür durumlar tüketici güvenini olumsuz yönde etkilemektedir (Ballin, 2010; Ellis ve Goodacre, 2016). Her geçen gün artan tüketici bilincine bağlı olarak, günümüzde tüketiciler tükettikleri gıdaların içerikleri hakkında açık ve güvenilir bilgi talep etmektedir (Ballin, 2010; Sentandreu ve Sentandreu, 2014). Et ve et ürünlerindeki hilelerin önlenmesine yönelik yasal düzenlemeler ve kontrol çalışmaları yapılmakta, hızlı ve güvenilir testlerin uygulamaya konulmasına yönelik bilimsel çalışmalar ağırlık kazanmaktadır. Et türlerinin tespit edilmesinde; morfolojik, immunolojik, genetik; elektroforetik ve serolojik metodlar kullanılmaktadır (Camma ve ark., 2012; Ekici ve Akyüz, 2003; Kamber ve Özalp, 2009; Keyvan ve ark., 2017; Rahmati ve ark., 2016; Ulka ve ark., 2013).

Tüketime sunulan hazır gıdaların yanı sıra, lahmacun, şiş kebab, şiş köfte gibi gıdalarda ülkemizde çok yaygın tüketilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada; Güneydoğu Anadolu bölgesinde bulunan Şanlıurfa ve Mardin illerindeki restoranlarda tüketime sunulan koyun ve sığır etinden yapıldığı beyan edilen şiş köfte, şiş kebab ve lahmacun harçlarında tüketiciye beyan edilenin dışında kanatlı, domuz ve tek tırnaklı türü hayvanlara ait et türlerinin varlığının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Materyal: Çalışmada Şanlıurfa ve Mardin'deki restoranlardan satın alınan sırasıyla 31 (17 şiş köfte, 4 şiş kebab, 10 lahmacun harcı) ve 34 (23 şiş köfte, 2 şiş kebab, ve 9 lahmacun harcı) olmak üzere toplam 65 örnek kullanılmıştır. Örnekler tek tırnaklı, domuz ve kanatlı etinin varlığı yönünden ELISA-TEK (The Cooked Meat Species Identification Kit) kullanılarak test edilmiştir.

Örneklerin Hazırlanması: Örneklerin tamamı küçük parçalar haline getirilmiş ve her birinden 5'er gram tartılarak filtreli stomacher poşetlerine konulmuştur. Örneklerin üzerine 10 mL tuzlu su (%0.9 (0.15M) Sodium chloride) ilave edilerek

stomacher cihazında 60 sn parçalanması sağlanmıştır. ELISA-TEK (The Cooked Meat Species Identification Kit) yalnızca ısıl işlem görmüş örneklerde kullanıldığından çiğ olan örnekler 95-100 °C'de 15 dk süreyle su banyosunda tutulmuştur. Örnek üzerinde kalan kısmın berrak olmadığı durumlarda, örnek 10.000 G'de 10 dk santrifüj edilerek, berrak supernatant doku ekstraktı test için kullanılmıştır. Örneklerin üzerinde yağ tabakası biriken durumlarda, test edilecek örnekler yağ tabakasının alt kısmından alınmıştır. Örneklerin analizi, test prosedürü ve sonuçların değerlendirilmesi ELISA kiti ve reaktifler kullanılmadan önce 2-8 °C'den çıkarılarak oda sıcaklığına getirilmiştir. Test kitinin plak kullanımı, örnek sayısı, pozitif kontrol, % 1'lik pozitif kontrol ve negatif kontrol sayısına göre planlanmıştır. Pozitif kontrol için test kitinin pozitif kontrol solüsyonu, %1 lik pozitif kontrol için pozitif kontrol solüsyonunun %1'lik dilüsyonu ve negatif kontrol olarak da %0.9 (0.15M) tuzlu su ile hazırlanan solüsyonlar kullanılmıştır. Test kitinin yıkama solüsyonu deiyonize su ile 1:10 oranında seyreltilerek yıkama solüsyonu hazırlanmıştır. Azino-diethylbenzthiazoline sulphonic acid (ABTS) çalışma solüsyonu, test kiti içerisinde çıkan ABTS konsantre solüsyonu, peroxide citrate buffer ile 1/25 oranında dilüe edilerek hazırlanmıştır. Pozitif kontrol, %1'lik pozitif kontrol ve negatif kontroller ile örneklerin her birinden 100 µL plaka kuyucuklarına konulmuştur. Üzeri kapatılarak, oda sıcaklığında 60 dk. bekletilen plaka kuyucukları üç kez yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır. Aynı türün her bir kuyucuğuna 25 µL türe özgü anti-species biotinylate konulmuş ve üzeri kapalı halde 60 dk. oda sıcaklığında bekletilerek kuyucuklar yıkama solüsyonuyla 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra tüm kuyucuklara 25 µL peroxidase conjugate konularak, 30 dk bekletilmiş ve 6 kez yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır. Takiben kuyucuklara taze hazırlanmış ABTS çalışma solüsyonundan 50 µL konulmuş ve üzeri kapatılarak 30 dk oda sıcaklığında bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu ilave edilmiştir. Ölçüm işlemi için plak, ELISA okuyucusuna (ELX 500 Mikroplate Reader, Bio-Tek Inst., Inc.) yerleştirilmiş ve cihaz ortalama 414 nm (405-420 nm) dalga boyunda absorpsiyon değerlerine programlanmıştır. Pozitif kontrol, %1 pozitif kontrol, negatif kontrol ve örneklerin absorpsiyonları tespit edilmiştir. Kontrol ve örneklerin ortalama absorpsiyon değerleri ve bunların standart sapmaları hesaplanmıştır. Absorpsiyon değeri %1 pozitif kontrolün ortalama absorpsiyon değerine eşit veya daha yüksek olan örnekler pozitif olarak kabul edilmiştir. Eğer örneğin absorpsiyon değeri %1 pozitif

kontrolün ortalama absorbands değerinden daha düşük ise örnek negatif olarak değerlendirilmiştir.

Bulgular

Bu çalışmada test edilen toplam 65 örnekten, 2 (%3.1) şiş köfte örneğinde kanatlı eti tespit edilmiş, toplam 63 (%96.9) örnekte ise tavuk eti tespit edilmemiştir. Toplam 65 örneğin hiç birinde tek tırnaklı ve domuz eti varlığı tespit edilmemiştir (Tablo 1).

Tablo 1 . ELISA ile test edilen örnekler ve test sonuçları.

Örnek Türü	Örnek sayısı	Domuz eti	Tek tırnaklı eti	Kanatlı eti	Pozitif örnek sayısı (%)
Şiş Köfte	40	-	-	2	2(5)
Şiş Kebap	6	-	-	-	-
Lahmacun harcı	19	-	-	-	-
Toplam	65	-	-	2	2(3.1)

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada; test edilen 65 adet örneğin 2 (%3.1)'sinde kanatlı eti varlığı tespit edilmiştir. Türkiye'nin değişik illerinde yapılan çalışmalarda da et ve et ürünlerinde etiket bilgisi veya beyanın aksine tavuk eti ile yapılan hilelere sıklıkla rastlanılmaktadır. Gülşen ve ark. (2006) tarafından Bursa ve İstanbul'dan alınan 410 et ve et ürünü örneğinden 79 (%19.2)'unun hileli olduğunun tespit edildiği; bu örneklerden 65 hazır kıyma, 50 sucuk hamuru, 75 salam ve 60 sosis olmak üzere toplam 250 örneğin 27 (%10.8)'sinde kanatlı eti bulunduğu belirtilmektedir. Benzer şekilde, Türkyılmaz ve İrmak (2008) tarafından İzmir ve civarından toplanan 116 örneğin 18 (% 15.5)'inin etiket bilgilerinden farklı et türlerini içerdiği, örneklerden 21 hazır kıyma 21 köfte olmak üzere toplam 42 örneğin 6 (%14.2)'sında Çetin ve ark. (2008) tarafından İstanbul'dan toplanan 102 çiğ köfte örneğinin 12 (%11.7) sinde Atasever (2011) tarafından Aydın ve İzmir'de toplam 100 örnek üzerinde yapılan çalışmada %100 dana eti ifadesi bulunan 28 örneğin (8 salam, 5 sosis, 7 sucuk, 8 jambon) 11 (%39.2)'inde; İşleyici ve ark. (2017) tarafından Van ilinde %100 dana eti olduğu belirtilen 30 salam, 30 sosis, 30 sucuk olmak üzere toplam 90 adet işlenmiş et ürününden 1 (%1.1) salam örneğinde Keyvan ve ark. (2017) tarafından Ankara'da satışa sunulan 102 adet işlenmiş et ürününün (sucuk, salam, sosis) 15 (%14.7)'inde tür beyanına aykırı olarak kanatlı eti varlığının tespit edildiği bildirilmektedir. Yosef ve ark. (2014) tarafından Suudi Arabistan'da yapılan bir

çalışmada 77 et ürününün 51 (%66.2)'inde etiket bilgileri ile uyumsuzluk tespit edilmiştir. Hileli uygulamaların köftelerde %90.9, şiş kebaplarda %81.8 oranında olduğu ve köftelerde tavuk, hindi ve keçi eti, şiş kebaplarda ise tavuk ve koyun eti tespit edildiği bildirilmektedir.

Bu çalışmada, örneklerin hiç birinde tek tırnaklı ve domuz eti tespit edilmemiştir. Benzer şekilde Başkaya ve ark. (2004) ve Atasever (2011) tarafından yapılan çalışmalarda incelenen örneklerin hiç birinde tek tırnaklı ve domuz eti tespit edilmemiştir. Buna karşılık Çetin ve ark. (2008) tarafından analizi yapılan 102 çiğ köfte örneğinin 10 tanesinde domuz eti tespit edildiği, benzer şekilde Yalçın ve Alkan (2012) tarafından Mersin ve Adana piyasasından toplanan 140 et ve et ürününden 4 (%2.9) örnekte at eti tespit edildiği, örneklerin hiçbirinde domuz etine rastlanmadığı belirtilmektedir. Dünyanın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda da hileli uygulamaların yapıldığı raporlanmaktadır. Flores-Munguia ve ark. (2000) tarafından Meksika'da yapılan bir çalışmada analizi yapılan 23 hamburger eti örneklerinin 9'unda tek tırnaklı, 17 Meksika Sosisinin 5'inde beyan edilmeyen tek tırnaklı ve domuz eti tespit edildiği bildirilmektedir. Walker ve ark. (2013) tarafından İrlanda'da gıda güvenliği yetkili otoritesi tarafından yayınlanan bir basın bülteninde sığır etinden yapılmış 27 hamburger köftesinin 10 (% 37)' unun at DNA'sı, 23 (%85)' ünün ise domuz DNA'sı yönünden pozitif bulunduğunun bildirildiği belirtilmektedir.

Bizim çalışmamızda incelenen örneklerin hiçbirinde domuz ve tek tırnaklı eti ile yapılan hilelerin tespit edilmemesi, dini nedenlerin yanı sıra domuz ve tek tırnaklı hayvan üretim düzeyinin düşük olması ya da yetkili otoritelerce yapılan yoğun kontrollerle ilişkili olabileceği kanaatine varılmıştır. Yapılan çalışmalarda et ve et ürünlerindeki hileli uygulamaların birden fazla et türü ile de yapılabildiği bildirilmektedir (Keyvan ve ark., 2017; Çetin ve ark., 2008). Bu çalışmada hiç bir örnekte birden fazla tür ile yapılan hileli uygulamaya rastlanılmamıştır.

Yapılan çalışmalar ve bu çalışmanın sonuçları kırmızı et olarak beyan edilerek tüketime sunulan gıdalara sıklıkla tavuk eti karıştırılarak hile yapıldığını göstermektedir. Bu durum tavuk etinin kırmızı et türlerine göre daha ucuz olması ve bulunabilirliğinin yüksek olmasından kaynaklanabilir. Bunun yanında, hile uygulamalarının genellikle işlem görmüş et ve et ürünlerinde saptanması etin yapısının bozulmasına bağlı olarak hilenin test yapılmaksızın anlaşılmasından ileri gelebilir. Bu sonuçlar tüketicinin korunması ve haksız rekabetin önlenmesi

açısından etkin kontrollerin yapılmasının önem taşıdığını göstermektedir.

Kaynaklar

- Atasever DD, 2011: Isıl işlem görmüş et ürünlerinde ELISA tekniği ile farklı et türlerinin tespiti. Y Lisans tezi, Adnan Menderes Ü Sağ Bil Enst, Aydın.
- Ayaz Y, Ayaz ND, Erol I, 2006: A research note: Detection of species in meat and meat products using enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Muscle Foods*, 17, 214-220.
- Ballin NZ, 2010: Authentication of meat and meat products. *Meat Sci*, 86, 577-587.
- Başkaya R, Karaca T, Sevinç İ, Çakmak Ö, Yıldız A, Yörük M, 2004: İstanbul'da satışa sunulan hazır kıymaların histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kalitesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 15 (1-2):41-46.
- Bo H, Xianrong M, Liyuan Z, Jinyue G, Shaowen L, Hui J, 2015: Development of a sensitive and specific multiplex PCR method for the simultaneous detection of chicken, duck and goose DNA in meat products. *Meat Sci*, 10, 90-94.
- Cammà C, Di Domenico M, Monaco F, 2012: Development and validation of fast Real-Time PCR assays for species identification in raw and cooked meat mixtures. *Food Control*, 23, 400-404.
- Çetin O, Bingöl EB, Akkaya H, 2008: The microbiological, serological and parasitological quality of cig kofte (raw meatball) and its lettuce marketed in Istanbul. *Polish J Environ Studies*, 17, 701-706.
- Di Pinto A, Bottaro M, Bonerba E, Bozzo G, Ceci E, Marchetti P, Mottola A, Tantillo G, 2015: Occurrence of mislabeling in meat products using DNA-based assay. *J Food Sci. Technol*, 52(4), 2479-2484.
- Ekici K, Akyüz N, 2003: A Study with SDS-PAGE technique for the Species Identification of Raw Meat. *YYÜ. Vet. Fak. Derg*, 14 (2), 78-82.
- Ellis DI, Goodacre R, 2016: Detecting food authenticity and integrity. *Anal. Methods*, 8, 3281-3283.
- Flores-Munguia ME, Bermudez-Almada MC, Vazquez-Moreno L, 2000: A research note: Detection of adulteration in processed traditional meat products. *J Muscle Foods*, 11(4):319-325
- Günşen U, Aydın A, Ovalı BB, Coşkun Y, 2006: Detection of different meat species in raw meat and cooked meat products using ELISA technique. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 32, 45-52.
- Hsieh YP, 2000: Current development for the detection of meat species adulteration. In: Proceedings of the 53rd annual reciprocal meat conference pp. 72-73. Alabama.
- İşleyici Ö, Sancak YC, Tuncay RM, Mis A, Arslan F, 2017: Van ilinde satılan salam, sosis ve sucuklarda kanatlı ve tektirnaklı etlerinin varlığının ELISA tekniği ile araştırılması. *Van Vet J*, 28(2) 107-111.
- Kamber U, Özalp E, 2009: Fermente Türk sucuklarında et orijininin indirekt kompetatif ELISA ile belirlenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 6(1), 21-29.
- Keyvan E, İplikçioğlu Çil G, Çınar Kul B, Bilgen N, Şireli UT, 2017: Identification of meat species in different types of meat products by PCR. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 261-266.
- Orhan A, 2014: Aydın ilinde tüketilen yemeye hazır börek, lahmacun ve pidelerde kullanılan kıymaların tür tayinlerinin ELISA yöntemi ile tespiti. Doktora Tezi. Adnan Menderes Üniv Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Özpinar H, Tezmen G, Gökçe İ, Tekiner İH, 2013: Detection of animal species in some meat and meat products by comparatively using DNA microarray and real time PCR methods. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 19, 245-252.
- Rahmati S, Julkapli NM, Yehye WA, Basirun WJ, 2016: Identification of meat origin in food products-a review. *Food Control*, 68, 379-390.
- Sentandreu MA, Sentandreu E, 2014: Authenticity of meat products: Tools against fraud. *Food Research International*, 60, 19-29.
- Türkyılmaz Ö, İrmak H, 2008: Et ve et ürünlerinde ELISA tekniği ile türlerin tespiti. *Bornova Vet Kont Araşt Enst Derg*, 30 (44), 27-31.
- Ulca P, Balta H, Çağın İ, Şenyuva HZ, 2013: Meat species identification and halal authentication using PCR analysis of raw and cooked traditional Turkish foods. *Meat Sci*, 94, 280-284.
- Walker MJ, Burns M, Burns D, 2013: Horse meat in beef products-species substitution. *J Assoc Public Anal*, 41, 67-106.
- Yalçın H, Alkan, 2012: Et ve et ürünlerinde at ve domuz eti varlığının uhlenhuth presipitasyon halka, agar gel immuno diffuzyon ve enzyme-linked immuno sorbent assay metotları ile araştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 18 (6), 923-927.

***Yazışma adresi:** Serap KILIÇ ALTUN

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail:vetserapaltun@hotmail.com

Mardin’de Satışa Sunulan Geleneksel Fermente Sucukların Bazı Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özellikleri

Semra GÜRBÜZ, Aslı ÇELİKEL GÜNGÖR*

Mardin Artuklu Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Mardin, Türkiye.

Geliş Tarihi: 25.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışma, Mardin ilinde küçük kasap dükkânlarında geleneksel yöntemle üretilerek satışa sunulan sucukların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır. Mardin şehir merkezindeki kasaplardan satın alınan 32 adet sucuk örneği test materyali olarak kullanılmıştır. Mikrobiyolojik analizlerde 24 (%75) örnekte *Staphylococcus-Micrococcus* tespit edilmiştir. Toplam mezofilik aerob bakteri, koliform grubu, maya-küf ile *Staphylococcus-Micrococcus* sayılarının ortalaması sırasıyla 4.72×10^9 kob/g, 6.86×10^7 kob/g, 1.60×10^7 kob/g and 7.10×10^4 kob/g olarak tespit edilmiştir. Kimyasal analizler sonucunda örneklerin nem, yağ, protein oranları ile pH seviyesi ise sırasıyla %36.95, %30.71, %19.53, 5.54 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen mikrobiyolojik analiz sonuçları diğer bazı araştırmacıların sonuçlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Kimyasal analiz sonuçlarına göre, incelenen örneklerin %90.62’si rutubet/et proteini oranı, %93.75’i yağ/et proteini oranı, % 37.50’si rutubet içeriği ve %50’si pH değeri açısından Et ve Et Ürünleri Tebliğine ve/veya TS Türk Sucuğu Standardına uygun bulunmuştur. Standardize edilmiş metot ile kontrolsüz koşullarda üretilen geleneksel fermente sucukların kalitesinin yükseltilmesi için işletmelerin çok iyi denetlenmesi ve iyi kalitede üretim konusunda bilinçlendirilmeleri önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mardin, Sucuk, Mikrobiyolojik kalite, Kimyasal kalite.

Some Microbiological and Chemical Properties of Traditional Fermented Sausages Marketed at Mardin

Abstract: This study was performed to investigate the microbiological and chemical qualities of fermented sausages that are produced with traditional methods and sold in small butcher shops in Mardin city. Thirty-two sucuk samples purchased from the butchers in the city center of Mardin were used as test materials. In the microbiological analysis, *Staphylococcus-Micrococcus* were determined in 24 (75%) samples, The average counts of microbiological analyses were found to be 4.72×10^9 cfu/g, 6.86×10^7 cfu/g, 1.60×10^7 cfu/g and 7.10×10^4 cfu/g for total aerob mesophilic bacteria, coliform groups, yeast-mold and *Staphylococcus-Micrococcus* respectively. As a result of chemical analysis, the average values of moisture, fat, protein contents and pH level were determined as 36.95%, 30.71%, 19.53%, 5.54, respectively. The results of the microbiological analysis obtained in this study were higher than the results of some other researchers. According to the results of chemical analysis, 90.62%, 93.75%, 37.50%, 50% of the samples examined for moisture /meat protein ratio, fat/meat protein ratio, moisture content and pH value respectively were found to be in accordance with the Communiqué on Meat and Meat Products and/or TS Turkish Fermented Sausage Standard. It is important to strictly control and supervise the quality of traditional fermented sausages produced in uncontrolled conditions by an unstandardized method and to increase the awareness of enterprises to produce quality products.

Keywords: Mardin, Fermented sausages, Microbiological quality, Chemical quality.

Giriş

Fermente sucuk yüz yıllardan beri üretilen, ülkemizde ve dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak tüketilen geleneksel bir et ürünüdür (Fernandez ve ark., 2000; Kılıç, 2009; Stajic ve ark., 2012). Ülkemizde; geleneksel olarak evlerde ve küçük işletmelerde üretilen fermente sucuğun yanında endüstriyel olarak da sucuk üretimi yapılmaktadır. Duyusal özelliklerinden dolayı geleneksel yöntemle üretilen sucukların tüketiciler tarafından daha fazla tercih edildiği belirtilmektedir (Kaban ve Kaya, 2009; Soyer ve ark., 2005). Kurutulmuş fermente sucuğun üretimi sucuk

hamurunun hazırlanması, fermantasyon ve olgunlaşma/kurutma olmak üzere üç safhada gerçekleşmektedir (Soyer ve ark., 2005). Olgunlaşma safhasında çok sayıda mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişiklik meydana gelmekte ve bu değişiklikler sucuğun nihai kalitesinde belirleyici olmaktadır (Fernandez ve ark., 2000). Doğal iklim koşullarında olgunlaştırılan geleneksel fermente sucukların kalitesi ve güvenilirliği teknolojik ve hijyenik koşullar ile üretim tekniğine göre değişiklikler gösterdiğinden, her zaman aynı standartta ve kalitede ürün elde etmek kolay

olmamaktadır (Erçoşkun ve ark., 2010; Kılıç, 2009). Fermente sucuğa ilişkin olarak Türk Gıda Kodeksi (TGK)'nin 2012/74 numaralı Et ve Et Ürünleri Tebliğinde (TGK, 2012) ve Türk Standartları Enstitüsü (TSE)'nin TS 1070 Türk Sucuğu standardında; sucuğun kimyasal özellikleri ve sınıf özelliklerine ilişkin kriterler yer almaktadır (TGK, 2012; TSE, 2012a). Mardin'de geleneksel yöntemle üretilerek satışa sunulan fermente sucuk iklim koşullarının üretime daha uygun olduğu kış sezonu sürecinde kasap dükkânlarında üretilerek satışa sunulmaktadır. Türkiye'nin değişik illerinde üretilen geleneksel ve endüstriyel fermente sucukların kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesini tespit etmeye yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Atasever ve ark., 1998; Çon ve ark., 2002; Erdoğan ve Ergün, 2005; Öksüztepe ve ark. 2011; Pehlivanoglu ve ark., 2015; Sancak ve ark., 1996). Fakat Mardin'de üretilen sucuğun mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesine yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada; Mardin'de üretilerek tüketimine sunulan geleneksel sucukların bazı mikrobiyolojik ve kimyasal kalite özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal Metot

Materyal: Mardin'deki küçük ölçekli işletmelerde geleneksel olarak üretilen 32 sucuk örneği bu çalışmanın test materyali olarak kullanılmıştır. Örnekler Şubat 2018 tarihinde yerel kasaplardan tüketiciye sunulduğu şekilde satın alınmış ve soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir. Örnekler laboratuvara ulaştırılmalarını takiben mikrobiyolojik ve kimyasal analize alınmıştır.

Mikrobiyolojik analizler: Örnekler toplam mezofilik aerob bakteri (TMAB) sayımı için Plate Count Agar (Oxoid CM 325), koliform grubu mikroorganizmaların sayımı için Violet Red Bile Agar (Oxoid CMO 485), maya-küf sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA Difco B 13), *Staphylococcus-Micrococcus* sayımı için Baird-Parker Agar (BPA, Oxoid CM 275) besi yeri kullanılarak bakteriyolojik kültür yöntemiyle test edilmiştir (TSE, 2006; TSE, 2010; TSE, 2012b; TSE, 2014).

Kimyasal analizler: Örneklerin pH değeri TS 3136 ISO 2917, protein analizi TS 1748 ISO 937, yağ analizi TS 1744, rutubet miktarı tayini Nielsen (2003) tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır (Nielsen, 2003; TSE, 1974; TSE, 2001; TSE, 2002).

Bulgular

Bu çalışmada incelenen örneklerin mikrobiyolojik analizlerinde TMAB sayısı örneklerin 1.30×10^8 – 5.48×10^{10} kob/g, koliform grubu mikroorganizma sayıları 1.00×10^6 – 8.25×10^8 kob/g, maya-küf 1.80×10^4 – 1.39×10^8 kob/g aralıklarında tespit edilmiştir. Sucuk örneklerinin 8'inde *Staphylococcus-Micrococcus* tespit edilmezken, 24'ünde mikroorganizma sayısı 2.05×10^3 – 7.04×10^5 kob/g arasında bulunmuştur (Tablo 1). Kimyasal analizler sonucunda örneklerin pH seviyesi 4.48–7.09 arasında, rutubet miktarı %22.03–51.12, yağ miktarı %15.29–45.29, protein miktarı %12.97–28.05 değerleri arasında tespit edilmiştir (Tablo 2). Örneklerin rutubet/protein ve yağ/protein oranları Tablo 3'de verilmektedir.

Tablo 1. Sucuk örneklerinin mikroorganizma sayıları ve yüzde dağılımları.

Mikroorganizma Sayısı (kob/g)	TMAB		Koliform		Maya-küf		<i>Staphylococcus - Micrococcus</i>	
	n*	%	n	%	n	%	n	%
0	-	-	-	-	-	-	8	25.00
0-1.0x10 ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0x10 ¹ -9.9x10 ¹	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0x10 ² -9.9x10 ²	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0x10 ³ -9.9x10 ³	-	-	-	-	-	-	6	18.75
1.0x10 ⁴ -9.9x10 ⁴	-	-	-	-	6	18.75	14	43.75
1.0x10 ⁵ -9.9x10 ⁵	-	-	-	-	11	34.38	4	12.50
1.0x10 ⁶ -9.9x10 ⁶	-	-	24	75.00	7	21.87	-	-
1.0x10 ⁷ -9.9x10 ⁷	-	-	5	15.62	7	21.87	-	-
1.0x10 ⁸ -9.9x10 ⁸	26	81.24	3	9.38	1	3.13	-	-
1.0x10 ⁹ -9.9x10 ⁹	3	9.38	-	-	-	-	-	-
1.0x10 ¹⁰ -9.9x10 ¹⁰	3	9.38	-	-	-	-	-	-
Mikroorganizma	n	ort. (kob/g)	en az (kob/g)	en çok(kob/g)				
TMAB	32	4.72×10^9	1.30×10^8	5.48×10^{10}				
Koliform	32	6.86×10^7	1.00×10^6	8.25×10^8				
Maya-küf	32	1.60×10^7	1.80×10^4	1.39×10^8				
<i>Staphylococcus-Micrococcus</i>	24	7.10×10^4	2.05×10^3	7.04×10^5				

*n:örnek sayısı

Tablo 2. Sucuk örneklerinin kimyasal özellikleri ve yüzde dağılımları.

pH Değeri	n*	%	Rutubet miktarı (%)	n	%	Yağ miktarı (%)	n	%	Protein miktarı (%)	n	%
<4.59	2	6.24	<24.99	2	6.25	<19.99	4	12.50	<15.99	5	15.63
4.60-4.99	10	31.25	25.00-29.99	8	25.00	20.00-24.99	4	12.50	16.00-17.99	4	12.50
5.00-5.39	4	12.5	30.00-34.99	3	9.38	25.00-29.99	7	21.87	18.00-19.99	10	31.25
5.40-5.79	5	15.63	35.00-39.99	7	21.87	30.00-34.99	7	21.87	20.00-21.99	7	21.87
5.80-6.19	5	15.63	40.00-44.99	7	21.87	35.00-39.99	5	15.63	22.00-23.99	3	9.38
6.20-6.59	1	3.12	45.00-49.99	3	9.38	40.00-44.99	4	12.50	24.00-25.99	2	6.25
>6.60	5	15.63	>50.00	2	6.25	>45.00	1	3.13	>26.00	1	3.12
Özellik	ort.		en az		en çok						
pH Değeri	5.54		4.48		7.09						
Rutubet miktarı (%)	36.95		22.03		51.12						
Yağ miktarı (%)	30.71		15.29		45.29						
Protein miktarı (%)	19.53		12.97		28.05						

*n:örnek sayısı

Tablo 3. Sucuk örneklerinin rutubet değerlerinin protein ve yağ değerlerine göre yüzde dağılımları.

Oran	Rutubet miktarı/Protein miktarı		Yağ miktarı/Protein miktarı	
	n*	%	n	%
<2.5	29	90.62	30	93.75
>2.5	3	9.38	2	6.25

*n:örnek sayısı

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada sucuklardaki TMAB sayısı ortalama 4.72×10^9 kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu değer Erdoğan ve Ergün (2005) tarafından Kahramanmaraş'ta yapılan çalışmada bulunan 3.2×10^7 kob/g değeri ile Atasever ve ark. (1998) tarafından Konya'da yapılan çalışmada bulunan 5.7×10^6 kob/g değerinden yüksek, Sancak ve ark. (1996) tarafından Van'da yapılan çalışmada bulunan 3.3×10^8 kob/g değeri ile benzerdir. Çon ve ark. (2002) benzer donanım ve aynı metotla üretim yapan firmalar arasında TAMB sayısında oluşan farklılıkların üretim ve depolama sırasındaki teknolojik şartlardan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Dalmış (2007) tarafından geleneksel yolla üretilen sucuklarda fermantasyon ve kurutmaya bağlı olarak pH değerindeki düşüşün örneklerin TMAB sayısında azalmaya neden olduğunu bildirilmektedir. İncelenen örneklerin 16 (%50)'sında pH değerinin 5.40 ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda tespit edilen sonuçlar arasındaki farklılık olgunlaşmanın tamamlanmaması, üretim ve satış zincirindeki koşullar, kullanılan hammadde kalitesi ve starter kültür kullanımından kaynaklanabilir (Atasever ve ark., 1998; Öksüztepe ve ark., 2011; Sancak ve ark., 1996). Örneklerde ortalama 6.86×10^7 kob/g olarak tespit edilen koliform grubu mikroorganizmaların sayısı Sancak ve ark. (1996) ve Atasever ve ark. (1998) tarafından bulunan sırasıyla 5.2×10^3 kob/g ve 7.4×10^3 kob/g değerlerinden yüksek, Gökalp ve ark. (1988) tarafından bulunan 7.7×10^6 kob/g ile

yakındır. Koliform grubu mikroorganizma sayısının yüksekliği incelenen sucuk örneklerinin üretiminde hijyenik ve teknolojik kurallara uyulmaması kaynaklı olabilir. *Staphylococcus-Micrococcus*'lar fermente sucukların kalite özelliklerinin geliştirilmesi ve artırılmasında enzimatik ve teknolojik etkilere sahiptirler (Dinçer ve ark., 1995). Bununla birlikte fermente et ürünlerinde bulunabilme ihtimali olan *S. aureus* ürettiği enterotoksinleri ile gıda zehirlenmelerine neden olabilmektedir (Çon ve ark., 2002; Le Loir, 2003). Bu çalışmada 8 (%25) örnekte *Staphylococcus-Micrococcus* tespit edilmezken, 24 örnekte (%75) 2.05×10^3 - 7.04×10^5 kob/g arasında ortalama olarak 7.10×10^4 kob/g olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu değer Pehlivanoglu ve ark. (2015) tarafından İstanbul'da yapılan çalışmada bulunan ortalama 8.9×10^5 kob/g değerinden düşük, Atasever ve ark. (1998) tarafından tespit edilen 3.6×10^3 - 1.9×10^6 kob/g arasındaki değere yakındır. İncelenen örneklerde maya-küf sayısı ortalama 1.60×10^7 kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu sonuç Sancak ve ark. (1996) tarafından bulunan 7.3×10^5 kob/g değeri ile Erdoğan ve Ergün (2005) tarafından bulunan 7.0×10^5 kob/g değerinden yüksektir. Bu durumun farklı üretim şartları yanında muhafaza koşulları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Örneklerin rutubet miktarları %22.03-%51.12 arasında tespit edilmiştir (Tablo 2). Bu çalışmada tespit edilen ortalama %36.95 rutubet miktarı Öksüztepe ve ark. (2011) tarafından bulunan %38.75 ve Sancak ve ark. (1996) buldukları %38.57 ortalama değerleri ile benzerdir. İncelenen örneklerin 20 (%62.50)'sinin Türk Sucuğu Standardı

TS 1070 (TSE, 2012a)'de belirtilen %<40 değerden daha fazla rutubet içerdiği tespit edilmiştir. Et ve Et Ürünleri Tebliğinde (TGK, 2012) fermente sucuktaki rutubet miktarının toplam et proteini miktarına oranının 2.5'in altında olması gerektiği belirtilmektedir. Örneklerin 29 (%90.62)'u bu tebliğde belirtilen değere uygundur (Tablo 3). Şenol ve Nazlı (1996) tarafından Türk fermente sucuklarında bozulmaya sebep olan faktörleri tespit etmek amacı ile yapılan çalışmada %45'in üzerinde rutubet tespit edilen fermente sucuklarda normal olmayan tat ve koku, kabuk bağlama, yumuşak kıvam, bozuk kesit tespit edildiği bildirilmektedir. Örneklerin yağ miktarı %15.29-%45.29 arasında ve ortalama olarak %30.71 olarak saptanmıştır (Tablo 2). Bu çalışmada tespit edilen ortalama yağ miktarı benzer çalışmalarda tespit edilenlerden daha düşük düzeyde bulunmuştur (Erdoğan ve Ergün, 2005; Öksüztepe ve ark. 2011; Sancak ve ark. 1996; Sezer ve ark. 2013). TS 1070 Türk Sucuğu Standardında (TSE, 2012a) %<40 oranında yağ içeren sucuklar sınıf 1 kategorisinde, %≤30 oranında yağ içeren sucuklar ise ekstra sınıf olarak değerlendirilmektedir. Bu derecelendirmeye göre 27 sucuk örneği sınıf 1 kategorisinde yer alırken bu sucuk örneklerinin 15 adedi ekstra sınıfta yer almakta, %<40'ın üzerinde yağ oranı tespit edilen 5 sucuk örneği ise bu kategorilerde yer almamaktadır.

Bu çalışmada örneklerin protein değeri %12.97-28.05 ve ortalama %19.53 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). TS 1070 Türk Sucuğu Standardında (TSE, 2012a) en az %16 oranında protein içeren sucuklar sınıf 1 kategorisinde en az %18 oranında protein içeren sucuklar ise ekstra sınıf sucuk olarak değerlendirilmektedir. İncelenen sucukların 27'si sınıf 1 kategorisinde, 23 adedi ise ekstra sucuk kategorisinde yer almaktadır. Et ve Et Ürünleri Tebliği'nde (TGK, 2012) toplam et proteininin kütlece en az %16 olması ve yağ miktarının toplam et proteinine oranının 2.5'un altında olması gerektiği yer almaktadır. Bu değere göre sucuk örneklerinin 30 (%93.75)'unun 2.5 değerinin altında 2 (%6.25)'inin ise bu oranın üzerinde değere sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3). Örneklerin pH değeri 4.48-7.09 arasında ortalama 5.54 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Et ve Et Ürünleri Tebliği (TGK, 2012) ve TS 1070'e (TSE, 2012a) göre pH değerinin en yüksek 5.40 olması gerekmektedir. Örneklerin 16 (%50.00)'sı 5.40'den düşük, 16 (%50.00)'sı ise 5.40'ün üzerinde pH değerlerine sahiptir. Analiz sonucu tespit edilen ortalama pH değeri Atasever ve ark. (1998) tarafından tespit edilen 5.24 ortalama değerinden yüksek, Sezer ve ark. (2013) tarafından tespit edilen

6.18 ortalama değerinden düşüktür. Düşük pH değerinin sucuk üretiminde renk, tat, yapı ve mikrobiyolojik güvenlik açısından önem taşıdığı, yüksek pH değerinin sucuğun olgunlaşmasını tamamlamadan tüketime sunulması kaynaklı olabileceği belirtilmektedir (Sezer ve ark., 2013). Şenol ve Nazlı (1996) tarafından yapılan çalışmada yüksek pH değerine sahip sucuklarda renk, kıvam, lezzet ve koku bozukluklarının görüldüğü bildirilmektedir.

Sonuç olarak küçük işletmelerde üretilerek, doğal koşullarda olgunlaştırılan bu ürünlerde aynı kalite ve standartta üretim yapılamadığı konu ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen verilerin geniş bir dağılım göstermesinden anlaşılmaktadır. Sucuklarda bulunan mikroorganizmalar fermentasyon için faydalı olanlar yanında gıda zehirlenmesi yapan bakterileri de içerebilir. Çalışmada mikrobiyolojik analizler sonucunda elde edilen sonuçların yüksek olması Mardin'de geleneksel yolla üretilen sucuklarda insan sağlığı açısından zararlı mikroorganizmaların bulunma riskini artırmaktadır. Bu nedenle bu mikroorganizmalarla ilgili çalışmaların genişletilmesi gerekmektedir. Ayrıca çalışmamızda incelenen bazı kimyasal özellik değerlerinin standart bir üretim sürecinin olmamasından kaynaklı olarak geniş bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Üretimde standart teknik ve olgunlaşmada kontrollü koşulların kullanılması, üretici ve tüketicilerin hijyen yönünden bilgilendirilmeleri ve kontrollerin etkinleşmesi ürün kalitesinin sağlanması, tüketici sağlığının korunması ve haksız rekabetin önlenmesi açısından önemli görülmektedir.

Kaynaklar

- Atasever M, Keleş A, Güner A, Uçar G, 1998: Konya'da tüketime sunulan fermente sucukların bazı kalite nitelikleri. *Vet Bil Derg*, 14 (2), 27-32.
- Çon A, Dolu M, Gökalp HY, 2002: Afyon'da büyük kapasiteli et işletmelerinde üretilen sucuk örneklerinin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin periyodik olarak belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 26, 11-16.
- Dalmış Ü, 2007: Sucukta üretim ve depolama sırasında meydana gelen mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişimler. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Diñer B, Özdemir H, Mutluer B, Yağlı Ö, Erol İ, Akgün S, 1995: Türk fermente sucuğuna özgü starter kültür bakterilerinin izolasyon, identifikasyon ve üretimleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 42, 285-293.
- Erçoşkun H, Tağı Ş, Ertaş AH, 2010: The effect of different intervals on the quality characteristics of heat-

- treated and traditional sucuks. *Meat Science*, 85,174–181
- Erdoğan, Ö, Ergün Ö, 2005: Kahramanmaraş piyasasında tüketilen sucukların bazı fiziksel, kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikleri. *Istanbul Üniv Vet Fak Derg*, 31, 55-65.
- Fernandez M, Ordóñez JA, Bruna JM, Herranz B, Hoz L, 2000: Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 2001-2009.
- Kaban G, Kaya M, 2009: Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosus* on the quality characteristics of dry fermented sausage "sucuk". *Journal of Food Science*, 74, 58-63.
- Kılıç B, 2009: Current trends in traditional Turkish meat products and cuisine. *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1581-1589.
- Le Loir Y, Baron F, Guatier M, 2003: *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2, 63–76.
- Nielsen SS, 2003: Food Analysis. 3rd Edition., New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. ISBN 0306474956.
- Öksüztepe G, Güran HŞ, İnci GK, Gül BG, 2011: Elazığ'da tüketime sunulan fermente sucukların mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25(3), 107-114.
- Pehlivanoğlu H, Nazlı B, İmamoğlu H, Çakır B, 2015: Piyasada fermente sucuk olarak satılan ürünlerin kalite özelliklerinin saptanması ve geleneksel Türk fermente sucuğu ile karşılaştırılması. *Istanbul Üniv Vet Fak Derg*, 41(2), 191-198.
- Sancak YC, Kayaardı S, Sağun E, İşleyici Ö, Sancak H, 1996: Van piyasasında tüketime sunulan fermente Türk sucuklarının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve organoleptik niteliklerinin incelenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 7(1-2), 67-73.
- Sezer Ç, Aksoy A, Çelebi Ö, Deprem T, Ögün M, Bilge Oral N, Vatanser L, Güven A, 2013: Kars'ta satışa sunulan fermente sucuk ve sucuk benzeri ürünlerin kalite kriterlerinin belirlenmesi. *Eurasian J Vet Sci*, 29(3), 143-149
- Soyer A, Ertaş AH, Üzümcüoğlu Ü, 2005: Effect of processing condition on the quality of naturally fermented Turkish sausages (sucuks). *Meat Science*, 69, 135-141.
- Stajic S, Perunovic, M, Stanisic N, Zujovic M, Zivkovic D, 2013: Sucuk (Turkish-style dry-fermented sausage) quality as an influence of recipe formulation and inoculation of starter cultures. *J Food Process Preserv*, 37, 870–880.
- Şenol A, Nazlı B, 1996: Fermente sucuklarda bozulmalara neden olan faktörlerin tespiti üzerine araştırmalar. *Istanbul Üniv Vet Fak Derg*, 22 (2), 355-370.
- TGK, 2012: Türk Gıda Kodeksi Et ve Et Ürünleri Tebliği (Tebliğ No:2012/74) Resmi Gazete Tarihi ve sayısı: 05.12.2012-28448, Ankara.
- TSE, 1974: Et ve Et Mamulleri Toplam Yağ Miktarı Tayini Tadil 1, TS 1744/T1. Türk Standartlar Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2001: Et ve Et Mamulleri- Azot Muhtevasının Tayini, TS 1748 ISO 937. Türk Standartlar Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2002: Et ve Et Ürünleri-pH Ölçülmesi, TS 3136 ISO 2917. Türk Standartlar Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2006: Gıda ve Hayvan Yemlerinin Mikrobiyolojisi Koagülaz Pozitif Stafilokokların (*Staphylococcus aureus* ve Diğer Türler) Sayımı İçin Yatay Metot-Bölüm 1: Baird-Parker Agar Besiyeri Kullanarak, 1.Baskı, TS EN ISO 6888-1/A1, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2010: Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi - Koliformların Sayımı İçin Yatay Yöntem - Koloni Sayım Tekniği, 1.Baskı, TS ISO 4832, Türk Standartları Enstitüsü Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2012a: TS 1070. Türk Sucuğu, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2012b: Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi - Maya Ve Küflerin Sayımı İçin Yatay Yöntem - Bölüm 1: Su Aktivitesi 0,95'ten Yüksek Olan Ürünlerde Koloni Sayım Tekniği, 1.Baskı, TS ISO 21527-1, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.
- TSE, 2014: Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi - Mikroorganizmaların Sayımı İçin Yatay Yöntem - Bölüm 1: Dökme Plak Tekniğiyle 30°C'ta Koloni Sayımı, TS ISO 4833-1, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara.

*Yazışma Adresi: Aslı Çelikel Güngör

Mardin Artuklu Üniversitesi Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü, Mardin, Türkiye
e-mail: acelikel2@gmail.com

Farklı Çözdürme Yöntemlerinin Lahmacunun Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Etkisi

Hisamettin DURMAZ¹, Serap KILIÇ ALTUN¹, Mehmet Emin AYDEMİR^{1*}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 25.06.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmada, dondurulmuş lahmacun örneklerinin mikrobiyolojik kalitesi üzerine farklı çözdürme işlemlerinin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla çiğ dana kıyması ile hazırlanan lahmacun harcı taş fırında 240-260 °C'de pişirildikten sonra -18 °C'de 24 saat muhafaza edilmiştir. Çözdürme işlemi mikrodalga fırın, konvansiyonel fırın, tava ve oda sıcaklığında yapıldıktan sonra her bir çözdürme yönteminden örnekler alınmıştır. Toplam aerobik mezofilik genel canlı bakteri sayımında Plate Count Agar, *E.coli* sayımında ise Chromocult TBX Agar kullanılmıştır. Çiğ, taze pişmiş, mikrodalga fırında, konvansiyonel fırında, tavada ve oda sıcaklığında çözdürülmüş örneklerde ortalama toplam aerobik mezofilik genel canlı bakteri sayıları sırasıyla 5.38±0.87, 2.68±0.71, 2.16±0.71, 2.23±0.71, 2.79±0.71 ve 3.23±0.71 log kob/g düzeylerinde, ortalama *E. coli* bakteri sayıları ise sırasıyla 4.90±0.87, 0.68±0.71, 0.68±0.71, 0.0, 0.68±0.71 ve 1.10±0.71 log kob/g düzeylerinde tespit edilmiştir. Lahmacun örneklerinin çözdürülmesinde farklı yöntemler kullanılması mikrobiyolojik kalite açısından istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığı saptanmıştır. Gruplar arasında farklılığının olmaması başlangıç mikroorganizma yükünün çok düşük seviyede olmasından kaynaklanmış olabilir. Sonuç olarak, bulgularımız dondurulmuş lahmacun örneklerinin çözdürülmesinde mikrodalga fırın, geleneksel fırın, tava ve oda sıcaklığı gibi farklı yöntemlerin mikrobiyolojik kalite açısından güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Lahmacun, *E. coli*, TMAB, Çözdürme, Halk sağlığı.

Effects of Different Thawing Methods on Microbiological Quality of Lahmacun

Abstract: In this study, the effects of different thawing processes on microbiological quality of frozen lahmacun samples were investigated. For this purpose, lahmacun samples prepared from raw calf meat were cooked at 240-260°C in a masonry oven and then they were kept at -18°C for 24 hours. Thawing process was done in a microwave oven, conventional oven, pan and at room temperature and then samples were taken from each thawing method. Plate Count Agar was used for total aerobic mesophilic bacteria count and Chromocult TBX Agar was used for *E. coli* count. Mean total aerobic mesophilic bacteria counts were 5.38±0.87, 2.68±0.71, 2.16±0.71, 2.23±0.71, 2.79±0.71 and 3.23±0.71 log cfu/g and mean *E. coli* counts were found 4.90±0.87, 0.68±0.71, 0.68±0.71, 0.0, 0.68±0.71 and 1.10±0.71 log cfu/g in raw, freshly cooked, microwave oven, conventional oven, respectively. No statistical difference was found among different thawing processes for microbiological quality of lahmacun samples. The lack of differences among the groups may be due to the very low initial microorganism load. As a result, our findings show that different methods such as microwave oven, conventional oven, pan and room temperature for thawing frozen lahmacun samples can be used safely in terms of microbiological quality.

Keywords: Lahmacun, *E. coli*, TMAB, Thawing, Public health.

Giriş

Lahmacun; kıyma, maydanoz, soğan, sarımsak, karabiber, isot gibi baharatlarla hazırlanan taş fırında 240-260 °C'de pişirilerek elde edilen unlu bir mamuldür. İsmi, Arapçada etli hamur anlamına gelen 'Lahm-i acun'dan (et ve hamur) türemiştir. Türk Pizzası adı da verilen lahmacunun tarihi çok eskilere Babillere kadar dayanır ve ülkemizde tüketimi oldukça yaygın bir gıda ürünüdür (Anonim, 2018).

Günümüzde, çoğu gıda maddesi pişirildikten sonra dondurularak muhafaza edilmektedir. Unlu mamuller, sebze-meyveler, deniz mahsulleri, et ve süt ürünleri dondurularak muhafaza edilen gıdalara

örnek verilebilir. Bu gıdalar sırasıyla hazırlama, ön ısıtma, dondurma, dondurucuda muhafaza, nakliye, çözdürme ve pişirme gibi süreçlerin ardından tüketime sunulurlar. Bu süreçlerde oluşabilecek hatalar son ürünün mikrobiyolojik kalitesini doğrudan etkileyerek tüketicinin sağlığı açısından risk oluşturabilir (Günşen ve Büyükyörük, 2005). Dondurma metodu genellikle gıdanın raf ömrünü uzatmak, yapı ve bileşimde bozulmaya yol açan etkileri yavaşlatmak için kullanılmaktadır. (Azevedo ve ark., 2005). Gıdalar için -18°C uluslararası geçerliliğe sahip bir muhafaza sıcaklığıdır (Günşen ve Büyükyörük, 2005). Dondurma metodu

çoğunlukla gıdada mevcut mikroorganizmaların çoğalmalarını yavaşlatan, engelleyen veya durduran bir muhafaza yöntemidir (Atasever ve Çubukçu, 2018). Gıda ürünlerinin hijyenik şartlarda üretilerek, hijyen zincirine riayet edilerek tüketime sunulması sağlıklı beslenmede esastır. Dondurulmuş gıdalarda bulunan mikroorganizmalar, ürün oda sıcaklığında bekletildiğinde arttığı için üretimde hijyen açısından mikrobiyolojik kalitesi yüksek hammadde temini ve soğuk zincir halk sağlığı açısından önemlidir (Atlan ve İşleyici, 2012). Tüketime hazır gıdalar, çözündükten sonra pişirilmeden tüketildiği için tüketici sağlığı açısından daha risklidirler (Şense-Ergül ve ark., 2015). Gıda ürünlerinin hazırlanması, ambalajlanması ve depolanması sırasında hijyen kurallarına dikkat edilip edilmediği mikrobiyolojik yöntemler ile tesbit edilmektedir. Çiğ gıdalarda toplam mezofilik aerob bakterilerin, toplam *Escherichia coli*'nin varlığı; gıdanın potansiyel güvenilirliği ve kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Toplam mezofil aerobik canlı mikroorganizma sayısının maksimum sınırın üzerinde olması, genellikle gıdanın kalite yoksunluğu ve azalmış raf ömrünün göstergesi olarak kabul edilmektedir. *E. coli*, gıdanın işleme süresince sanitasyon yoksunluğu ve fekal kontaminasyonun varlığının bir göstergesidir. Aynı zamanda besinde yüksek *E. coli*'nin bulunması, fekal kaynaklı patojenlerin de gıda maddesinde bulunabileceğini göstermektedir. (Öztürk, 2007).

Bu çalışmada amaç, dondurulmuş lahmacunların, farklı yöntemler ile çözdürülmesinin mikrobiyolojik kaliteyi nasıl etkilediğini ortaya koymaktır.

Materyal ve Metot

Çiğ dana kıyması ile hazırlanan lahmacun harcı taş fırında 240-260°C'de pişirilmiştir. Pişirildikten sonra -18°C'de 24 saat muhafaza edilmiştir. Çözdürme işlemi mikrodalga fırın (200-210°C'de 3-5 dk), konvansiyonel fırın (200-210°C'de 3-5 dk), tava (4-5 dk) ve oda (8-12 dk) sıcaklık-zaman aralığında yapıldıktan sonra her bir çözdürme yönteminden örnekler alınmıştır. Çalışma üç tekrür, analizler ise iki paralel olarak yapılmıştır. Çiğ lahmacun harcından ve taze pişmiş lahmacundan aynı gün örnekler alınmıştır.

Mikrobiyolojik analizler: Steril bistüri yardımıyla mümkün olduğunca küçük parçalar halinde kesilen her bir örnekten (Çiğ lahmacun içi, pişmiş lahmacun içi, mikrodalga fırında çözdürülmüş lahmacun içi, konvansiyonel fırında çözdürülmüş lahmacun içi, tavada çözdürülmüş lahmacun içi ve odada

çözdürülmüş lahmacun içi) 25'er g tartılarak 225 ml (1:10 dilüsyon oranı) steril %0.1 peptonlu su (Oxoid CM 733R) ile 5 dakika homojenize edilip ve steril %0.1 peptonlu su ile 10^{-8} seviyesine kadar seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan toplam mezofil aerobik bakteri ve *E. coli* sayımı için her örnekten iki paralel şekilde besiyerlerine ekimler yapılmıştır (Pichhardt, 1993).

Toplam mezofil aerob bakteri (TMAB) sayımı: TMAB sayısının belirlenmesinde Plate Count Agar (PCA) (Oxoid, CM0463) kullanılmıştır. Yayma plak yöntemine göre uygun dilüsyonlar petri kutularındaki besiyerlerine ekilerek, 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, üreyen bütün koloniler sayılmış ve birimi kob/g olarak hesaplanmıştır.

***E. coli* sayımı:** *E. coli* sayısının belirlenmesinde Tryptone Bile X-Glucuronide Agar (Oxoid, CM945) kullanılmıştır. Yayma plak yöntemine göre uygun dilüsyonlar petri kutularındaki besiyerlerine ekim yapılarak, 4 saat süresince 37°C'de ilk inkübasyonun ardından 44°C'de 18-24 saat inkübe edilip, mavimsi yeşil opak koloniler değerlendirilmiş ve kob/g olarak hesaplanmıştır (Pichhardt, 1993).

İstatistiksel analizler: Örneklere ait mikroorganizma sayıları ortalama logaritmik değerlere çevrilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 2017 paket programında varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir.

Bulgular

Çiğ, taze pişmiş, mikrodalga fırında, konveksiyonel fırında, tavada ve oda sıcaklığında çözdürülmüş örneklerde ortalama toplam aerob mezofilik genel canlı bakteri sayıları sırasıyla 5.38±0.87, 2.68±0.71, 2.16±0.71, 2.23±0.71, 2.79±0.71 ve 3.23±0.71 log kob/g düzeylerinde, ortalama *E. coli* bakteri sayıları ise sırasıyla 4.90±0.87, 0.68±0.71, 0.68±0.71, 0.0, 0.68±0.71, 1.10±0.71 log kob/g düzeylerinde tespit edilmiştir. Lahmacun örneklerinin çözdürülmesinde farklı yöntemler kullanılması mikrobiyolojik kalite açısından istatistiksel olarak bir fark oluşturmadığı saptanmıştır (P>0.05). Analizler sonucunda elde edilen örneklerin mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Dünya nüfusunun artması ve yaşam tarzında oluşan değişiklikler gıda üretimini butik tipten sanayi tipine doğru her geçen gün değiştirmektedir. Sanayi tipi üretimde hedef daha ekonomik ve az

zamanla elde edilen gıda olduğu için dondurulmuş gıdalara talep her geçen gün artmaktadır. Bu tür gıdaların üretimden tüketime kadar tüm safhalarda oluşacak hijyen hataları, gıda ürünlerinin özellikle mikrobiyolojik yükünü son derece riskli hale getirebilmektedir. Farklı çözdürme yöntemlerinin

lahmacun örneklerinin mikrobiyolojik kalitesini nasıl etkilediği yönünde herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat yapılış ve içerik yönünden lahmacuna benzerlik gösteren pizza, hamburger gibi gıdalarda mikrobiyolojik kalitesi üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır.

Tablo 1. Lahmacunun farklı çözdürme yöntemlerinde alınan örneklerde toplam aerob mezofilik bakteri düzeyleri (log kob/g).

Numune	n	Minimum	Maximum	Ortalama
Çiğ	3	5.38	5.38	5.38±0.87
Taze pişmiş	3	2	3.15	2.68±0.71
Oda ısısı	3	2.30	4.39	3.23±0.71
Konvansiyonel fırın	3	0	3.41	2.23±0.71
Mikrodalga fırın	3	0	3.45	2.16±0.71
Tava	3	0	3.30	2.79±0.71

n=Tekerür sayısı

Tablo 2. Lahmacunun farklı çözdürme yöntemlerinde alınan örneklerde *E. coli* düzeyleri (log kob/g).

Numune	n	Minimum	Maximum	Ortalama
Çiğ	3	4.88	4.93	4.90±0.87
Taze pişmiş	3	0	2	0.68±0.71
Oda ısısı	3	0	3.30	1.10±0.71
Konvansiyonel fırın	3	0	0	0.0
Mikrodalga fırın	3	0	2	0.68±0.71
Tava	3	0	2	0.68±0.71

n=Tekerür sayısı

Öksüztepe ve Beyazgül (2014)'ün tarafından Elazığ'da yapılan bir çalışmada 40 adet et, 40 adet tavuk döner örneği mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi amacıyla analiz edilmiş ve araştırmacılar toplam mezofilik aerob bakteri sayısını sırasıyla 4.98 ve 5.11 log kob/g olarak, *E. coli* sayısını ise 1.01 ve 2.19 log kob/g olarak rapor etmişlerdir. Günşen ve Büyükyörük (2015)'ün bazı dondurulmuş gıdaların mikrobiyolojik kalitesini belirlemek için yaptığı başka bir çalışmada 60 adet hamburger örneğinde ortalama aerob mezofilik sayısını 1.6×10^5 kob/g, koliform sayısını ise 1.8×10^4 kob/g olarak bulmuşlardır. Şenses-Ergül ve ark. (2015)'nin farklı illerden topladıkları tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin tespiti amacıyla yapmış oldukları çalışmada *E. coli* yönünden tüketime uygun bulunmayan 6 adet salata, 3 adet makarna, 2 adet meze, 1 adet pide ve 1 adet tatlı örneğinin yönetmeliğe uygun olmadığını rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada bir adet pide örneğindeki *E. coli* sayısının 1.1×10^3 kob/g olduğunu saptamışlardır. Venezuela'da Katynna ve ark. (2002) tarafından satışa sunulan dondurulmuş sığır hamburgerleri ile yapılan bir çalışmada araştırmacılar ortalama aerob mezofilik sayısını 16.02 ± 0.69 log kob/g, *E. coli* sayısını 4.02 ± 0.68 log kob/g olarak bulmuşlardır. Piliç etinden yapılan hamburgerlerde ise ortalama

aerobik mezofilik sayısını 13.22 ± 0.69 log kob/g, *E. coli* sayısını 4.30 ± 0.68 log kob/g olarak bulmuşlardır.

Bizim yaptığımız çalışmada istatistiksel olarak gruplar arasında farklılığının olmaması başlangıç mikroorganizma yükünün çok düşük seviyede olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmüştür. Sonuç olarak, bulgularımız dondurulmuş lahmacun örneklerinin çözdürülmesinde farklı yöntemlerin kullanılması sağlık açısından önemli bir risk oluşturmadığı, mikrobiyolojik kalite açısından güvenle kullanılabilirliğini göstermektedir. Yasal kriterleri aşmasa da belirli sayıda mikroorganizmayı içerdikleri tespit edilmiştir. Bu sebeple üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarda hijyen tedbirlerine ve uygun muhafaza koşullarına dikkat edilerek gıda güvenliği sağlanmalıdır.

Kaynaklar

- Anonim, 2018: <https://www.timeturk.com/tr/2012/09/13/5000-yillik-gecmis-lahmacun.html>, Erişim tarihi: 02.05.2018.
- Atasever MA, Çubukçı S, 2018: Erzurum piyasasında tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 13(1), 54-62.

- Atlan M, İşleyici Ö, 2012: Van İli'nde dondurulmuş olarak satışı sunulan bazı et ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 7(2), 93-103.
- Azevedo I, Regalo M, Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA, 2005: Incidence of *Listeria* spp. in domestic refrigerators in Portugal. *Food Control*, 16, 121-124.
- Günşen U, Büyükyörük İ, 2005: Bazı dondurulmuş gıdalarda mikrobiyolojik kalite. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 7, 36-44.
- Katynna PQ, Piñero MP, Narvaez C, Uzcátegui SB, Moreno LA, Huerta-Leidenz N, 2002: Evaluation of microbiological and physical-chemistry of frozen hamburger patties expended in Maracaibo, Zulia State, Venezuela. *Revista Científica*, 12, 715-720.
- Öksüztepe G, Beyazgül P, 2014: Elazığ'da satılan pişmiş et ve tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*. 28(2), 65-71.
- Öztürk U, 2007: Antalya'da tüketime sunulan kıyma ve kırmızı et preparatlarının mikrobiyolojik kalitesi. Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Pichardt K, 1993: *Lebensmittelmikrobiologie*. 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin.
- Şenses-Ergül Ş, Sarı H, Ertaş S, Berberoğlu U, Cesaretli Y, Irmak H, 2015: Tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(3), 199-208.
- *Yazışma adresi:** Mehmet Emin AYDEMİR
Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
E-mail: aydemiremin23@gmail.com

Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Bitkisinin Antibakteriyel ve Antioksidan Aktiviteleri

Hisamettin DURMAZ^{1*}, Mehmet HÜLÜL², Hakim CELİK³

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Kırsal Kalkınma ve Örgütlenme Şube Müdürlüğü, Şanlıurfa, Türkiye.

³Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 04.07.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmada, Hatay ilinde yetişen meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisinden elde edilen ekstraktların antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitkinin antibakteriyel özellikleri, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan temin edilen *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* Cowan I, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Enteritidis* ve *Salmonella Typhimurium* suşları kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlendi. Bitkinin oksidan ve antioksidan özelliklerini ölçmek için, tam otomatik kolorimetrik yöntem kullanıldı. Bitkinin etanol ekstraktları yüksek, su ekstraktları ise düşük derecede *B. cereus*'a karşı antibakteriyel özellik göstermiş olup bu bitkinin etanol ekstraktlarının *B. cereus*'a karşı antibakteriyel madde olarak kullanılabilir olduğu tespit edildi. Antioksidan seviyesi açısından ise etanol ve su ekstraktları düşük bir değer göstermiştir. Özellikle su ekstraktlarında oksidan madde seviyesi yüksek olduğundan sulu ekstraktlarının şerbet olarak kullanılmasının sakıncalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Meyan, *Glycyrrhiza glabra* L., Antibakteriyel ve antioksidan aktivite.

Determination of Antibacterial and Antioxidant Activities of Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) Plant

Abstract: In the presented study, it was aimed to determine antioxidant capacities and antibacterial features of extracts obtained from *Glycyrrhiza glabra* L., which were grown around the province of Hatay. Antibacterial effects of the ethanol and water extracts were assessed on strains such as *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* Cowan I, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Enteritidis* ve *Salmonella Typhimurium* obtained from the Public Health Institution of Turkey by using disc diffusion method. Antioxidant capacity of the extracts of the plant were determined with an automated colorimetric method. The ethanol extracts of the plant showed high inhibition zones against *B. cereus*. Total antioxidant capacity (TAC) values were found to be low. The total oxidant capacity (TOS) of the water extracts appeared higher than the value of the ethanol of *Glycyrrhiza glabra* L. Due to the high TOS level of water extract of the plant we suggest that the consumption of the plant juice may contributed to increase of the TOS in cases of the failure of antioxidant defense system during the disorders. Ethanol extracts of the plant can be used as natural antibacterial additives against *B. cereus* for various food products.

Keywords: Meyan, *Glycyrrhiza glabra* L., Antibacterial and antioxidant activity.

Giriş

Meyan (*Glycyrrhiza glabra* L.) bitkisi Türkiye'de, özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde şerbeti yapılan ve doğada yaygın bir şekilde yetişen bir bitkidir. Yaz aylarında sarı-mavi veya kahverenginde çiçekler açan, 0.4-2 m uzunluğunda, çalı türü bir bitkidir. Yaprakları parçalı olup, yaprakçıklar 4-7 çiftlidir ve çiçekleri ise başağa benzemektedir. Ülkemizde altı türü yetişen bu bitki daha çok Güney ve Doğu Anadolu bölgesinde yaygın olarak görülmektedir. Meyan bitkisinin kökleri, meyan kökü olarak adlandırılmakta ve bu kökler bölgeye özgü bir içecek olan şerbet yapımında kullanılmaktadır. Köklerin kabuğu kurutulduktan sonra şerbet üretiminde kullanılır. Meyan bitkisinin kökleri biyolojik açıdan aktif olan bir bitki olup magnezyum ve silisyum kaynağıdır. Bileşiminde nişasta, şekerler, zamk, reçine ve glisirizin vardır. Bu

bitkinin kökü, özellikle mide rahatsızlıklarının tedavisinde son derece etkilidir. İhtiva ettiği glisiritenik asit, deglisirine ve karbenoksolen sodyum gibi maddeler ülser tedavisinde kullanılan etken maddelerdir. Ayrıca deri hastalıklarında, özellikle ciltte oluşan aknelerin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Meyan kökü, ilaç üretiminde tabletlere şekil vermek amacıyla da kullanılmaktadır. Ayrıca köklerinin suda kaynatıldıktan sonra düşük basınç altında yoğunlaştırmak suretiyle meyan balı üretilmekte olup bu balda glisirizin miktarı oldukça yüksektir. (Asımgil, 1997; Baytop, 1999)

Aromatik ve tıbbi bitkiler çok eski çağlardan beri yara temizleme ve tedavi etme amacının yanında gıdalara tat ve aroma vermek için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle yurt

dışında büyük ilgi gören bitkilerle tedavi yöntemi, yurdumuzda da önem kazanmaya başlamıştır. Tıbbi bitkiler, ilaç endüstrisinde kullanımının yanı sıra özellikle gıda, baharat ve meşrubat sanayinde de kullanılmaktadır. Bu bitkilerin çok sayıda antioksidan bileşik içerdiği ve bunlar arasında özellikle biberiye, adaçayı, kekik ve zencefilin güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Cuvelier ve ark., 1994; Dang ve ark., 2001; Kikuzaki ve Nakatani, 1993; Shahidi, 2000).

Gıdaları bozulmalara karşı korumak ve raf ömürlerini arttırmak amacıyla çeşitli antibakteriyel maddeler kullanılmaktadır. Sentetik antibakteriyel maddelerin güvenilirlikleri ile ilgili artan endişelerden dolayı, doğal antibakteriyel kaynaklar üzerine yapılan araştırmalar yoğunlaşmış ve yüksek düzeyde antibakteriyel aktivite gösteren bileşikler içermesinden dolayı tıbbi ve aromatik bitkiler konusunda yapılan çalışmalar hızlanmıştır. Özellikle son yıllarda yapılan araştırmalarda, dünyanın çeşitli bölgelerinde yetişen ve özellikle tıbbi amaçla kullanılan çok sayıda bitkinin antibakteriyel özellikleri tespit edilmiştir (Mothana ve Lindequist, 2005; Rojas ve ark., 2003; Salvat ve ark., 2004). Yapılan literatür taraması sonucunda Hatay bölgesinde yetişen meyan (*Glycyrrhiza glabra L.*) bitkisinin antibakteriyel ve antioksidan özelliklerin belirlenmesi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu araştırma, şerbet üretiminde kullanılan meyan kökü bitkisinin antibakteriyel ve antioksidan özelliklerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Örneklerin toplanması: Meyan bitkisinin antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini belirlemek amacıyla, Haziran-Ağustos aylarında Hatay'a gidilerek ve 3 farklı bölgesinden alınmak üzere 3 adet ve 5'er kg miktarında örnekler taze olarak toplandı. Araştırmada kullanılan bitki lokalitelerinin koordinatları Global Positioning System (GPS) ile belirlendi (Tablo 1). Toplanan bitki örnekleri, Harran Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde teşhis edildi. Çalışma 3 tekrür, analizler ise 2 paralel olarak yapıldı.

Ekstraktların hazırlanması: Toplanan meyan bitki örneklerinin kökleri gölge bir yerde kurutulduktan sonra öğütüldü ve 30 g bitki örneğine 300 mL solvent (su ve etanol olarak iki ayrı çözücü kullanıldı) ilave edilerek Soxhlet cihazında kaynama noktasını aşmayacak şekilde 10 saat ekstrakte edildi. Elde edilen ekstraktlar Whatman No. 1 filtre kağıdı ile

süzüldü ve daha sonra rotary evaporator ile 40°C'de vakum altında konsantre edildi (Lin ve ark., 1999).

Test mikroorganizmaları: Bitkinin antibakteriyel özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılan *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* Cowan I, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella Enteritidis* ve *Salmonella Typhimurium* Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'ndan temin edildi.

Antibakteriyel özelliklerin belirlenmesi: Bitkinin antibakteriyel özellikleri, kalitatif ve kantitatif olmak üzere iki farklı yöntemle belirlendi. Kalitatif yöntem olarak disk difüzyon yöntemi, kantitatif yöntem olarak ise sıvı besiyerinde dilüsyon yöntemi kullanıldı.

Disk difüzyon yöntemi: Bu yöntemde dimethyl sulfoxide (DMSO) ile %8'lik konsantrasyonları hazırlanan ekstraktlardan 20 µL alınarak 6 mm çaplı kâğıt disklere (Whatman No: 3) emdirildi. Oda sıcaklığında ve aseptik şartlarda kurutulan diskler daha sonra test mikroorganizma konsantrasyonları 0.5 McFarland standardına göre ayarlandı. Mueller-Hinton agar (Oxoid)'a inoküle edildikten sonra besiyerinin üzerine yayılıp 5 dk besiyerinin emmesi beklendi ve daha sonra üzerine ekstrakt çözeltisi emdirilmiş diskler aseptik şartlarda belli aralıklar ile yerleştirildi. Negatif kontrol olarak metanol, dimethyl sulfoxide ve su, pozitif kontrol olarak ise streptomisin antibiyotik disk (10 µg) kullanıldı (Ferreira ve ark., 2006).

Dilüsyon yöntemi: Disk difüzyon yönteminde 8 mm ve daha yüksek inhibisyon zonuna sahip bitki ekstraktları test mikroorganizmalar ile McFarland 0.5 seviyesinde inoküle edilmiş Mueller-Hinton broth (Oxoid)'a belirli oranlarda katılarak, üreme tespit edilemeyen minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenmeye çalışıldı (Ferreira ve ark., 2006).

Antioksidan özelliklerin belirlenmesi

Total antioksidan kapasite (TAK): Erel (2004) tarafından geliştirilen ve tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen metot kullanıldı.

Reaktif 1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM *o*-Dianisidine ve 45 AM Fe(NH₄)²(SO₄)²-6H₂O çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: 7.5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark

tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

Prensip: Fe²⁺-o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini meydana getirirler. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç vermektedir.

Total oksidant seviye (TOS)

Erel (2005) tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik yöntem kullanıldı.

Reaktifler

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlandı. Ana solüsyonda önce %10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM xlenol orange çözülerek hazırlandı.

Reaktif 2: Ana solüsyon içeriside önce 10 mM o-Dianisidine dihidrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlandı.

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik

iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

Bulgular

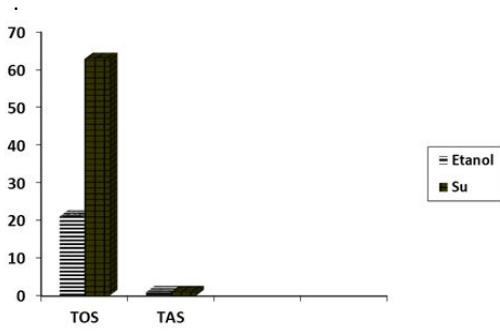
Araştırmada yer alan meyan bitkisi üç farklı kaynaktan sağlanmış ve GPS verileri ise Tablo 1'de verilmiştir. Hatay'da yetişen meyan kökü bitkisi ile hazırlanan etil alkol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri Tablo 2'de gösterilmiştir. Tablo 2'de görüldüğü gibi bu bitkinin etil alkol ve su ekstraksiyonları çalışmada kullanılan 8 mikroorganizmadan yalnızca *B. cereus*'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca araştırmada negatif kontrol olarak kullanılan solventlerin incelenen sekiz mikroorganizma üzerine inhibe edici etkisi bulunmamıştır. Meyan bitkisinin etanol ekstraktları *B. cereus*'a karşı pozitif kontrol olarak kullanılan streptomisine yakın inhibisyon zonu (14 mm) oluştururken su ekstraktları 2.7 mm gibi düşük bir inhibisyon zonu belirlenmiştir. Disk difüzyon yönteminde 8 mm'den yüksek inhibisyon zonu *B. cereus*'un etanol ekstraktlarında gözlenmiş olup bu mikroorganizmanın etanol ekstraktlarının minimal enfeksiyon dozu (MİD) 100 mg/mL olarak belirlenmiştir. Hatay'ın farklı bölgelerine ait meyan bitki örneklerinde ortalama antioksidan aktivite düzeyleri Şekil 1'de gösterilmiştir. Bitki örneklerinin total antioksidan kapasite düzeyi ise sırasıyla 1.03 ve 1.04 mmol Trolox Eqv/g olarak tespit edilmiştir. Hatay yöresine ait meyan bitkisinin etanol ve su ekstraktlarının ortalama toplam oksidan seviye düzeyi sırasıyla 21.13 ve 62.84 µmol H₂O₂ Eqv/L olarak belirlenmiş olup, su ekstraktlarının yüksek oksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Örneklerin alındığı yerlere ait GPS bilgileri.

Örnek No	Alındığı yer	Enlem	Boylam	Yükseklik (m)
1.	Türkmen mezarı	36 06 03 98K	36 16 41 14D	261
2.	Türkmen mezarı	36 05 58 85K	36 16 44 53D	248
3.	Avsuyu	36 11 50 68K	36 18 03 66D	164

Tablo 2. Meyan bitki ekstraktlarının antibakteriyel özellikleri (mm).

Mikroorganizma	Kullanılan Solvent		Kontrol Grubu			
	Etanol	Su	Streptomisin	DMSO	Etanol	Metanol
<i>B. Subtilis</i>	-	-	22	-	-	-
<i>S. Typhimurium</i>	-	-	22	-	-	-
<i>B. cereus</i>	14	2.7	22	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	-	-	22	-	-	-
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	22	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	22	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	22	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	22	-	-	-



Şekil 1. Meyan bitki ekstraktlarının antioksidan değerleri.

Tartışma ve Sonuç

Meyan şerbeti Adana, Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Gaziantep, Hatay, Mardin, Siirt ve Şanlıurfa gibi Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgeleri'nde üretilip tüketilmektedir. Bu çalışmada, Hatay'da yetişen ve iki farklı şekilde ekstrakte edilen meyan bitkisinin antibakteriyel ve toplam oksidan-antioksidan kapasiteleri araştırılmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda, meyan bitkisinin antimikrobiyal etkileri olduğu belirtilmiştir. *G. glabra* var. *glabra* ve *G. glabra* var. *glandulifera* varyetelerinin köklerinden hazırlanan ekstrenin *E. coli*, *S. aureus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Kuo ve ark., 1992; Özkal, 1986). Bu çalışmada kullanılan mikroorganizmalardan *B. cereus*'un gelişmesi etil alkol ve su ekstraktları tarafından engellenmiştir. Bitki örnekleri içerisinde *B. cereus*'a karşı en fazla inhibisyon zonu 14 mm ile etanol ekstraktları tarafından oluşturulmuş, su ekstraktları tarafından oluşan inhibisyon zonu ise 2.7 mm olarak tespit edilmiştir. Diğer mikroorganizma türleri ise bu bitki ekstraktlarına karşı herhangi bir duyarlılık göstermemişlerdir. Shirazi ve ark. (2007), meyan bitki ekstraktlarının *Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi B*, *Shigella sonnei*, *S. flexneri* ve *E. coli* üzerine inhibitör etkisini inceledikleri çalışmada, düşük konsantrasyonlarda herhangi bir inhibisyon görülmediğini, yüksek konsantrasyonlara karşı tüm mikroorganizmaların duyarlılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, çoğu mikroorganizmaların duyarlılık göstermemesi kullanılan ekstrakt konsantrasyonunun düşük olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bitki örneklerinin toplam antioksidan değerleri, troloks ekvivalent antioksidan kapasitesi (TEAC) yöntemine göre ölçülmüş olup ekstraksiyon işleminin etkisini araştırmak amacıyla bitki örneklerinin etanol ve su ekstraktları hazırlanmıştır. Örneklerin antioksidan özelliğe sahip bileşenlerin ekstraksiyonunda değişik solventler ve ekstraksiyon tekniklerinin kullanılması (Tsao ve Deng, 2004) ve yine ekstraktlarda toplam antioksidan kapasite ölçümlerinde farklı

yöntemlerin takip edilmesi (Huang ve ark., 2005), gıdaların antioksidan kapasiteleri hakkında yapılan çalışmaların karşılaştırılmasını oldukça zorlaştırmaktadır. Gıdalarda bulunan antioksidan bileşenlerin en önemlilerini askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), karotenoidler (özellikle A vitamini ve β -karoten) ve fenolik maddeler (fenolik asitler, flavonoidler ve diğer polifenolik bileşikler) oluşturmaktadır (Kaur ve Kapoor, 2001; Koca ve Karadeniz, 2005; Orman ve Bağdatlıoğlu, 2005; Pellegrini ve ark., 2003; Tsao ve Deng, 2004). Gıdalar arasında meyveler ve sebzeler (Miller ve ark., 2000; Kaur ve Kapoor, 2001; Ou ve ark., 2002; Özgen ve ark., 2006) ve tüm tane tahıllar ve baklagiller (Andlauer ve Furst, 1998; Anıl, 2006; Dogan ve Meral, 2006; Kahlon ve Smith, 2004; Miller ve ark., 2000; Miller ve ark., 2001) söz konusu antioksidanlar bakımından zengin gıda gruplarıdır. Meyan bitkisinin antioksidan özellikleriyle ilgili oldukça sınırlı sayıda çalışma (Chopra ve ark., 2013; Wojdyło ve ark., 2007) bulunduğundan dolayı, bu araştırmanın sonuçları sınırlı sayıda yapılan çalışmalarla karşılaştırmalı olarak tartışılmıştır. Çalışmada üç farklı kaynaktan temin edilen örneklerin toplam antioksidan kapasiteleri Şekil 1'de verilmiştir. Meyan bitki örneklerinin antioksidan kapasitelerinin kuru madde üzerinden TEAC yöntemine göre 1.03-1.04 μmol troloks eşdeğeri/g arasında tespit edilmiş olup örneklerin etanol ve su ekstraktları ile elde edilen antioksidan kapasitelerinin rakamsal olarak büyük oranda paralellik gösterdiği tespit edilmiştir. Chopra ve ark. (2013), meyan bitkisinin metanol ekstraktlarının antioksidan değerini 13.59-67.2 $\mu\text{g/mL}$ arasında belirlediğini rapor etmişlerdir. Wojdyło ve ark. (2007) ise antioksidan kapasite değerinin 30.8 μmol troloks eşdeğeri/g olarak tespit etmişler ve bu değer iyi derecede bir antioksidan özellik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, örneklerde bulunan antioksidan kapasite Wojdyło ve ark. (2007) tarafından belirlenen antioksidan kapasite değerinden oldukça düşük bulunmuştur. Söz konusu düşük değerlerin nedeni bitkinin bulunduğu coğrafi konum ile ürün işleme ve analizlerdeki yöntem farklılıklarından kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan meyan bitkisinin etanol ekstraktları yüksek, su ekstraktları ise düşük derecede *B. cereus*'a karşı antibakteriyel özellik göstermiştir. Meyan bitkisinin etanol ve su ekstraktları antioksidan seviyesi açısından ise diğer çalışmalara kıyasla düşük bir değer göstermiştir. Özellikle su ekstraktlarında oksidan madde seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiş olup, şerbet olarak sulu ekstraktlarının tüketilmesinin sakıncalı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (Proje No: 12077) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Andlauer W, Furst, P, 1998: Antioxidative power of phytochemicals with special reference to cereals. *Cereal Foods World*, 43, 356-360.
- Anıl M, 2006: Antioksidan olarak tahıllar. Hububat 2006-Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, Gaziantep.
- Asımğil A, 1997: Şifalı Bitkiler, Timaş Yayınları, İstanbul.
- Baytop T, 1999: Türkiye'de Bitkilerle Tedavi, Geçmişte ve Bugün, İkinci baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Chopra PKPG, Saraf BD, Inam F, Deo SS, 2013: Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extract roots of *Glycyrrhiza glabra* and HPLC analysis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 157-160.
- Cuvelier ME, Berset C, Richard H, 1994: Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem*, 42, 665-669.
- Dang MN, Takácsová M, Nguyen DV, Kristiánová K, 2001: Antioxidant activity of essential oils from various spices. *Nahrung/Food*, 45, 64-66.
- Erel O, 2005: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 47(5), 119-29.
- Erel O, 2004: A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37, 112-9.
- Ferreira A, Proenca C, Serralheiro MLM, Araujo MEM, 2006: The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol*, 108(1), 31-37.
- Huang D, Ou B, Prior RL, 2005: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Kahlon TS, Smith GE, 2004: Health benefits of grains, fruits, and vegetables and the USDA food guide pyramid. *Cereal Foods World*, 49, 288-291.
- Kaur C, Kapoor HC, 2001: Antioxidants in fruits and vegetables-The millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 703-725.
- Kikuzaki H, Nakatani N, 1993: Antioxidant effects of some ginger constituents. *J Food Sci*, 58, 1407-1410.
- Koca N, Karadeniz F, 2005: Gıdalardaki doğal antioksidan bileşikler. *Gıda*, 30, 229-236.
- Kuo S, Shankel DM, Telikepalli H, Mitscher LA, 1992: *Glycyrrhiza glabra* extract as an effector of interception in *Escherichia coli* K12+. *Mutat Res*, 282, 93-98.
- Lin J, Opoku AR, Geheeb-Keller M, Hutchings AD, Terblanche SE, Jäger AK, Van Staden J, 1999: Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. *J Ethnopharmacol*, 68, 267-274.
- Meral R, Doğan İS, 2006: Buğdayda bulunan antioksidan maddeler. Hububat ürünleri Teknolojisi Kongresi, 7-8 Eylül, Gaziantep.

- Miller HE, Rigelhof F, Marquart L, Prakash A, Kanter M, 2000: Antioxidant content of whole grain breakfast cereals, fruits and vegetables. *Journal of American College of Nutrition*, 19, 312S-319S.
- Miller HE, Rigelhof FJ, Prakash A, Marquart L, 2001: Whole grain antioxidants and health. In VTT Symposium, pp. 55-56.
- Mothana RAA, Lindequist U, 2005: Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol*, 96, 177-181.
- Orman S, Bagdatlıoğlu N, 2005: Gıdalardaki antioksidanlar ve sağlık üzerine etkileri. *Standart, Ekonomik ve Teknik Dergi*, 44, 52-61.
- Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan JA, Deemer EK, 2002: Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3122-3128.
- Özgen M, Reese RN, Tulio AZ, Scheerens JC, Miller AR, 2006: Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1151-1157.
- Özkal N, 1986: Fırat havzasında yetişen *Glycyrrhiza glabra* L. (meyan) varyetelerinin kimyasal içeriği ve antimikrobiyal etkileri. Fırat Havzası Tıbbi ve Endüstriyel Bitkileri Sempozyumu, s. 261-273, 6-8 Ekim Elazığ.
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, Rio DD, Salvatore S, Bianchi M, Brighenti F, 2003: Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy by three different in vitro assays. *Journal of Nutrition*, 133, 2812-2819.
- Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernandez I, Alban J, Lock O, 2003: Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 88, 199-204.
- Salvat A, Antonacci L, Fortunato RH, Suarez EY, Goday HM, 2004: Antimicrobial activity in methanolic extracts of several plant species from northern Argentina. *Phytomedicine*, 11, 230-234.
- Shahidi F, 2000: Antioxidants in food and food antioxidants. *Nahrung*, 44, 158-163.
- Shirazi MH, Ranjbar R, Eshraghi S, Sadeghi G, Jonaidi N, Bazzaz N, Izadi M, Sadeghifard N, 2007: An evaluation of antibacterial activity of *Glycyrrhiza glabra* linn extract on the growth of *Salmonella*, *Shigella* and *E. coli*. *J Biological Sciences*, 7, 827-829.
- Tsao R, Deng Z, 2004: Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 812, 85-99.
- Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R, 2007: Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*, 105, 940-949.

*Yazışma Adresi: Hisamettin DURMAZ

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Eyyübiye Kampüsü, Şanlıurfa.
e-mail: hdurmaz@gmail.com

Koyunlarda Ksilazin-Ketamin, Ksilazin-Propofol, Ksilazin-Ketamin-Propofol'ün Bazı Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkileri

Esra GÖKALP^{1*}, Sema GÜRGÖZE², Semih ALTAN³

¹Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Şanlıurfa, Türkiye.

²Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

³Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

Geliş Tarihi: 01.08.2017

Kabul Tarihi:12.11.2018

Özet:Çalışmada, koyunlarda ksilazin-ketamin, ksilazin-propofol ve ksilazin- ketamin-propofol kombinasyonlarının bazı fizyolojik parametreler üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Çalışma ortalama canlı ağırlığı 43.27±4.76 kg olan 1 yaşlarında doğum yapmamış klinik olarak sağlıklı 28 adet Zom ırkı dişi koyun üzerinde yürütüldü. Hayvanlar eşit sayıda (n=7) ve rastgele biri kontrol olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu dışında Grup 1'de bulunan hayvanlara ksilazin-ketamin (0.1 mg/kg-2.2 mg/kg), Grup 2'de bulunan hayvanlara ksilazin-propofol (0.1 mg/kg-3 mg/kg) ve Grup 3'te bulunan hayvanlara ksilazin-ketamin-propofol (0.1 mg/kg-2.2 mg /kg-3 mg/kg) kombinasyonları intravenöz olarak uygulandı. Tüm hayvanlardan anestetik ajanların uygulanmasından önce (0.dakika) ve anestetiklerin uygulanmasından sonra 5.,10., 15., 30., 45., 60. ve 120. dk'larda fizyolojik parametre ölçümleri yapıldı. Fizyolojik parametreler bakımından, her üç grup kontrol grubu ile kıyaslandığında kalp atım sayısında sadece Grup 3'te 120. dk'da, solunum sayısında Grup 1 ve Grup 3'te 5. dk ile 30. dk'da, vücut ısısında Grup 2'de 10., 15., 30. ve 120. dk'larda, Grup 3'te ise sadece 120. dk'da meydana gelen fark önemli idi. Koyunların, fizyolojik parametrelerde meydana gelen değişiklikleri vital fonksiyonlarda herhangi bir bozulma göstermeksizin iyi derecede tolere ettikleri izlendi.

Anahtar Kelimeler: Propofol, Ketamin, Ksilazin, Koyun, Fizyolojik parametreler.

Effects of Xylazine-Ketamine, Xylazine-Propofol and Xylazine-Ketamine-Propofol Administration on Some Physiological Parameters in Sheep

Abstract:This study aimed at the investigation of the impact of xylazine-ketamine, xylazine-propofol and xylazine-ketamine-propofol combinations on certain physiological parameters in sheep. The study was carried out on 28 one-year-old, clinically healthy, nulliparous Zom ewes, which weighed 43.27±4.76 kg. The animals were randomly assigned in equal numbers (n=7) to four groups, one of which was maintained for control purposes. Excluding the control group, Group 1 was given xylazine-ketamine (0.1 mg/kg-2.2 mg/kg), Group 2 was administered with xylazine-propofol (0.1 mg/kg-3 mg/kg) and Group 3 received xylazine-ketamine-propofol (0.1 mg/kg-2.2 mg/kg-3 mg/kg) by intravenous route. Physiological parameters were measured in all animals before the administration of the anaesthetic agents (at minute 0), and 5, 10, 15, 30, 45, 60 and 120 min after the administration of the anesthetics. The comparison of the three treatment groups with the control group for the physiological parameters measured demonstrated that the differences detected in heart rate at 120 min in Group 3, in respiratory rate at 5 and 30 min in Groups 1 and 3, in body temperature at 10, 15, 30 and 120 min in Group 2 and at 120 min in Group 3 were statistically significant. It was observed that the sheep well tolerated the alterations that occurred in their physiological parameters, as no disruption was detected in their vital functions.

Keywords: Propofol, Ketamine, Xylazine, Sheep, Physiological parameters.

Giriş

Anestezi başlangıçta sadece cerrahi girişimlerde ağrının giderilmesi amacıyla tercih edilirken, günümüzde doğum, ağrılı sendromların tanı ve tedavisi ile solunum fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve tedavisi gibi durumlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır (Atasoy ve Karadeniz, 2003). Veteriner tıbbı başarıyla uyarlanabilen propofol küçük hayvan hekimliğinde kullanım alanı bulunan, gününbirlik hastaların operasyonlarında tercih edilen, hızlı metabolize olan ve hastanın normal faaliyetlerine daha kısa sürede dönmesine olanak tanıyan damar içi anestetik bir ajandır (Duke, 1995; Koç ve ark., 2004). Propofol kısa süreli anestezi için uyarım amacıyla kullanılabilir veya uzun süreli işlemlerde solunum anestetiklerinin

bulunmadığı durumlarda anestezi için tercih edilebilir (Lin ve ark., 1997). Propofolün analjezik etkisi yoktur, bu sebeple ağrılı işlemlerde hastanın tepkisini asgariye indirmek için propofol ile eşzamanlı analjezik uygulaması yapılır. Bu anestetik madde, kan basıncında kalp debisinde azalmaya neden olabilir ancak kullanımında en sık görülen yan etki apnedir. Propofol dozundaki yükselme tidal volüm ve solunum sayısını azaltır bunun sonucunda apne ortaya çıkabilir (Glowaski ve Wetmore, 1999; McNeir ve ark., 1988). Dissosiyatif anestetiklerden ketamin 1970'lerden bu yana veteriner cerrahiye girmiştir. Bu grupta bulunan maddeler dissosiyatif anestezi diye adlandırılan ve çevreden kopma durumuyla belirlenen bir anesteziye neden

olurlar. Hasta uyanık gibi gözükür ancak çevreden gelen uyarılara cevap veremez, uyarılara karşı kornea, pupilla ve diğer refleksler cevap verir (Kaya ve ark., 2002). Ketamin, doza bağlı olarak sedatif, analjezik ve anestetik etki gösterir (Aantaa ve Scheinin, 1993). Ketamin, geçici olarak solunumu deprese edebilir ve doza bağımlı olarak apneye sebep olabilir (Gülanber ve ark., 2001; Topal, 2005). Ksilazin, opioid yapıda olmayan bileşikler grubundan bir alfa-2 adrenoreseptör agonisti olup anestetik, analjezik ve sedatif etkilere sahiptir (Afshar ve ark., 2005; Grant ve Upton, 2001). İntramüsküler, intravenöz veya subkutan yolla uygulanabilir (Gökhan, 2008). Premedikasyon amacıyla yaygın olarak kullanılan bir tranklizan olan bu maddenin etkisine koyun ve keçiler son derece duyarlıdır (Grant ve Upton, 2001; Koç ve ark., 2001). Ksilazin ve ketamin kombinasyonunun tek bir bolus enjeksiyonu, etkinin kısa sürede açığa çıkması ve kısa sürmesi gibi avantajlara sahiptir. Ancak tekrarlı dozlar ve sürekli infüzyon anesteziyenin çıkışta gecikmelere neden olur (Lin ve ark., 1997). Farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda (Kamiloğlu ve ark., 2009; Kılıç, 2017; Yayla ve ark., 2014) anestetik ajanların bazı klinik bulgular üzerine olan etkileri karşılaştırılmıştır. Ancak yapılan literatür taramalarında propofol ve ketaminin, ksilazin ile kombinasyonlarının koyunlarda fizyolojik parametreler üzerine etkilerini gösteren yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, koyunlarda Ksilazin-Ketamin, Ksilazin-Propofol ve Ksilazin-Ketamin-Propofol kombinasyonlarının bazı fizyolojik parametreler üzerine etkilerini tespit etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

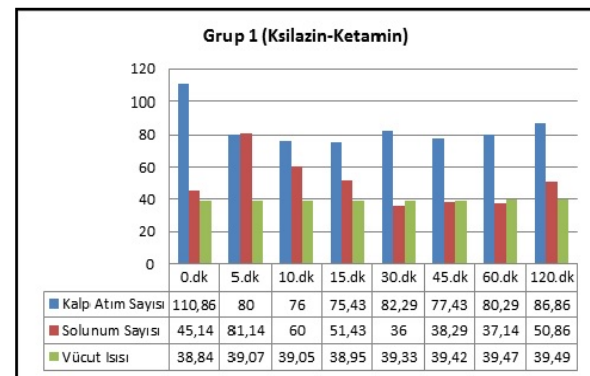
Bu çalışmaya Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığından yerel etik kurul onayı alınarak başlandı (08.05.2012 tarih ve 2012/49 sayılı). Çalışma, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinden sağlanan ortalama canlı ağırlığı 43.27±4.76 kg olan 1 yaşlarında, doğum yapmamış klinik olarak sağlıklı 28 adet Zom ırkı dişi koyun üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada yer alan hayvanların denemenin 12 saat öncesinden yem yemeleri ve su içmeleri engellendi. Hayvanlar eşit sayıda (n=7) ve rastgele biri kontrol olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol Grubuna 5 cc iv. serum fizyolojik, kontrol dışındaki gruplara üç farklı ilaç kombinasyonu uygulandı. Grup 1: (Ksilazin-Ketamin): 0.1 mg/kg, i.v ksilazin uygulamasından 5 dk sonra 2.2 mg/kg, i.v ketamin, Grup 2: (Ksilazin-Propofol): 0.1 mg/kg, i.v ksilazin uygulamasından 5 dk sonra 3 mg/kg, i.v propofol, Grup 3: (Ksilazin-Ketamin-Propofol): 0.1 mg/kg, i.v

ksilazin uygulamasından 5 dk sonra 2.2 mg/kg, i.v ketamin ve 3 mg/kg, i.v propofol uygulandı. Hayvanlar entübasyon yapılmaksızın ortamda bulunan havayı soludu. Hayvanlarda kalp atım hızı, solunum sayısı ve vücut ısısı anestetik ajanların uygulanmasından önce (0. dk) ve anestetiklerin uygulanmasından 5, 10, 15, 30, 45, 60 ve 120. dk'larda ölçüldü. Kalp atım hızı bir stetoskop aracılığıyla oskültasyon yöntemiyle doğrudan, solunum sayısı kosto-abdominal hareketler gözlenerek belirlendi. Vücut ısısı dijital bir termometre yardımıyla rektumdan ölçüldü.

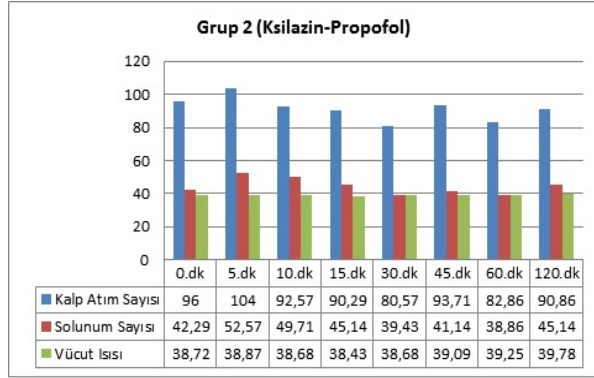
Çalışmada elde edilen veriler değerlendirilirken, istatistiksel analizler için MINITAB istatistik yazılımı kullanıldı. Ölçümlerde elde edilen değerlerin grup içi kontrol değerleriyle karşılaştırılmasında Dunnett testi, sekiz farklı periyotta alınan değerlerin kendi aralarında karşılaştırılmasında ise Tukey testi uygulandı. Elde edilen veriler ortalama±standart sapma (X±SD) cinsinden verildi.

Bulgular

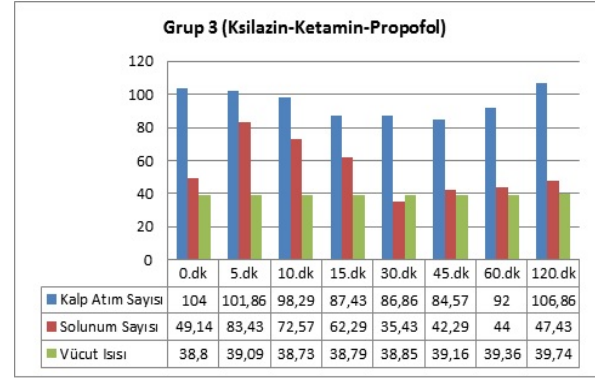
Gruplara ait kalp atım sayısı, solunum sayısı ve vücut ısısında meydana gelen değişimler Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3 ve Tablo 1'de sunuldu. Grupların kontrol grubu ile yapılan kıyaslamalarında kalp atım sayısında sadece Grup 3'te 120. dk'da istatistiksel olarak önemli bir artış saptandı (P<0.01). Solunum sayısında Grup 1 ve Grup 3'te 5. dk'da önemli bir artış (P<0.01) saptanırken 30. dk'da önemli bir azalma (P<0.05) meydana geldi. Vücut ısısı bakımından Grup 2'de 10., 15. ve 30. dk'larda önemli bir azalma (P<0.05, P<0.01, P<0.01), 120. dk'da ise istatistiksel açıdan önemli bir artış (P<0.01) belirlendi. Grup 3'te vücut ısısında sadece 120. dk'da önemli bir artış (P<0.01) tespit edildi.



Şekil 1. Ksilazin-ketamin uygulanan koyunlarda kalp atım sayısı, solunum sayısı ve vücut ısısı ortalama değerleri (X±SD olarak verilmiştir).



Şekil 2. Ksilazin-propofol uygulanan koyunlarda kalp atım sayısı, solunum sayısı ve vücut ısısı ortalama değerleri ($X \pm SD$ olarak verilmiştir).



Şekil 3. Ksilazin-ketamin-propofol uygulanan koyunlarda kalp atım sayısı, solunum sayısı ve vücut ısısı ortalama değerleri ($X \pm SD$ olarak verilmiştir).

Tablo 1. Grupların kalp atım sayısı, solunum sayısı ve vücut ısısı değer ortalamaları ve kontrol değerine oranla değişimlerinin istatistiksel karşılaştırılması.

	ZAMAN(dk)	GRUP 1 (n:7)	GRUP 2 (n:7)	GRUP 3 (n:7)	KONTROL GRUBU (n:7)	P
		$X \pm SD$	$X \pm SD$	$X \pm SD$	$X \pm SD$	
Kalp Atım Sayısı (dk)	0	110.86±14.92	96±5.66	104±12.86	93.14±21.75	-
	5	80 ±3.27	104±25.19	101.86±34.85	88.57±11.65	-
	10	76 ±8.33	92.57 ±18.96	98.29±44.95	87.43±13.94	-
	15	75.43±13.35	90.29 ±17.72	87.43±20.32	84.00±9.52	-
	30	82.29±13.24	80.57 ±14.68	86.86±17.85	84.00±8.33	-
	45	77.43±14.18	93.71 ±15.47	84.57±10.18	83.43±11.18	-
	60	80.29±9.55	82.86 ±7.9	92 ±14.24	85.71±10.8	-
	120	86.86±13.01 ^{ab}	90.86 ±9.72 ^{ab}	106.86±15.78 ^a	84.00±9.52 ^b	**
Solunum Sayısı (dk)	0	45.14±8.86	42.29 ±8.28	49.14±14.18	46.29±6.05	-
	5	81.14±26.70 ^a	52.57 ±12.53 ^{ab}	83.43±31.78 ^a	45.14±6.82 ^b	**
	10	60.00±15.32	49.71 ±10.29	72.57±34.29	45.71±9.76	-
	15	51.43±5.38	45.14 ±8.23	62.29±40.32	46.86±7.2	-
	30	36.00±4.00 ^b	39.43 ±9.07 ^{ab}	35.43±3.60 ^b	46.00±6.22 ^a	*
	45	38.29±4.54	41.14 ±9.16	42.29±9.2	47.43±6.29	-
	60	37.14±5.98	38.86 ±12.38	44.00±8	46.29±3.9	-
	120	50.86±10.25	45.14 ±8.86	47.43±5.86	47.43±3.6	-
Vücut Isısı (°C)	0	38.84±0.24	38.72 ±0.45	38.80±0.27	39.14±0.31	-
	5	39.07±0.37	38.87 ±0.52	39.09±0.24	39.34±0.35	-
	10	39.05±0.32 ^{ab}	38.68 ±0.50 ^b	38.73±0.23 ^{ab}	39.29±0.40 ^a	*
	15	38.95±0.40 ^{ab}	38.43 ±0.49 ^b	38.79±0.28 ^{ab}	39.30±0.37 ^a	**
	30	39.33±0.39 ^a	38.68 ±0.51 ^b	38.85±0.19 ^{ab}	39.26±0.27 ^a	**
	45	39.42±0.5	39.09 ±0.44	39.16 ±0.39	39.15±0.25	-
	60	39.47±0.53	39.25 ±0.41	39.36 ±0.35	39.08±0.27	-
	120	39.49±0.52 ^{ab}	39.78 ±0.31 ^a	39.74 ±0.45 ^a	38.93±0.26 ^b	**

^{a, b} aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası farklılıklar önemlidir.

* (P<0.05); ** (P<0.01); - önemlilik yoktur.

Veriler ortalama±standart sapma ($X \pm SD$) cinsinden verildi.

Tartışma ve Sonuç

Anestezi, hastada asgari düzeyde risk teşkil edecek şekilde, tersine çevrilebilir bilinçsizlik, amnezi, analjezi ve hareketsizlik hali oluşturmayı amaçlamaktadır. Ancak anestetik ilaçlar hastada homeostazı riske atabilir (Haskins, 1996). Bu amaçla çalışmamızda Grup 1'de belirtilen dozlarda kullanılan ksilazin-ketamin, Grup 2'de kullanılan ksilazin-propofol ve Grup 3'te kullanılan ksilazin-ketamin-propofol kombinasyonlarının fizyolojik parametreler üzerine etkileri karşılaştırılmıştır. Küçükbaş hayvanların anestezisinde ksilazin ve

ketamin kombinasyonlarının, sıkça tercih edildiği bildirilmektedir (Ewing, 1990).

Bazı araştırmacılar ksilazin-ketamin uygulamasının pratikte güvenilir bir anestezi sağlarken solunum, nabız ve vücut ısısında önemli olmayan değişiklikler oluşturduğunu rapor etmişlerdir (Görgül ve ark., 1991; Şındak ve ark., 2003). Afshar ve ark. (2005) keçilerde yaptıkları bir çalışmada ksilazin-ketamin kombinasyonunun kalp atım sayısında 15. ve 60. dakikalar arasında azalmaya neden olduğunu, solunum sayısında ise önemli bir değişikliğe neden olmadığını bildirmişlerdir. Kamiloğlu ve ark. (2009) ise

koyunlarda kalp atım hızı ve solunum sayısının ketamin-ksilazin kombinasyonunun uygulanmasından 10 dakika sonra artmaya başladığını ve 15. dk' dan sonra başlangıç değerine döndüğü rapor etmişlerdir. Ketamin uygulamasına bağlı olarak hafif bir solunum sistemi baskılanması meydana gelmekte, bu olgu genellikle azalan soluk sonu (tidal) hacmini telafi etmeyen bir solunum sayısı artışı şeklinde gözlenmektedir (Hall ve ark., 2001). Mevcut çalışmada ksilazin-ketamin uygulanan koyunlarda kontrol grubuna göre solunum sayısında 5. dk.'da istatistiksel olarak önemli bir artış ($P<0.01$) 30. dk.'da ise istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edildi ($P<0.05$). Elde edilen sonuçlar Kamiloğlu ve ark. (2009)'nın bulgularıyla paralellik gösterdi. Ksilazinin, kalp atım hızı ile kalp debisinde azalma, geçici hipertansiyon ve ardından hipotansiyon gelişimine neden olduğu (Grant ve Upton, 2001), ketaminin ise diğer anestetiklerden farklı olarak arteriyel kan basıncı, kalp atım hızı ve kalp debisinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Morgan ve ark., 2006). Ksilazin ketamin ile kombine şekilde kullanıldığında ketaminin sempatomimetik etkisi nötralize edilerek, kalp atım sayısı ve kan basıncı normal değerlere yaklaşmaktadır (Wright ve ark., 1987). Çalışmada bazı yazarların aksine (Afshar ve ark., 2005; Kamiloğlu ve ark., 2009) koyunlarda kalp atım sayısında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmedi. Mevcut çalışmada ksilazin-ketamin uygulanan koyunlarda kontrol grubuna göre vücut ısısında önemli olmayan değişiklikler belirlendi. Bildirilen sonuçlar bazı yazarların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir (Görgül ve ark., 1991; Kamiloğlu ve ark., 2009; Şındak ve ark., 2003).

İnsan ve farklı hayvan türleri üzerinde yapılan çalışmalarda propofolün apneye sebep olduğu rapor edilmiştir (Duke, 1995; McNeir ve ark., 1988; Prassinis ve ark., 2005; Sams ve ark., 2008). Apaydın ve ark. (2004) tavşanlarda yaptıkları bir çalışmada solunum sayısındaki düşüşün, propofol uygulamasının beklenen bir sonucu olduğunu, kalp atım sayısındaki artışın ise beklenmeyen bir bulgu olduğunu bildirmektedirler. Tavşanlarda anestezi sırasında gerçekleşen taşikardinin, anestetik ajanın hızla metabolize olmasıyla, derin genel anestezi oluşmamasıyla ve ölçümler esnasında yapılan uyarımlarla bağlantılı bulunmuştur. Bazı yazarlar anestezi sırasında kalp atım sayısının düşük seyretmesini propofolün kardiyak depresif etkisiyle, solunumun deprese olmasını ise propofolün güçlü solunum depresan etkisi ile ilişkilendirmişlerdir (Glowaski ve Wetmore, 1999; Hayat ve ark., 2004; Hayat ve ark., 2006). Çalışmamızda ksilazin-propofol uygulanan grupta kontrol grubuna göre kalp atım sayısı ve solunum sayısında istatistiksel olarak

önemli bir fark tespit edilmedi. Bu grupta kontrol grubuna kıyasla vücut ısısında 10., 15. ve 30. dk.'larda istatistiksel açıdan önemli bir azalma ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.01$), 120. dk.'da ise istatistiksel açıdan önemli bir artma ($P<0.01$) saptandı. Elde ettiğimiz sonuçların vücut ısısı bakımından bazı yazarların bulgularıyla uyumlu olmadığı belirlendi (Hayat ve ark., 2006). Prassinis ve ark. (2005), keçilerde propofol ve ketamin uygulamasının kalp atım hızını artırdığını, solunum sayısını ise azalttığını tespit etmişlerdir. Araştırmamızda ksilazin-ketamin-propofol uygulanan koyunlarda solunum sayısı kontrol grubuna göre 5. dk.'da istatistiksel olarak önemli derecede artarken ($P<0.01$) 30. dk.'da istatistiksel olarak önemli derecede azaldı ($P<0.05$). Grup 1 ve Grup 3' te 5. dk.'larda gözlenen solunum artışı ketamin uygulamasıyla ilişkilendirilmiştir (Hall ve ark., 2001). Ksilazin-ketamin-propofol uygulanan grupta kalp atım sayısı ve vücut ısısı kontrol grubuna göre 120. dk.'da istatistiksel olarak önemli derecede arttı ($P<0.01$). Bildirilen sonuçların kalp atım sayısı bakımından bazı yazarların bulgularıyla uyumlu olduğu (Prassinis ve ark., 2005), vücut ısısı bakımından ise uyumlu olmadığı belirlendi (Kılıç, 2017; Yayla ve ark., 2014).

Yapılan bu çalışmada ksilazin-ketamin, ksilazin-propofol ve ksilazin-ketamin-propofol kombinasyonu uygulanan koyunlarda fizyolojik parametrelerde meydana gelen değişikliklerin referans sınırlar içerisinde olduğu ve vital fonksiyonlarda herhangi bir bozulma göstermeksizin anesteziyi iyi derecede tolere ettikleri saptandı. Çalışmamızda ksilazin-propofol grubunda üç, ksilazin-ketamin-propofol grubunda dört koyunda apne gelişmesi propofol kullanımında en sık görülen yan etkiyi gözler önüne sermiştir. Sonuç olarak, kısa süreli işlemlerde ksilazin-ketamin kombinasyonunun tek bir bolus enjeksiyonu, etkinin kısa sürede açığa çıkması gibi etkileri göz önüne alındığında öncelikli olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma doktora tezinden hazırlanmış olup, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (Proje No: 12-VF-84) tarafından desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Aantaa R, Scheinin M, 1993: Alfa-2-Adrenergic agents in anaesthesiology. *Acta Anaesthes Scand*, 37, 433-448.
- Afshar SF, Baniadam A, Marashipour PS, 2005: Effect of xylazine-ketamine on arterial blood pressure, arterial blood pH, blood gases, rectal temperature,

- heart and respiratory rates in goats. *Bull Vet Inst Pulawy*, 49, 481-484.
- Apaydın N, Kaya Ü, Koç B, Kaya A, 2004: Tavşanlarda acepromazine-propofol anestezisi. *Erciyes Medical Journal*, 26(1), 1-6.
- Atasoy S, Karadeniz K, 2003: Anestezi, Fatih Ofset/İstanbul.
- Duke T, 1995: A new intravenous anesthetic agent: Propofol. *Can Vet J*, 36 (3), 181-183.
- Ewing KK, 1990: Anesthesia techniques in sheep and goat. *Vet Clin North Am: Food Anim Pract*, 6, 759-778.
- Glowaski MM, Wetmore LA, 1999: Propofol: Application in veterinary sedation and anesthesia. *Clin Tech Small Anim Pract*, 14(1), 1-9.
- Gökhan N, 2008: Atlarda alfa2 adrenoreseptör agonistlerin bazı fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14(1), 109-116.
- Görgül S, Pekbilir A, Cemoğlu A, Atasoy N, 1991: Clinical applications of the use of a combination of thiazine hydrochloride (Xylazine-Rampun) and ketamine HCl (Ketalar) in calves. *J Vet Anaes*, 18(1), 181-182.
- Grant C, Upton RN, 2001: Cardiovascular and haemodynamic effects of intramuscular doses of xylazine in conscious sheep. *Aust Vet J*, 79(1), 58-60.
- Gülenber GE, Baştan A, Taşal İ, Aktaş M, Arıkan N, 2001: Köpeklerde midazolam ve ketaminele genel anestezi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(2), 401-409.
- Hall LW, Clark KW, Trim CM, 2001: Veterinary anaesthesia. 10th ed. WB Saunder's Co, London, England.
- Haskins SC, 1996: Monitoring the anesthetized patient. In: Thurman JC, Tranquilli WJ, Benson GJ (eds): *Veterinary Anesthesia*, ed 3, Philadelphia, Williams&Willkins, USA.
- Hayat A, Ceylan C, İpek H, Şakar M, 2004: Atlarda ksilazin-tiletamin-zolazepam ve ksilazin-tiletamin-zolazepam-propofol anestezisi. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10(1-2), 13-19.
- Hayat A, Şındak N, Karaçal F, 2006: Kilis Keçilerinde Propofol Kullanılması. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 36-39.
- Kamiloğlu NN, Kamiloğlu A, Beytut E, 2009: Changes in antioxidant sytem, lipid peroxidation, heart and respiratory rate and rectal temperature with ketamine and ketamine-xylazine anaesthesia in Tuj rams. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(2), 205-210.
- Kaya S, Pirinççi İ, Ünsal A, Traş B, Bilgili A, Akar F, Doğan A, 2002: Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji Cilt 1, Baskı 3, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Kılıç N, 2017: Untersuchung der auswirkung von injektionsanästhesie mit propofol über die hämatologische und biochemische parameter bei den katzen. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23(1), 1-5.
- Koç B, Sarıtaş KZ, Şenel OO, 2004: Genel anestezi, Veteriner Anesteziyoloji ve Reanimasyon, Medipres Matbaacılık Ltd. Şti, Malatya.
- Koç Y, Kul M, Alkan F, Oğurtan Z, 2001: Köpeklerde midazolam- ketamine ve xlazine ketamine anestezisinin arteriyel kan basıncı ve kan gazları üzerine etkileri. *Vet Bil Derg*, 18(1-2), 57-62.
- Lin HC, Purohit RC, Powe TA, 1997: Anesthesia in sheep with propofol or with xylazine ketamine followed by halothane. *Vet Surg*, 26(3), 247-52.
- McNeir DA, Mainous EG, Trieger N, 1988: Propofol as an intavenous agent in general anesthesia and conscious sedation. *Anesth Prog*, 35(4), 147-151.
- Morgan GE Jr, Mikhail, MS, Murray MJ, 2006: Clinical Anesthesiology, ed 4, Lange, Medical Books/McGrawHill, New York, USA.
- Prassinos NN, Galatos DA, Raptopoulos D, 2005: A comparison of propofol, thiopental or ketamine as induction agents in goats. *Vet Anaesth Analg*, 32, 289-296.
- Sams L, Braun C, Allman D, Hofmeister E, 2008: A comparison of the effects of propofol and etomidate on the induction of anesthesia and on cardiopulmonary parameters in dogs. *Vet Anaesth Analg*, 35, 488-494.
- Şındak N, Yürekli FU, Sertkaya H, Şakar M, 2003: Buzagılarda tiletamin-zolezapam-xylazin ve ketamin-xylazin anestezisi. *Turk J Vet Animal Sci*, 27, 775-779.
- Topal A, 2005: Veteriner Anestezi, Nobel&Güneş Yayınları, Bursa.
- Wright Mollie, Heath RB, Wingfield WE, 1987: Effects of xylazine and ketamine on epinephrine induced arrhythmia in dog. *Vet Surg*, 16, 398-403.
- Yayla S, Kamiloğlu N, Kamiloğlu A, Özaydın İ, 2014: Comparison of intravenous and intraosseous administration of propofol-ketamine combination for anesthesia in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Kocatepe Vet J*, 7(1), 11-16.

*Yazışma Adresi: Esra GÖKALP

Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Şanlıurfa-63100, Türkiye, e mail: esragokalp2009@hotmail.com

Bir Montofon Melezi Süt İneğinde Kutanöz Aktinobasilloz Olgusu

Abdullah KARASU¹, Serkan YILDIRIM², Caner KAYIKCI^{1*}, Yağmur KUŞCU¹, Tunahan SANCAK¹

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

²Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye.

Geliş Tarihi: 06.07.2018

Kabul Tarihi: 12.11.2018

Özet: Bu çalışmada, montofon melezi bir inekte gözlenen kutanöz aktinobasilloz olgusunun klinik ve histopatolojik bulguları ile sağaltım sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlandı. Anamnez bilgisinde, hayvanın sol açlık çukurluğu ile arka ekstremitelerin medial yüzlerinde değişik boyutlarda kitleler şekillendiği ve giderek büyüdüğü ifade edildi. Yapılan klinik muayenede, sol açlık çukurluğunda yumurta büyüklüğünde bir adet, sol arka ekstremitenin medial yüzünde ceviz büyüklüğünde 2 adet ve sağ arka ekstremitenin medial yüzünde fındık büyüklüğünde 5 adet kutanöz granülatöz kitleler gözlemlendi. Sol açlık çukurluğunda ve sol arka ekstremitede yer alan kitleler total olarak ekstirpe edildi ve sağ arka bacağın medial yüzündeki kitlelere cerrahi müdahale yapılmadı. Ekstirpe edilen kitlelerin histopatolojik inceleme sonucunda kronik piyogranülatöz yangının sebebi olarak *Actinobacillus*-benzeri bakteri olduğu tespit edildi. Postoperatif oral sodyum iyodür ile birlikte parenteral prokain penisilin ve dihidrostreptomisin sülfat kombinasyonu uygulandı. Sonuç olarak *Actinobacillus lignieresii* tarafından oluşturulan pyogranülatöz kutanöz lezyonlar sığırlarda oldukça nadir şekillendiği için deride şekillenen pyogranülatöz lezyonların ayırıcı tanısında aktinobasillozun göz ardı edilmemesinin gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca lezyonların tedavisinde, cerrahi yöntemin yanı sıra sodyum iyodür ile birlikte uzun süre antibiyotik uygulaması ile tedavide başarılı sonuçlar alınabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Deri hastalıkları, Bakteriyel, Aktinobasillozis, Sığır.

A Case of Cutaneous Actinobacillosis in A Dairy Cross-Breed Brown Swiss Cow

Abstract: In this study, we aimed to evaluate the clinical and histopathological findings and treatment outcomes in a 5-year-old Brown Swiss crossbred cow with cutaneous actinobacillosis. In the medical history of the cow, the information was gained that different sizes and gradually growing mass formed in the left paralumbar fossa region and medial aspect of the hind limb was present. Clinical examination revealed a cutaneous mass of egg size on the paralumbar fossa, two separate masses of walnut sizes on the medial aspect of the left hindlimb, and 5 cutaneous granulomatous masses of hazelnut size on the medial aspect of the right hind limb. The masses in the paralumbar fossa and the medial aspect of the left hind limb were totally excised. No surgical intervention was performed for other masses. Histopathological examination of the excised masses revealed an *Actinobacillus*-like bacterium as the cause of the chronic pyogranulomatous inflammation. Postoperatively, oral sodium iodide, parenteral procaine penicillin and dihydrostreptomycin sulfate were administered. As a result, pyogranulomatous cutaneous lesions formed by *Actinobacillus lignieresii* are very rarely formed in cattle, so it is thought that actinobacillosis should not be ignored in the differential diagnosis of pyogranulomatous lesions formed in the skin. In addition, it has been concluded that using antibiotics for a long time with sodium iodide and the surgical method can be successful in the treatment of the lesions.

Keywords: Skin diseases, Bacterial, Actinobacillosis, Cattle.

Giriş

Aktinobasillozis, genellikle sığır, koyun ve keçilerin yumuşak dokularında *Actinobacillus lignieresii* tarafından oluşturulan piyogranülatöz bir enfeksiyondür (Brown ve ark., 2007; Margineda ve ark., 2013). Hastalık enfekte hayvanların ısırmasına bağlı insanlarda da görülmüştür (Peel ve ark., 1991). *Actinobacillus lignieresii* ruminantların üst sindirim sisteminin normal florasında bulunan gram negatif bir bakteridir. Hastalık daha çok sığırlarda görülmektedir. Sığırlarda ise dil en fazla etkilenen organ olup dilin hastalık nedeniyle sertleşmesi sonucu "odun dil" olarak isimlendirilmektedir. Hastalık dilin yanı sıra ağız boşluğunda, lenf düğümlerinde, midede ve baş,

boyun ve ekstremitelerde purulent akıntılı granülolara neden olur. Hastalık genellikle ağız mukozasının veya deri bütünlüğünün bozulmasının ardından oluşan yaralardan etkenin girmesiyle oluşur (Angelo ve ark., 2009; Milne ve ark., 2001). Lezyonun vücuda girdiği yerlerde granülomlar ve apseler şekillenebildiği gibi, bir aktinobasilloz lezyonundan drene olan irinin diğer hayvanların yalaması ile enfeksiyon yayılabilir. Lezyonların klinik görünüşleri nodüler, çoklu apse odaklı, granülatöz, akıntılı fistüller şeklindedir (Milne ve ark., 2001; Rycroft ve Garside, 2000). Bu olgu sunumunda, yetişkin montofon melezi bir süt sığırında şekillenen kutanöz aktinobasillozisin klinik

ve patolojik bulguları ile tedavi sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Olgu Tanımı

Bu olgunun materyalini Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine getirilen 5 yaşında montofon melezi bir inek oluşturdu. Anamnez bilgisinde, hayvanın sol aklık çukurluğunda 2-3 ay önce küçük boyutta bir kitle şekillendiği ve daha sonra bu kitlelerin giderek büyüdüğü, zaman zaman kanadığı ve ayrıca sağ ve sol arka ekstremitelerin mediallyerinde de fındık şeklinde kitlelerin şekillendiği öğrenildi. Kliniğimize getirilmeden 1 ay önce serbest çalışan bir veteriner hekim tarafından 3 gün süreyle medikal tedavi uygulandığı ancak tedaviye yanıt alınmadığı bilgisi alındı.

Klinik muayene: Yapılan klinik muayenede, beden ısısı, solunum ve kalp frekansının normal olduğu saptandı. Bölgesel sol precrural (prefemoral) lenf yumrusunun normalden daha büyük olduğu belirlendi. Hayvanın sol aklık çukurluğunda yumurta şeklinde katı, ağırlı hemorajik ve granülatöz bir kitle tespit edildi. Ayrıca sol arka bacağın medial yüzünde ceviz büyüklüğünde iki adet (Şekil 1A) ve sağ arka bacağın medial yüzünde fındık büyüklüğünde 5 adet kutanöz granülatöz kitleler gözlemlendi. Bacakların iç yüzündeki kitlelerin palpasyonda katı ve ağırlı oldukları belirlendi. Muayene sonucunda neoplazma veya enfeksiyöz kökenli bir kitle olabileceği düşünüldü.

Operasyon: Klinik değerlendirme sonrası, sol aklık çukurluğunda ve sol arka ekstremitenin medial yüzünde yer alan kitlelerin total olarak ekstirpe edilmesine karar verildi. Hayvan 0,1 mg/kg ksilazin HCL ile sedasyonu takiben büyük hayvan operasyon masasına sağ tarafı üzerine yatırılarak tespit edildi. Kitlelerin etrafına %2 lidokain ile lokal infiltrasyon anestezi uygulandı ve bölgeler operasyon için hazır hale getirildi. Kitleler cerrahi olarak çıkarıldı. Şekillenen kanamalar elektrokoter yardımıyla kontrol altına alındı. Sol fossa paralumbalisteki operasyon yarası basit ayrı dikiş uygulaması ile kapatıldı. Sol arka bacağın medial yüzündeki kitlelerin uzaklaştırılmasından sonra şekillenen yaralara, derinin çok gergin olmasından dolayı dikiş ile kapatma imkânı olmadığı için açık yara tedavisi uygulandı. Alınan kitleler histopatolojik değerlendirme için patoloji laboratuvarına %10'luk formalin solüsyonu içerisinde gönderildi. Sağ arka

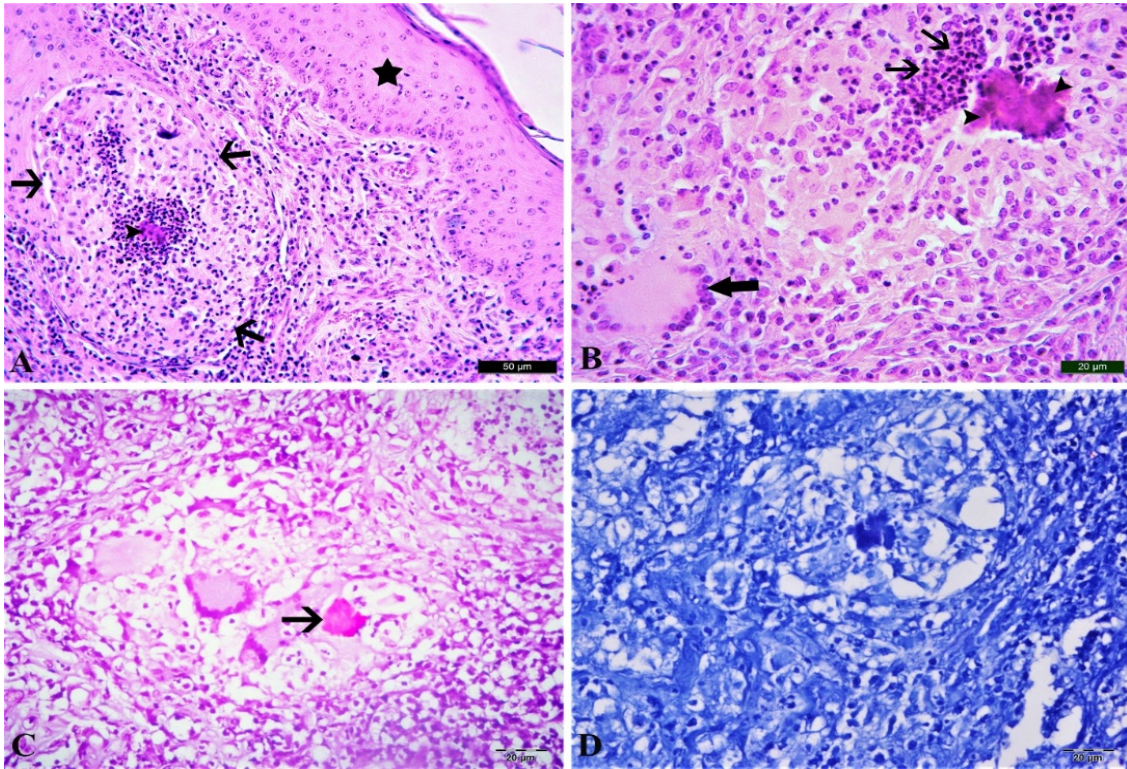
ekstremitenin medial yüzündeki kitlelere cerrahi müdahale yapılmadı.

Medikal sağıltım: Operasyondan sonra histopatoloji sonucu beklenirken, 10 mg/kg prokain penisilin ve 12.5 mg/kg dihidrostreptomisin sülfat ve 2.2 mg/kg fluniksın meglümin IM, uygulanması ile tedaviye başlandı ve histopatoloji muayene sonucu açıklanıncaya kadar 3 gün tedaviye devam edildi. Postoperatif dördüncü gün histopatolojik ve klinik bulgular doğrultusunda aktinobasilloz teşhisi konulduktan sonra uygulanan tedaviye ilave 12 gün daha 10 mg/kg prokain penisilin ve 12.5 mg/kg dihidrostreptomisin sülfatın IM uygulamasıyla devam edildi. Ayrıca sodyum iyot günlük 2gr/100kg oral olarak 7 gün boyunca uygulandı. Hayvan sahibi iyodizm hakkında bilgilendirildi.

Histopatolojik sonuç: Histopatolojik değerlendirme amacıyla alınan dokuların makroskopik olarak kitlelerin kesit yüzü hafif granüle, ortası irinli, etrafı fibröz dokuyla çevrili sert granülomlar tespit edildi. Sol aklık çukurluğundan alınan kitle 8x7x3 cm, sol ekstremitenin medial yüzünden alınan kitlelerin ise sırasıyla 2x2x1 cm, 3x2x1 cm ebatlarında olduğu tespit edildi (Şekil 1B). Histopatolojik inceleme için hazırlanan preparatlar Hematoksilen-Eozin (HE), Ziehl-Neelsen ve gram boyaları ile boyanıp ışık mikroskobu ile incelendi. Histopatolojik olarak incelenen dokularda pyogranülomlara rastlandı. Bu granülomların ortasında etkenler, hemen çevresinde eozinofilik çomak kolonileri, bunların çevresinde nötrofil lökositler, makrofajlar ve çok sayıda dev hücreleri, en dışta ise fibrosit ve fibroblastlardan oluşan reaktif fibröz bir kapsül tespit edildi (Şekil 2A-B). Hematoksilen-Eozin ile boyanan dokularda görülen etkenin teşhisi amacıyla gram ve Ziehl-Neelsen boyaları uygulandı. Mikroskopta incelendiğinde etkenin gram negatif ve non asit fast olduğu belirlendi. Bu nedenle histopatolojik tanı, kronik piyogranülatöz yangının sebebi olarak *Actinobacillus*-benzeri bakteri olduğu tespit edildi (Şekil 2C-D). Postoperatif 1. ayda hasta sahibi ile irtibat kurularak ziyaret gerçekleştirildi. Hayvanın yapılan klinik muayenesinde genel durumunun iyi olduğu operasyon yaraları ile cerrahi tedavi uygulanmayan sağ arka bacağın medial yüzündeki yaygın kitlelerde tamamen iyileştiği ve herhangi bir nüks olayının şekillenmediği gözlemlendi. Postoperatif 5. ayda hasta sahibi ile tekrar telefon görüşmesi yapıldığında, herhangi bir nüks şekillenmediği, hayvanın genel durumunun iyi olduğu bilgisi öğrenildi.



Şekil 1. A. Sol arka bacağın medial yüzünde kutanöz aktinobasilloz granülomları (Oklar), **B.** Operasyonla alınan kutanöz aktinobasilloz granülomların kesit yüzleri.



Şekil 2. A. Epidermis (yıldız), dermiste pyogranulom, fibröz kapsül (oklar), eozinofilik çomak kolonileri (okbaşı) ve etrafında yoğun miktarda nötrofil lökositler (oklar), (H&E, Bar: 20µm) **B.** Ortada eozinofilik çomak kolonileri (okbaşları) ve etrafında yoğun miktarda nötrofil lökositler (ince oklar), dışta makrofajlar, histiyositler ve devhücreleri (kalın ok), (H&E, Bar: 20µm) **C.** Gram negatif boyanmış bakteri (ok), (Gram boyama Bar: 20µm), **D.** Asite dirençsiz bakteri, (Ziehl-Neelsen Bar: 20µm).

Tartışma ve Sonuç

Aktinobasilloz sığırlarda tipik olarak daha çok ağız ve boğaz bölgesi mukozasındaki defektlerden girerek, dilde, ağızda yutak ve lenf yumrularında granülatöz yangılara neden olan bir hastalıktır. Hastalığın atipik formunda lezyonların dudaklarda, burun deliklerinde, trakeada, akciğer ve göz kapaklarında da görülüşü bildirilmektedir (Angelo

ve ark., 2009; Kish ve ark., 2014; Rycroft ve Garside, 2000; Truysers ve ark., 2014). Sunulan bu vakada etkenin açıklık çukurluğu ile sol ve sağ arka bacağın medial yüzünde kutanöz lezyonlar oluşturduğu az rastlanan atipik formu gözlenmiştir. Bazı çalışmalarda distal ekstremitelelerdeki lezyonların enfekte hayvanın bölgeye etkeni kendini yalaması

sırasında taşınması ve ekstremitelerde yer alan yara veya sıyrıktan etkenin penetre olması sonucu şekillendiği bildirilmiştir (Cahalan ve ark., 2012; Kish ve ark., 2014). Bu vakada da lezyonların konumları göz önünde bulundurulduğunda etkenlerin hayvanın kendisini yalaması sonucunda bölgeye ulaştığı düşünülmüştür. Literatürlerde hastalıkta şekillenen granülomların, neoplazilerden, paraziter enfeksiyöz granülomlardan ve taşkın granülasyon dokusundan ayırt edilmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Yapılan çalışmalarda hastalığın kesin teşhisinin bakterinin izolasyonu ile mümkün olduğu, ancak etken izolasyonunun zor olduğundan dolayı belirgin rozet yapısı ve gram boyanmasından dolayı, etken histopatolojik olarak da teşhis edilebileceği bildirilmektedir (Rycroft ve Garside, 2000). Vakamızda histopatolojik olarak ortasında etkenler, hemen çevresinde eozinofilik çomak kolonileri bulunan granülomlar tespit edildi. Gram ve Ziehl-Neelsen boya uygulamasının ardından, etken gram negatif ve non asit fast olduğu belirlendi. Lezyonun yapısı, etkenin morfolojisi, boyut ve şekli, boyanma özelliklerinden dolayı piyogranülatöz yangının sebebi olarak *Actinobacillus* benzeri bakteri olduğunu güçlü bir şekilde destekledi. Ayrıca etkenin bu özelliklerinden dolayı granüloma (*Mycobacteria spp*) ve progranülomlara (*Actinomyces bovis*, *Staphylococcus aureus*) neden olan bakterilerden de ayrıldığı vurgulanmaktadır (Aslani ve ark., 1995; Boileau ve ark., 2009; Rebhun ve ark., 1988).

Aktinobasilozun klasik tedavisinde sodyum iyodür, tetrasiklin, penisilin, streptomisin, seftiofur, kloramfenikol gibi kemoteropötikler kullanılmaktadır (Rycroft ve Garside, 2000). *A. lignieresii*'nin sodyum iyodür ve organik iyoda karşı hassas olduğu klinik olarak bilinmektedir. Atipikal aktinomikozun cerrahi tedavisi granülomun sayısı anatomik yerleşim yeri ve ulaşılabilirliğine bağlıdır (Boileau ve ark., 2009). Milne ve ark. (2001) kutanöz aktinobasilozun tedavisinde 2 ila 4 hafta arasında prokain penisilin, streptomisin kombinasyonu veya tek başına dihidrostreptomisin ya da streptomisini başarılı bir şekilde kullandıklarını bildirmişlerdir. Bu vakada sodyum iyodür 7 gün oral, prokain penisilin ve dihidrostreptomisin kombinasyonu 15 gün boyunca parenteral kullanılmıştır. Post operatif 6. aya kadar yapılan takiplerde hastalığın nüks etmemesi tedavi prosedürünün uygun olduğunu kanaatine varıldı.

Sonuç olarak *Actinobacillus lignieresii* tarafından oluşturulan piyogranülatöz kutanöz lezyonlar sığırlarda oldukça nadir şekillendiği için deride şekillenen piyogranülatöz lezyonların

ayırıcı tanısında aktinobasilozun göz ardı edilmemesinin gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca atipik kutanöz aktinobasiloz lezyonlarının tedavisinde, cerrahi yöntemin yanı sıra sodyum iyodür ile birlikte uzun süre antibiyotik uygulaması ile tedavide başarılı sonuçlar alınabileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Angelo P, Alessandro S, Noemi R, Giuliano B, Filippo S, Marco P, 2009: An atypical case of respiratory actinobacillosis in a cow. *Journal of Veterinary Science*, 10, 265-267.
- Aslani M, Khodakaram A, Rezakhani A, 1995: An atypical case of actinobacillosis in a cow. *Transboundary and Emerging Diseases*, 42, 485-488.
- Boileau MJ, Jann HW, Confer AW, 2009: Use of a chain éraseur for excision of a pharyngeal granuloma in a cow. *J Am Vet Med Assoc*, 234, 935-937.
- Brown CC, Baker DC, Barker IK, 2007: Alimentary system. In: Jubb, Kennedy and Palmer's pathology of domestic animals. Ed; Maxie M G, Elsevier Saunders, USA.
- Cahalan S, Sheridan L, Akers C, Lorenz I, Cassidy J, 2012: Atypical cutaneous actinobacillosis in young beef cattle. *Vet Rec*, 171(15). 375.
- Kish GF, Naeini AT, Namazi F, Ariyand Y, 2014: Atypical actinobacillosis in a dairy cow. *Journal of Animal and Poultry Sciences*, 3, 01-07.
- Margineda CA, Odriozola E, Moreira AR, Cantón G, Micheloud JF, Gardey P, Spetter M, Campero CM, 2013: Atypical actinobacillosis in bulls in Argentina: Granulomatous dermatitis and lymphadenitis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33, 1-4.
- Milne M, Barrett D, Mellor D, O'Neill R, Fitzpatrick J, 2001: Clinical recognition and treatment of bovine cutaneous actinobacillosis. *The Vet Rec*, 148, 273-274.
- Peel M, Hornidge K, Luppino M, Stacpoole A, Weaver R, 1991: Actinobacillus spp. and related bacteria in infected wounds of humans bitten by horses and sheep. *Journal of clinical microbiology*, 29, 2535-2538.
- Rebhun W, King J, Hillman R, 1988: Atypical actinobacillosis granulomas in cattle. *The Cornell veterinarian*, 78, 125-130.
- Rycroft AN, Garside LH, 2000: Actinobacillus species and their role in animal disease. *The Veterinary Journal*, 159, 18-36.
- Truys I, Ellis K, Norquay R, 2014: A case of recurrent cutaneous actinobacillosis. *Livestock*, 19, 225-228.

*Yazışma Adresi: Caner KAYIKCI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Van, Türkiye.
e-mail: caner5246@hotmail.com

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ YAYIN KURALLARI *

- 1- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (Harran Üniv Vet Fak Derg), Veteriner Hekimliği bilim alanı ile ilgili olmak üzere insan ve hayvan sağlığını kapsayan Türkçe ve İngilizce olarak hazırlanmış orijinal klinik ve deneysel araştırmalar, olgu sunumları, derlemeler, kısa bilimsel makale ve editöre mektuplar yayınlayan hakemli bir dergidir. Dergi 6 ayda bir, yılda 2 sayı olarak yayınlanır. Yayınlanan makalelerden ücret alınmamaktadır.
- 2- Dergiye kabul edilen yayınlar başka bir yerde yayınlanmamış olmalıdır. Yayınlanan makalelerden doğacak her türlü hukuki ve cezai sorumluluk yazarlara aittir. Yazarlara yayın hakkı bedeli ödenmez. Gönderilen makaleler yayınlansın veya yayınlanmasın geri iade edilmez.
- 3- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, etik ilkelere saygı çerçevesinde, TÜBİTAK ULAKBİM tarafından Türkiye'de tüm üniversitelerin kullanımına açmış olduğu "ithenticate" intihal tespit programı aracılığıyla gönderilen tüm makale, olgu sunumu ve derlemelerin ön değerlendirmesini yapmaktadır. Bu ön değerlendirme sonuçlarına göre, makale, olgu sunumu veya derlemelerin başka kaynaklarla benzerlik oranının %23'ü (özet, abstract ve kaynaklar hariç) aşmaması gerekmektedir. "ithenticate" programı aracılığı ile yapılacak ön değerlendirmede benzerlik oranının %23 değerini aşması durumunda yayımlanmak üzere Dergimize gönderilen makale, olgu sunumu veya derlemeler değerlendirilmeye alınmayacaktır.
- 4- Dergiye sunulan çalışmaların etik kurallara uygun olarak yapılması sorumluluğu yazarlara aittir. Bununla beraber editör, gerektiğinde yazarlardan etik kurul belgesi isteme hakkını saklı tutar.
- 5- Makale yayına kabul edildiği takdirde her türlü yayın hakkının devredildiğine dair beyanları kapsayan Telif Hakkı Devir Sözleşmesinin tüm yazarlar tarafından imzalanarak basımdan önce **elektronik olarak dergi editörlüğüne gönderilmesi** gerekmektedir. Telif Hakkı Devir Sözleşmesi gönderilmeyen makaleler yayımlamaya kabul edilmiş olsalar bile basılmazlar.
- 6- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderilecek makale, olgu sunumu, derleme vb. çalışmalar harranvet@gmail.com e-posta adresine gönderildiğinde değerlendirme sürecine alınmaktadır.

YAZIM KURALLARI

Yazılar, MS Word formatında, Times New Roman yazı tipinde, 12 punto, çift satır aralıklı ve her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak hazırlanmalıdır. Bu şekildeki yazılar, şekil ve tablolar dâhil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalar ve derlemelerde 15, kısa bilimsel makale ve olgu sunumlarında 5 sayfayı geçmemelidir.

Birimler ve ölçüler için Uluslararası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır.

Araştırma Makaleleri: Orijinal araştırma makaleleri aşağıdaki ana konu sıralamasına göre dizilmelidir: Başlık, Yazar adları (Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli), Yazar adresleri, Özet ve Anahtar kelimeler (3 - 6 kelime), İngilizce başlık, Abstract ve Keywords ile Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür veya Bilgilendirme ile Kaynaklar. Her bir Tablo ve Şekil ayrı sayfalarda yer almalıdır.

YAZIM DÜZENİ

Özet: Orijinal araştırma makalelerinde 250, diğer makale türlerinde 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde hazırlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: En fazla 6 tane olmak üzere her iki dildeki özetin altında verilmelidir. **Anahtar kelimeler, Türkiye Bilim Terimleri arasından seçilmelidir. Anahtar kelimelerin seçiminde Türkiye Bilim Terimleri internet adresinden (<http://www.bilimterimleri.com>) yararlanılmalıdır.**

Giriş: Sonuçların anlaşılabilirliği ve yorumlanabilirliği için o konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar hakkında bilgilere yer verilmelidir. Giriş'te çalışmanın hipotezi belirtilmelidir. Çalışmanın amacı bu bölümün en sonunda açık olarak yazılmalıdır.

Materyal ve Metot: Bu bölümde deneysel çalışmalar diğer araştırmacılar tarafından tekrarlanabilecek yeterlilikteki detayı ile verilmelidir. Uluslar arası indeksli dergilerde yayınlanmış bir makalede açıklanan bir teknik kullanıldığında, metodun çok kısa açıklanması ve ilgili orijinal makaleye atıf yapılması gereklidir. **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne yayınlanmak amacıyla gönderilen bilimsel çalışmalarda "etik kurul onayı" zorunluluğu ve gerekliliği var ise, etik kurul onay/izin belgesinin "alındığı etik kurulun ismini, sayısını ve tarihini" içeren açıklayıcı bilgilerin materyal ve metot bölümünde açıkça belirtilmesi gerekmektedir.**

Bulgular: Araştırma bulguları açık ve anlaşılabilir şekilde verilmelidir. Bulgular, gerektiğinde tablo ve şekillerle desteklenerek kısa olarak sunulmalıdır.

Tartışma ve Sonuç: Bulgular gereksiz ayrıntıya girmeden literatürler ışığında tartışılmalı ve bulguların önemi vurgulanmalıdır. Sonuç ya da öneri cümlesi ile bitirilmelidir.

Teşekkür: Çalışma veya makaleye kişisel katkı ve parasal destek burada belirtilmelidir.

Derleme: Derginin yayın alanlarındaki konularda yenilikleri içeren, güncel kaynaklardan yararlanılarak hazırlanmış makaleler olup, **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde değerlendirmeye alınan ve yayınlanan derlemeler çağrılı derlemelerden oluşmaktadır.** Derlemelerde; Özet, Giriş, Sonuç ve Kaynaklar bölümleri bulunmalıdır.

Olgu Sunumu: Yazarların, karşılaştıkları yeni veya ender gözlemlenen olguların ele alındığı, bilimsel değere sahip bilgileri içeren eserlerdir. En fazla 15 kaynak kullanılmalı ve bu kaynakların güncel olmasına özen gösterilmelidir. Olgu sunumları; Özet, Giriş, Olgu tanımı, Tartışma ve Sonuç ile Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır.

Kısa Bilimsel Makale: Kısa bilimsel makalelerde dar kapsamlı olarak ele alınmış, yeni bilgi ve bulgular sunulmalıdır. Araştırma makalesi formatında hazırlanmalı ve en fazla 5 sayfa olmalıdır. En fazla 2 tablo veya şekil içermelidir.

Kaynaklar

Metin içinde atıf yapılırken yazar veya yazarların soyadından sonra parantez içinde kaynağın yayın yılı belirtilmelidir [Örnekler: Adams (1998) tarafından; Wilkie ve Whittaker (1997) tarafından; Doyle ve ark. (2007) tarafından...]. Cümlelerin sonunda atıf yapıldığında ise yazar ismi ve yayın yılı parantez içinde belirtilmelidir. [Örnekler: ... bildirilmiştir (Adams, 1998); bildirilmiştir (Wilkie ve Whittaker, 1997); bildirilmiştir (Doyle ve ark., 2007)]. Birden çok kaynağa atıf yapılması durumunda önce alfabetik sonra kronolojik sıralama yapılmalıdır. [Örnekler: bildirilmiştir (Adams, 1998; Adams,

2008; Doyle ve ark., 2007; Wilkie ve Whittaker, 2006)]. Aynı yazarın aynı yıl yayınları söz konusu ise her biri "a" harfinden başlayarak küçük harflerle işaretlenmelidir. [Örnek: (Adams, 2005a; Adams, 2005b;...)].

Yazarı belli olmayan Web adresleri (Anonim, erişim yılı) şeklinde belirtilir.

Kaynak listesi aşağıdaki şekilde hazırlanmalıdır:

Makale; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Kitap; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Kitaptan bir bölüm: Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Web sayfası: Anonim, 2010: <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biyoteknoloji ve Gen Mühendisliği. <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2011.

Tez: Er A, 2009: Makrolid grubu antibiyotiklerin endotoksemide sitokin düzeylerine etkisi. Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Bilimsel toplantıda sunulan bildiri: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp. 27-28.

Tablo ve Şekiller: Her bir tablo ve şekil ayrı sayfalara yerleştirilmelidir. Kullanım sırasına göre numaralandırılmalı, kısa başlıklarla ifade edilmeli ve metin içinde tablo numarası verilerek atıfta bulunulmalıdır. Tablo başlıkları makalenin yazım dilinde tablonun üst bölümüne yazılmalıdır. Tabloda kullanılan kısaltmalar ve gerekli açıklamalar tablo altında verilmelidir. Şekil başlıkları makalenin yazım dilinde şeklin alt bölümüne yazılmalıdır. Elektronik posta ile gönderilecek olan eserlerde yer alan tüm resimler en az 600 dpi çözünürlükte, TIFF veya JPEG formatında kaydedilmiş olmalıdır.

* **Not:** Dergimize makale gönderimi [internet yoluyla harranvet@gmail.com](mailto:harranvet@gmail.com) e-posta adresi üzerinden yapılmaktadır.

INSTRUCTION for AUTHORS of JOURNAL of HARRAN UNIVERSITY FACULTY of VETERINARY MEDICINE*

1- The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Harran (Harran Univ (HRU) Vet Fak Derg) publishes original clinical and experimental research, case reports, reviews, preliminary report and Letters to Editor concerned with all aspects of veterinary sciences in Turkish and English.

The journal is published as 2 issues per year. There is no publication charge.

2- Papers are accepted for publication on the understanding that they have not been published and are not currently considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors. No copyright fee is paid to authors.

3- In frame of the respect to ethical principles, Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine makes preliminary evaluations of all articles and case reports for plagiarism by using the program "ithenticate" made available by TUBITAK ULAKBIM to all universities. Therefore similarity index of the articles, case reports or reviews should not exceed 23% (Turkish abstract, abstract and references are excluded). When the similarity index detected via "ithenticate" program exceeds 23%, the articles case reports or reviews sent to our journal for publishing will not be further evaluated and returned to the author.

4- Ethical responsibility of all research submitted to the journal for publication belongs to the author(s). However, the Editor reserves the right to ask author(s) for an approval letter given by local ethics committee.

5- If the paper is accepted for publication the Copyright Transfer Agreement Form should be signed by all co-authors and the scanned form should be sent to the Editor by e-mail before publication. The article will not be published until the Copyright Transfer Agreement Form is received.

6- Submission to Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine proceeds on-line through Dergipark by using the e-mail address harranvet@gmail.com .

Preparation of Manuscript

Papers submitted for publication should be written using MS Word 2007 or upper version in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all margins. Original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages including tables, figures and graphs.

International Standard Unit (SI System) should be used for units and abbreviations.

Research Articles: Original research articles should be lined up as; Heading (Turkish), Authors names (corresponding author should be remarked with (*)), authors addresses, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) (3-6 phrases), English heading, Abstract (English) and Keywords (English), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusions, Acknowledgement and References. If the paper is written in English; firstly English heading, author(s) name(s), author(s) address(es), Abstract (English) and Keywords (English); Turkish heading, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) should be lined up and the rest of the article should be in English. Tables and Figures should be printed on separate pages.

Writing order:

Abstract: Abstracts should not exceed 250 words in original articles and 200 words in other kind of articles.

Keywords: Keywords should be 6 at maximum and written at the bottom of the summaries in both languages. Keywords should be chosen from Turkish Scientific Terms. These terms can be obtained from internet address of Turkish Scientific Terms (<http://www.bilimterimleri.com>).

Introduction: This section should supply pertinent background information for understanding and interpretation of the results the hypothesis and the aim of the study should be clearly given at the end of this section.

Materials and Method: This section should describe the experimental procedures in sufficient detail to allow other scientists to repeat the experiment. Where techniques that have already been described in an indexed journal are used, this section may be concise and only provide relevant references. For studies requiring an approval of ethics committee, informations on the name of the ethics committee and the date and the number of the approval should be given in this section.

Results: The results section should provide data that are concisely explained, when required by including tables or figures.

Discussion: The results of the study should be discussed based on the literature and the importance of the findings should be stated. This section should be finished by concluding statements.

Acknowledgements: Any additional information concerning funding and personal contributions to the study or manuscript should be noted.

Reviews: Review articles aim to provide accessible, authoritative overviews in a field or topic. Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine considers only invited reviews for publication. Reviews must contain following sections; abstract, introduction which can include sub sections, conclusions and references.

Case reports: Author(s) must prefer rare and original cases include scientific point of view. Case reports should not exceed 5 pages (excluding title page), and should not use more than 15 references. Case reports should include "Abstract, Introduction, Case, Results and Discussion as well as References" sections.

Short Communication: Short Communications should concisely presents results of a limited investigation they should be prepared in the form of original articles and not exceed 5 journal pages including figures, tables and references. They should include at most 2 figures and tables.

References

All references in the text must be given by author's surname and year of publication enclosed in round brackets [Example: Adams (1998) reported that...; Wilkie and Whittaker (1997) reported that.., Doyle et al. (2007) reported that... or It has been reported that... (Adams (1998)'; It has been reported that..." (Wilkie and Whittaker (1997); It has been reported that... (Doyle et al., 2007)]. Citations should be arranged in alphabetical order and then chronologically. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998; Adams, 2008; Doyle et al., 2007; Wilkie and Whittaker, 2006)]. Publications by the same author(s) in the same year should be identified with a, b, c after the year of publication. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998a; Adams, 1998b)

Web address should be referenced as anonym. For example Anonym 2010. Only official web pages should be used

The list of references should be prepared as follows:

Article; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Book; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Section in a Book: Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York USA.

Web page: Anonym 2010. <http://www.emea.europa.eu/> Accession date; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biotechnology and Genetical Engineering. <http://www.emea.europa.eu/> Erişim tarihi; 01.04.2011.

Thesis: Er A, 2009: Effect of macrolide antibiotics on cytokine levels in endotoxemia. PhD thesis, SU Institute of Health Sciences, Konya.

Proceedings abstracts: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp.27-28.

Tables and Figures: Tables and Figures should be printed on separate pages. Each table and figure should have a brief and self explanatory title and should be consecutively numbered with Arabic numbers. The text should include references to all tables and figures. The title of each table should be written above the table. Abbreviations and explanations used in the table should be placed at the bottom of the table.

Photographs should be of high quality. If manuscript is submitted by electronic mail, images must be scanned in a resolution of at least 600 dpi and submitted in JPEG or TIFF format. Offprints of the journal will be in black and white.

*: Submission to Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine proceeds on-line through the e-mail address harranvet@gmail.com.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVİR FORMU

Harran Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğüne

Biz aşağıda adı, soyadı ve imzaları bulunan yazarlar, tarafımızdan yazılmış,

.....
.....

İsimli makalenin içeriği, sonuçları ve yorumları konusunda, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nin hiç bir sorumluluk taşımadığını kabul ederiz. Sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu, herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere gönderilmediğini, daha önce yayınlanmadığını beyan ederiz. Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz. Makalenin telif hakkı Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne devredilerek yayınlanması konusunda yetkili kılınmıştır.

Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır:

1. Telif Hakkı dışında kalan patent v.b. bütün tescil edilmiş haklar.
2. Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında; makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı.
3. Makaleyi ticari amaçlarla kullanmamak koşulu ile çoğaltma hakkı.

Yazarın Adı ve Soyadı

Tarih

İmza

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Sorumlu yazarın adı/yazışma adresi:

.....
.....

Telefon: Fax: E-mail:@.....

(Formu doldurup tarayıcıda taradıktan sonra, harranvet@gmail.com adresine gönderiniz.)

