

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

*Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*



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

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 Sayı/Issue 2

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 2. Sayı Hakem Listesi (alfabetik sıra)
The Referees List of This Issue (in alphabetical order)

Prof. Dr. Bestami YILMAZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Dinçer YILDIZ	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Enver BEYTUT	Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hayati YÜKSEL	Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hüseyin YILDIZ	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mehmet ÇABALAR	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Murat KABAK	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Necati TİMURKAAN	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Nurettin AYDİLEK	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Sait ŞENDAĞ	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Seval Bilge DAĞALP	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Seyfettin GÜR	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Şule Yurdagül ÖZSOY	Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tekin ŞAHİN	Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yakup YILDIRIM	Mehmet Akif Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yasin TÜLÜCE	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi
Prof. Dr. Yaşar ERGÜN	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Zabit YENER	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Barış Ata BORSA	Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Doç. Dr. Burcu ONUK	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hakan SALCI	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hasan Hüseyin ARI	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hasan İÇEN	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Hikmet ÜN	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Ömer KORKMAZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Ömer VARIŞLI	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Recai KULAKSIZ	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Sibel GÜR	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Suat SARIBAŞ	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Doç. Dr. Zafer ÖZYILDIZ	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Ufuk KÖMÜROĞLU	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Van Sağlık Hizmetleri MYO
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet UYAR	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Cafer Tayer İŞLER	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Güzin ÇAMKERTEN	Aksaray Üniversitesi Teknik Bilimler MYO
Dr. Öğr. Üyesi Hikmet DİNÇ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim YURDAKUL	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Kasım TAKIM	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Osman KARABULUT	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Turan YAMAN	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Ünal YAVUZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Aykut ULUCAN	Bingöl Üniversitesi Sağlık Hizmetleri MYO
Dr. Öğr. Üyesi Birten EMRE	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Leyla MİS	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet GÜVENÇ	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Arş. Gör. Fırat DOĞAN	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

Sayfa /Page

1. Kangal Köpeklerinde Trachea'nın Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Değerlendirilmesi.
Three Dimensional Evaluation of Trachea with Computed Tomography in The Kangal Dogs
**Ömer ATALAR, Mustafa KOÇ, Zait Ender ÖZKAN, Saime Betül BAYGELDİ,
Yeşim ASLAN KANMAZ** **133-137**
2. Effects of Oleuropein on Hyperglycemia, Total Oxidant and Antioxidant Capacity in Streptozotocin-Diabetic Rats Treated with Metformin and Insulin.
Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulmuş ve Metformin-İnsülin ile Diyabet Tedavisi Gören Ratlarda, Oleuropeinin Hiperglisemi, Total Oksidan ve Total Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkileri.
Nadide Nabil KAMILOĞLU, Hülya DAĞDELEN HASTÜRK **138-143**
3. Şanlıurfa Yöresinde Maedi-Visna Virus (MVV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması.
Serologically Investigation of Maedi-Visna Virus Infection (MVV) in Şanlıurfa Precincts.
Hikmet ÜN, İrfan ÖZGÜNLÜK, Mehmet ÇABALAR **144-148**
4. Fiziksel ve Kimyasal Koşulların Çeşitli Yöntemlerle Elde Edilmiş Viral DNA'ya Etkileri.
The Effects of Physical and Chemical Conditions on Viral DNA Obtained by Various Methods.
Zeynep AKKUTAY-YOLDAR **149-153**
5. Yüksek Yağlı Diyet ile Beslenen Ratlarda Mate (Ilex paraguariensis) Çayının Obeziteyi Önleyici Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması.
Histopathological and Biochemical Investigation of the Effects of Mate (Ilex paraguariensis) Tea on Antiobesity Effect in Rats Fed with High Fat Diet.
Ahmet UYAR, Erhan ESİM **154-161**
6. Koyun ve Keçilerde Doğumun İndüksiyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi.
Evaluation of Induction of Parturition Results in Sheep and Goats.
E. Sinem ÖZDEMİR SALCI, Kamil SEYREK İNTAŞ **162-167**
7. Sütçü İneklerde Pnömovagina ile Açlık Çukurluğu Derinliği Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi: Ön Çalışma.
Determination of the Correlation between Pneumovagina and Depth of the Paralumbra Fossa in Dairy Cows: A Preliminary Study.
E. Sinem ÖZDEMİR SALCI, Kamil SEYREK İNTAŞ **168-172**
8. Intrarenal Segmentation of the Renal Arteries in the Red Fox (Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758) from Anatolia.
Anadolu'daki Kırmızı Tilki (Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758) Böbrek Arterlerinin İntrarenal Segmentasyonu.
Zekeriya Ozudogru, Ozdemir Derviş, Mehmet Can, Gürsoy Aksoy **173-178**
9. Akrep Antivenomunun İmmunassay Yöntem Üzerindeki İnterferans Etkisinin Deneysel Araştırılması .
Experimental Investigation of Interference Effect of Scorpion Antivenom on Immunoassay Method.
Ataman GÖNEL **179-185**

10. Serological Investigation of Equine Viral Arteritis Infection in Donkeys and Horses in the Eastern Anatolia Region.
Doğu Anadolu Bölgesinde At ve Eşeklerde Equine Viral Arteritis Efeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması.
Sibel GÜR, Metin Gürçay, Bünyamin İrehan, Turhan Turan 186-191
11. Deneysel Diyabetik Ratlarda Ardiç (*Juniperus communis* L.) Yağının Nefropati Üzerine Etkileri.
Effects of *Juniperus communis* L. Oil on Nephropathy in Experimental Diabetic Rats.
Turan YAMAN, Ahmet Ufuk KÖMÜROĞLU 192-199
12. Şanlıurfa Doğal Barınak Besiciliğinde Zeolit Mineralinin Hayvan Refahı Üzerine Etkisi.
Effect of Zeolite Mineral on Animal Welfare in Natural Shelters, Şanlıurfa Region.
Gürbüz AKSOY, Mehmet AVCI, Halil Selçuk BİRİCİK, Oktay KAPLAN, Muğdat YERTÜRK 200-206
13. Ağrı İlinde Sığırlarda Ayak Hastalıkları Prevalansının Belirlenmesi.
Determination of Prevalence of Foot Diseases in the Cattle in Ağrı Province.
Selvinaz YAKAN 207-212
14. Buzağılarda Doğum Sırasında ve Sonrasında Şekillenen Kırık Olgularının ve Sağaltım Yöntemlerinin Değerlendirilmesi.
Treatment Methods and Evaluation of Fracture Cases Shaped During and After Birth in Calves.
İbrahim YURDAKUL 213-218
15. Broiler Piliçlerde A Vitamin Yokluğunda Patolojik Bulgular.
Pathological Findings in Broiler Chicks with Vitamin A Deficiency.
Aydın ÇEVİK 219-221
16. Pathomorphologic Characteristics of Non-Neoplastic Lesions in Bovine Urinary Bladders.
Sığır İdrar Keselerindeki Non-neoplastik Lezyonların Patomorfolojik Özellikleri.
Hikmet KELES, Mehmet Fatih BOZKURT, Zafer OZYILDIZ, Mehmet Eray ALCIGIR 222-228
17. Probiyotik Etkili *Bifidobacterium longum* ATCC 15707'nin, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'e İn-vitro Etkisinin Real-Time PCR Yöntemi ile İncelenmesi.
Investigation of In vitro Effects of Probiotic *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 by Real-Time PCR.
Akın Yiğın, Mehmet Demirci 229-232
- Olgu Sunumu/Case Report**
18. *Mannheimia haemolytica* İzole Edilen Pyometralı Bir Kedi Uterusunun Anormal Genişlemesi.
An Unusual Enlargement Of Pyometric Uterus Of A Cat From Which *Mannheimia haemolytica* Was Isolated.
Zeynep GÜNAY UÇMAK, Belgi DİREN SİĞİRCİ, Melih UÇMAK, Ali Can ÇETİN, Kemal METİNER, Barış HALAÇ 233-236

Kangal Köpeklerinde Trachea'nın Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Değerlendirilmesi

Ömer ATALAR^{1*}, Mustafa KOÇ², Zait Ender ÖZKAN¹, Saime Betül BAYGELDİ¹,
Yeşim ASLAN KANMAZ¹

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

Geliş Tarihi: 16.04.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Özet: Bu araştırma; Kangal köpeklerinde ilk kez bilgisayarlı tomografik görüntüler kullanılarak trachea'nın ayrıntılı anatomisini elde etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 5 erkek ve 5 dişi olmak üzere toplam 10 erişkin Kangal köpeği kullanılmıştır. Multidetektör bilgisayarlı tomografi (MDBT) cihazından elde edilen görüntüler, üç boyutlu (3D) modelleme yazılımı (VITAL, Vitrea 2, HP XW 6400) ile trachea'nın üç boyutlu yeniden yapılandırılmasında kullanılmıştır. Trachea'nın ölçümleri; hem pars cervicalis hem de pars thoracalis bölgelerinde; cranial ve caudal noktalar belirlenerek yapılmıştır. Trachea'nın 4 noktasından alınan transversal ve vertical çap ölçümleri, bu çapların birbirlerine oranı (T/V) ile kesitsel lümen alanları (crosssectional area CSA), BT (Bilgisayarlı tomografi) tarayıcı yazılımı ile ölçülmüştür. Erkekler ve dişiler arasında önemli bir istatistiksel fark bulunmamıştır. Trachea'nın başlangıç ve bitiş kısımlarında çapların arttığı gözlenmiştir. Transversal çapların bütün ölçüm noktalarında vertical çaplardan daha yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Üç boyutlu modelleme ile trachea'nın dorsoventral basık ve tam olmayan elipsoid şeklinde olduğu ortaya konmuştur. Araştırmanın ilk kez yapılmış olması sebebiyle, anatomi alanındaki benzer çalışmalara kaynak teşkil edebileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kangal köpeği, Üç boyutlu görüntü, Trachea, Bilgisayarlı tomografi.

Three Dimensional Evaluation of Trachea with Computed Tomography in The Kangal Dogs

Abstract: This study was conducted to obtain a detailed anatomy of the trachea in Kangal dogs, for the first time using computerized tomographic images. In this study, 5 male and 5 female total 10 adult Kangal dogs were used. The images obtained from a multidetector computerized tomography device (MDBT) were used for 3D reconstruction of the trachea with the 3D modelling software (VITAL, Vitrea 2, HPXW 6400). The measurements of the trachea were made from the cranial and caudal points determined at the cervical and thoracal regions. Transversal and vertical diameters of the trachea taken from 4 different points, the ratio of these diameters (T/V) and cross sectional areas (CSA), were measured by CT (computer tomography) scanner software. A significant statistical difference was not found between males and females. An increase in the diameter of the trachea at the beginning and terminal parts was observed. It was found that the transversal diameters were greater than the vertical diameters at all measuring points. In the 3D modelling, trachea has been found to be dorsoventrally flat with an incomplete elipsoid form. It is thought that this work, which was first made in Kangal dogs, may be a source for similar work in the anatomy.

Keywords: Computer tomography, Kangal dogs, Three dimensional image, Trachea.

Giriş

Türkiye'nin özel bir ırkı olan Kangal köpekleri, çoban köpeği olarak oldukça değerli bir ırktır. Üzerinde pek fazla anatomik çalışma yapma imkânı bulunamayan bu köpeklerin, ortalama boyları dişilerde 72-77 cm, erkeklerde 77-86 cm, kiloları ise dişilerde 41-54, erkeklerde 50-66 kg civarındadır. Bu özel ırkın anatomisinin detaylandırılmasında en hızlı, güvenli ve doğru metod bilgisayarlı tomografi ve 3 boyutlu modelleme olarak ifade edilmektedir (Atalar ve ark., 2017; Yılmaz, 2017).

Solunum sisteminin çok önemli bir unsuru olan trachea, hayvan türlerine göre anatomik yapısı itibari ile farklılıklar göstermektedir (Dursun, 1996). Köpeklerde de farklı ırk gruplarında, trachea'da yapı değişiklikleri bildirilmektedir (Evans, 1993).

Brachycephalic (kısa başlı) türlerin nispeten dar trachea'ya sahip olduğu radiografik olarak kanıtlanmıştır, fakat Dachshund ve Basset Hound'lar daha geniş bir trachea'ya sahiptir (Dyce ve ark., 2018). Tür ve ırklar arasındaki bu anatomik varyansların; daha ziyade cartilago trachealis'lerin sayısı, şekilleri ve trachea lümen kesit alanlarında gözlemlendiği ifade edilmektedir (Dursun, 1996; Getty, 1975; Nickel, 1979). Teknolojik gelişmeler bilgisayarlı tomografi ve 3D modellerinin geliştirilmesinde de fırsatlar oluşturmaktadır. Trachea'nın üç boyutlu bilgisayarlı tomografi (3DBT) görüntüleri; bu organın patolojik koşullarının tespiti ve anatomik yapısının daha doğru tanımlanması için önemlidir. Son zamanlarda birçok alanda olduğu gibi

veteriner hekimlikte bilgisayarlı tomografi görüntüleri sıkça kullanılmaktadır. Köpeklerde trachea'nın bilgisayarlı tomografisi üzerinde yapılan çalışmalarda, anlaşıldığı üzere her ırkın trachea'sında hem anatomik yapının hemde ölçümlerin farklı olduğu görülmüştür (Dallman ve Brown, 1984; Kara ve ark., 2001). Köpeklerin trachea'larında yapılan araştırmalarda; kongenital stenoz (Burk ve Ackerman, 1996), tümör (Brovida ve Castagnaro, 1992; Carlisle ve ark., 1991), yabancı cisim (Röcken ve Röcken, 1994) ve collaps vakaları gibi spesifik durumlar (Dallman ve Brown, 1984) sıkça bildirilmektedir. Literatürlerde Kangal köpeklerinin trachea'sında bilgisayarlı tomografi ve üç boyutlu modelleme ile biyometrik ölçümleri üzerine yapılmış herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmanın kangal köpeklerine ait trachea verilerini ortaya koyması ve anatomi literatürüne katkı sağlaması bakımından önemli olduğu düşünülmektedir.

Materyal ve Metot

Araştırma; Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine tedavi amaçlı getirilen, erişkin Kangal köpeklerinden alınan BT görüntülerinin, retrospektif incelenmesi neticesinde yapılmıştır. Çalışmada Bingöl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'unun 85680299/20 sayılı onayı alınmıştır. Araştırma için 5 dişi ve 5 erkek olmak üzere toplam 10 erişkin Kangal köpeği kullanılmıştır. Materyaller, xylazine (1.1 mg/kg, i.m., Rompun) ve ketaminin (22 mg/kg, i.m., Ketalar) kombinasyonu ile genel anesteziye alınmıştır.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim dalında Toshiba Aquilion 64 kesit BT cihazına yüzüstü konumda yatırılan köpeklerin, multi dedektör bilgisayarlı tomografi (MDCT) görüntüleri elde edilmiştir. Bu görüntüler, kVp 120, mAs 150-200 ve 0.5 mm paralel kesit kalınlığı, 0.5 mm rekonstrüksiyon aralığı, çap görüş alanı (FOV: Field of view) (30 cm) ve aralık değeri 1-1.5 arasında kaydedilmiştir. Dozaj parametreleri ve tarama, standart protokoller çerçevesinde gerçekleştirilmiştir.

Trachea'nın ölçümleri pars cervicalis'inde; cranial nokta 1.cervical omur (C1) izdüşümünden, caudal nokta 6.cervical omur (C6) düzeyinden, pars thoracalis'inde; cranial nokta 1. thoracal omur (T1)

düzeyinden, caudal nokta ise 4. thoracal omur (T4) seviyesinden yapılmıştır. Ölçüm alınan noktalardan enine (T) ve dikey (V) çaplar alınmıştır. Bu noktaların lümen kesit alanları (CSA) hesaplanırken; enine (T) ve dikey (V) çapların yarıçapları ve "pi" değeri çarpılarak bulunmuştur. $CSA = a \cdot b \cdot \pi$ formülü; a= transversal yarı çap, b= vertical yarı çap, $\pi = 3,14$ şeklinde uygulanmıştır (Kara ve ark., 2001). Aynı zamanda transversal ve vertical çap oranları da ölçülmüştür (T/V). Çekimler ile köpeklerin trachea'sından yüksek çözünürlüklü MDCT görüntüleri elde edilmiştir. Bu aksel görüntüler DICOM formatında stokladikten sonra, veriler çalışma merkezine (VITAL, Vitrea 2, HP XW6400) aktarılmıştır. Görüntüler araştırma alanı içinde değerlendirilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir. Öncelikle iki boyutlu (2D) görüntülerden ilgili kısımlar seçilmiştir. Sonrasında ise üç boyutlu (3D) modelleme oluşturulmuştur. Trachea'nın üç boyutlu (3D) modellemesi yapıldıktan sonra, veriler ortalama \pm standart sapma değerleri olarak sunulmuştur. Öncelikle ham değerlerin normal dağılım gösterip göstermediklerini tespit etmek için, Shapiro-Wilk normallik analizi yapılmıştır. Bu analize göre ham değerlerin normal dağılım gösterdiği saptanmıştır. Tüm veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmıştır. İkili karşılaştırmalar içinde post-hoc Tukey testi kullanılmıştır. $P < 0.05$ değeri istatistiki olarak anlamlı kabul edilmiştir. Analizler SPSS (Versiyon 21.0) programında yapılmıştır. Terminoloji olarak Nomina Anatomica Veterinaria esas alınmıştır (Nomina Anatomica Veterinaria, 2012).

Bulgular

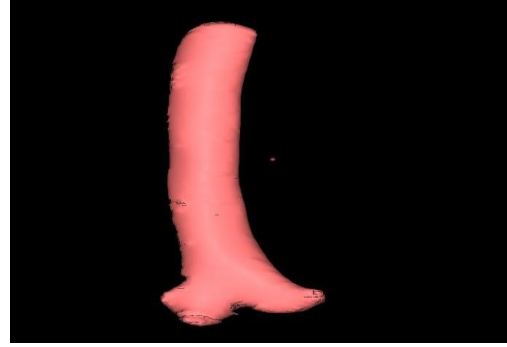
Kangal köpeklerinin trachea ölçümleri ortalama değerleri Tablo 1'de; üç boyutlu modellemesi Şekil 1'de, iki boyutlu görüntüleri ise Şekil 2 ve 3'de sunulmuştur. Yapılan trachea ölçümlerinde erkek ve dişi hayvanlar arasında önemli bir istatistiksel fark bulunmadığı gözlenmiştir. Tablo 1'de; 4 farklı bölgeden yapılan ölçüm değerleri ortalamalarında, trachea'nın transversal ve vertical çapları, bu çapların birbirine oranları ve lümen alanları belirtilmiştir. Ölçüm noktaları arasında T/V oranında belirgin farklılıkları tespit edilmiştir. Ayrıca transversal ve vertical çap oranları, trachea'nın son kısımlarında artış göstermektedir.

Tablo 1. Kangal köpeklerinde trachea ölçümlerine ait ortalama \pm standart sapma değerleri.

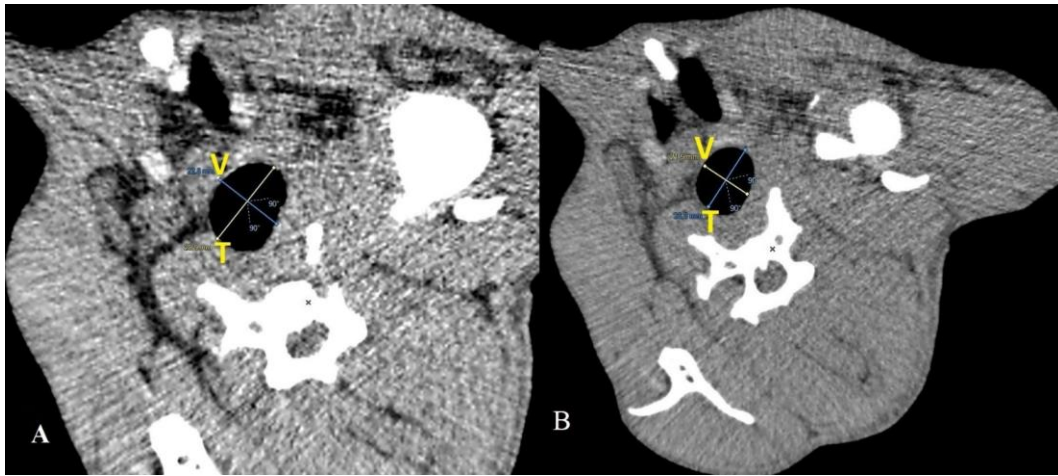
	Cranial cervical	Caudal cervical	Cranial thoracal	Caudal thoracal	Önemlilik
Vertical çap (mm)	22.19 \pm 1.79 ^a	20.96 \pm 1.45 ^a	26.04 \pm 1.38 ^b	25.56 \pm 1.52 ^b	P<0.001
Transversal çap (mm)	28.20 \pm 1.87 ^a	27.82 \pm 1.95 ^a	28.83 \pm 2.18 ^a	35.30 \pm 2.15 ^b	P<0.001
Lümen kesit alanı (CSA, mm ²)	483.75 \pm 70.93 ^a	460.10 \pm 63.62 ^a	583.71 \pm 66.82 ^b	701.04 \pm 75.71 ^c	P<0.001
T/V oranı	1.27 \pm 0.02 ^a	1.33 \pm 0.02 ^b	1.11 \pm 0.03 ^c	1.38 \pm 0.03 ^d	P<0.001

Aynı satırda farklı harf taşıyan (a, b, c, d) ortalama değerler arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemlidir.

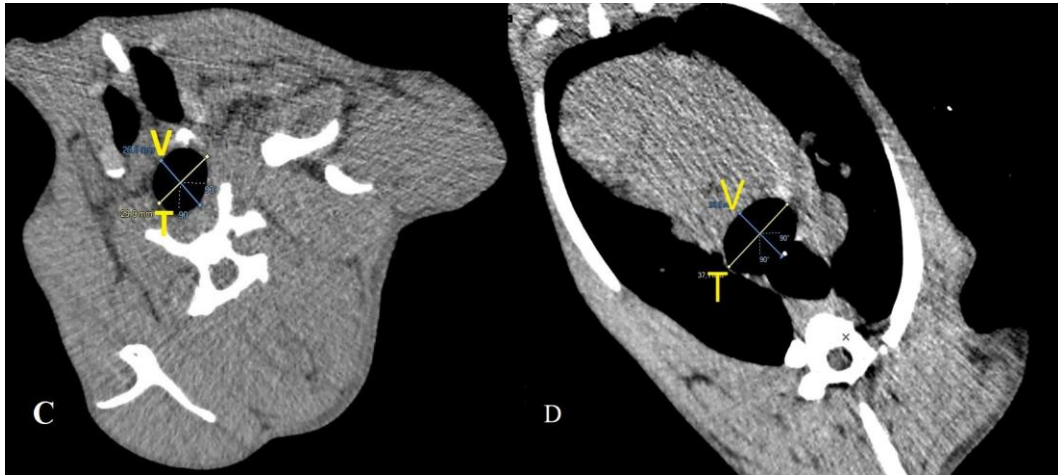
Transversal çapın bütün ölçüm bölgelerinde aynı noktanın vertical çapından daha uzun olarak tespit edilmiştir. Hem vertical hem transversal çapın en uzun olduğu nokta, trachea'nın pars thoracalis'inde; en kısa olduğu nokta ise pars cervicalis'inin caudal bölümünde ölçülmüştür. Trachea'nın lümen genişliği, CSA hesabına bakıldığında; en geniş olarak pars thoracalis'inin caudal ucunda, en dar olarak ise pars cervicalis'in caudal ucunda gözlemlenmiştir. T/V oranı, bütün bölgelerde 1.00'in üzerinde ve birbirine yakın değerlerde seyretmektedir.



Şekil 1. Kangal köpeği trachea'sının üç boyutlu (3D) modellemesi.



Şekil 2. Trachea'nın pars cervicalis'inin 2D transversal kesitleri ; A: Cranial nokta; B: Caudal nokta; T: Transversal çap; V: Vertical çap.



Şekil 3. Trachea'nın pars thoracalis'inin 2D transversal kesitleri ; C: Cranial nokta; D: Caudal nokta; T: Transversal çap; V: Vertical çap.

Cervical bölgede; vertical ve transversal çaplar ile CSA değerlerinde, cranial ve caudal noktalar arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmamıştır. Ancak aynı noktalarda T/V oranında önemli bir farklılık ($P < 0,001$) tespit edilmiştir. Thoracal bölgede transversal çap, CSA ve T/V oranının caudal nokta

değerlerinin, cranial nokta değerlerinden istatistiki olarak önemli derecede yüksek ($P < 0,001$) olduğu gözlemlenmiştir. Vertical çap değerleri açısından ise cranial ile caudal noktalar arasında önemli bir fark saptanmamıştır. Ölçüm yapılan bütün noktalardan alınan veriler ve üç boyutlu (3D) modelleme ile

trachea'nın genel şeklinin hafif dorsoventral basık, tam olmayan elipsoid bir şekilde görüldüğü ortaya konmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Bazı araştırmacılar (Coyne ve Fingland, 1992; Fingland ve ark., 1995; Nelson, 1993; Salisbury ve ark., 1990; Smith ve ark., 1990; Watt, 1992; White ve Williams 1994) köpeklerde tracheal daralmayı değerlendirmek için radyografiyi kullanırken; Johanson ve ark. (1993) ile Van Pelt (1988) endoskopiden yararlanmışlardır. Rudorf ve ark. (1997) ise bu amaç için ultrasonografiyi tercih etmiştir. Endoskopik yöntemde, tracheal değerlendirmeler için her ne kadar hassas teknik olarak görülsede, ölçümlerin hassas olmaması ve teknik olarak zor olması bir handicap olarak rapor edilmiştir (Johnson ve ark., 1993). Bazı yazarlar (Hedlund, 1984; Shih ve ark., 1997) ultrasonografide yüksek bir tecrübenin gerekliliğine işaret etmişlerdir. Fike ve ark. (1980) ile Walter (1999) bilgisayarlı tomografi görüntülemelerinin konvensiyonel tarama grafisindeki görüntülerden daha net olduğunu ortaya koymaktadır. Gerek hassas ölçümler gerekse elde edilen görüntülerin yüksek kalitesi, bu yönde bulgular sunan literatürleri desteklemektedir.

Tracheal hava sütununun ölçümlerinin değerlendirilmesinde; hata payının az olması ve çarpık sonuçlarının düzeltilmesi yönüyle, en güvenilir metot olarak bilgisayarlı tomografi karşımıza çıkmaktadır (Griscom ve Wohl, 1986). Bu sebeptendir ki beşeri hekimlikte trachea'nın BT ölçümleri, rutin bir tanı aracı olarak kullanılmaktadır (Chen ve ark., 2001; Mori ve ark., 2001; Roditi ve Weir, 1994; Shamberger ve ark., 1991). Huber ve ark. (1997) veteriner hekimlikte tracheal ölçümlerde BT kullanımının güvenilirliğinin test edilmediğini belirtmektedir. Kangal köpeklerinde yapmış olduğumuz ölçümlerin oldukça hassas olarak kaydedilebilmesi, bu yönü ile metodun sonuçlarının güvenilir olduğunu, ancak; köpeklerin solunumunun kontrolümüzün dışında kalması sebebi ile hata paylarının da olabileceğini göstermektedir. Alman çoban köpeklerinde yapılan bir çalışmada; trachea'nın cervical bölgesinde; vertical, transversal çaplar ve enine kesit alanı (CSA)'nın caudal nokta değerlerinin, cranial nokta değerlerine göre önemli ölçüde düşük bulunduğu bildirilmektedir (Kara ve ark., 2001). Araştırmamız, Kangal köpeklerinde bu değerlerin rakamsal olarak düşük olması ile beraber istatistiki olarak da önemli olduğunu göstermektedir.

Kara ve ark. (2001) T/V oranlarında ve thoracal bölge ölçümlerinde, istatistiksel farklılık olmadığını ifade etmişlerdir. Çalışma sonuçlarımızda ise cervical bölgede cranial nokta değeri, caudal nokta

değerinden önemli derecede istatistiki yükseklik ortaya koymaktadır. Yine araştırmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre, trachea'nın thoracal bölümünde, vertical çap hariç diğer tüm ölçümlerin caudal nokta değerleri anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen üç boyutlu görüntüler ve trachea'nın yeniden modellenmesi neticesinde, organın tam olmayan elipsoid bir yapıda olduğu ortaya konulmuştur. Bu durum, diğer birçok köpek ırkı ile benzerlik göstermektedir (Dyce ve ark., 2018).

Sonuç olarak, üç boyutlu bilgisayar tomografisi ile Kangal köpeklerinde yapılan bu çalışmada trachea'nın yapısı ve morfometrik değerleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerin anatomi literatürüne ve veteriner hekimlik eğitimine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Anonim,2017:https://www.researchgate.net/publication/263468806_Turkish_Kangal_Karabash_Shepherd_Dog_in_English/, Erişim tarihi; 23.03.2017.
- Atalar Ö, Koç M, Yüksel M, Arkaş AA, 2017: Kangal köpeklerinde pelvis boşluğunun bilgisayarlı tomografi ile üç boyutlu değerlendirilmesi. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 31, 105-109.
- Brovada C, Castagnaro M, 1992: Tracheal obstruction due to an eosinophilic granuloma in a dog, surgical treatment and clinicopathological observations. *J Am Anim Hosp Assoc*, 28, 8-12.
- Burk RL, Ackerman N, 1996: Small Animal Radiology and Ultrasonograph. A Diagnostic Atlas and Text. Philadelphia, Saunders.
- Carlisle CH, Bilry DN, Thrall DE, 1991: Tracheal and laryngeal tumors in the dog and cat, literature review and 13 additional patients. *Vet Radiology*, 32, 229-235.
- Chen JD, Shanmuganathan K, Mirvis SE, Kileen KL, Dutton RP, 2001: Using CT to diagnose tracheal rupture. *Am J Roentgenol*, 176, 1273-1280.
- Coyne BE, Fingland RB, 1992: Hypoplasia of the trachea in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 201, 768-772.
- Dallman MJ, Brown EM, 1984: Statistical analysis of selected tracheal measurements in normal dogs and dogs with collapsed trachea. *Am J Vet Res*, 45, 1033-1037.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG, 2018: Köpek ve Kedide Thorax. In: Haziroğlu RM, Çakır A. (Editors). Veteriner Anatomi Konu Anlatımı ve Atlas 4. Baskı, Güneş Kitabevleri: Ankara.
- Dursun N, 1996: Veteriner Anatomi II. 3. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Evans HE, 1993: Skeleton. In "Mille's Anatomy of the Dog", Ed; Evans HE, Philadelphia, USA.
- Fike JR, Druy EM, Zook BC, Davis DO, Thompson JE, Chaney E, Bradley EW, 1980: Canine anatomy as assessed by computerized tomography. *Am J Vet Res*, 41, 1823-1832.
- Fingland RB, Layton CI, Kennedy GA, Galland JC, 1995: A comparison of simple continuous versus simple

- interrupted sutura patterns for tracheal anastomosis after large-segment trachea1 resection in dogs. *Vet Surg*, 24, 320-330.
- Getty R, 1975: The Anatomy of the Domestic Animals. 5nd Ed., Rosenbaum CE, Hillmann D, Philadelphia, USA.
- Griscom NT, Wohl ME, 1986: Dimensions of the growing trachea related to age and gender. *Am J Roentgeiol*, 146, 233-237.
- Hedlund CS, 1984: Tracheal anastomosis in the dog comparison of two end-to-end techniques. *Vet Surg*, 13, 135-142.
- Huber ML, Henderson RA, Finn-Bodner S, Macintire DK, Wright JC, Hankes GH, 1997: Assesment of current techniques for determining tracheal luminal stenosis in dogs. *Am J Vet Res*, 58, 1051-1054.
- Johnson LR, Krahvinkel DJ, Kiernan BC, 1993: Surgical management of atypical lateral tracheal collapse in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 203, 1693-1696.
- Kara ME, Karaman ZC, Dabanoglu I, Ocal MK, 2001: Computed tomographic measurements of the trachea in dog. *Dtsch Tierarztl Wschr*, 108, 164-167.
- Mori M, Ikemune MD, Hiasa H, 2001: Stenosis of the trachea caused by retrosternal ossification. *Ann Thorac Surg*, 71, 1035-1037.
- Nelson WA, 1993: Lower Respiratory System. In: Slatter D (Editor) Textbook of Small Animal Surgery. Philadelphia: Saunders.
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, 1979: The Anatomy of the Domestic Animals Volume 2, The Viscera of the Domestic Mammals. 2nd Revised edition by August Schummer, Richard, Wolfgang Otto Sack, Heidelberg, Berlin.
- Nomina Anatomica Veterinaria, 2012: Prepared by the International Committes on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature and Authorized by the General Assambly of the World Association of Veterinary Anatomists, The Editorial Committee Hannover, Sapporo, Japan.
- Roditi GH, Weir J, 1994: The association of tracheomegaly and bronchiectasis. *Clin Radiol*, 49, 608-611.
- Röcken H, Röcken M, 1994: Foreign body in the bifurcation trachea in a dog. *Berl Münch Tierarztl Wschr*, 107, 121-123.
- Rudorf H, Herrtage ME, White RAS, 1997: Use of ultrasonography in the diagnosis of tracheal collapse. *J Small Anim Prac*, 38, 513-518.
- Salisbury SK, Forbes S, Blevins WE, 1990: Peritracheal abscess associated with tracheal collapse and bilateral laryngeal paralysis in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 196, 1273-1275.
- Shamberger RC, Holzman RS, Griscom T, Tarbell NJ, Weinstein HJ, 1991: CT quantitation of tracheal cross-sectional area as a guide to the surgical and anesthetic management of children with anterior mediastinal masses. *J Pediatr Surg*, 26, 138-142.
- Shih JY, Lee LN, Wu HD, Yu CJ, Wang HC, Chang YL, Yang PC, 1997: Sonographic imaging of the trachea. *J Ultrasound Med*, 16, 773-790.
- Smith MM, Gourley IM, Amis TC, Kurpershoek C, 1990: Management of tracheal stenosis in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 196, 931-934.
- Van Pelt RW, 1988: Confirming tracheal hypoplasia in huskymix pups. *Vet Med*, 83, 266-273.
- Walter PA, 1990: Alternative Imaging Technologies Computed Tomography. In: Lavin LM (Editor). Radiography in Veterinary Technology. Philadelphia: Saunders.
- Watt PR, 1992: Congenital tracheal collapse in a young fox terrier. *Aust Vet Pract*, 22, 112-116.
- White RAS, Williams JM, 1994: Tracheal collapse in the dog is there really a role for surgery? *J Small Anim Prac*, 35, 191-196.
- Yılmaz O, 2017: Turkish Kangal (Karabash) shepherd dog (in English). <https://www.researchgate.net/publication/263468806>, Erişim tarihi; 23.03.2017.

***Yazışma Adresi:** Ömer ATALAR

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ- Turkey.

E-mail: atalar@firat.edu.tr

Effects of Oleuropein on Hyperglycemia, Total Oxidant and Antioxidant Capacity in Streptozotocin-Diabetic Rats Treated with Metformin and Insulin

Nadide Nabil KAMILOĞLU^{*1}, Hülya DAĞDELEN HASTÜRK²

¹Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 36300, Kars, Turkey.

²Department of Physiology, Health Sciences Institute, Kafkas University, 36300, Kars, Turkey.

Geliş Tarihi: 28.03.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the effects of oleuropein on hyperglycemia and oxidant-antioxidant levels in metformin-insulin treated streptozotocin-diabetic rats. For this purpose, 40 Sprague-Dawley rats were used. Animals were divided into 5 groups as 4 experimental and 1 Control each containing 8 rats. 1 ml isotonic NaCl solution was injected intraperitoneally (ip) to the Control group while 50 mg/kg STZ ip was given to the G1, 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg Metformin + 4 IU/kg insulin ip was given to the G2, 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg Metformin + 4 IU/kg insulin ip and 30 mg/kg orally oleuropein was given to the G3 and 50 mg/kg STZ ip and 30 mg/kg oleuropein orally was given to the G4. Blood glucose values were statistically higher in the experimental groups than the control after streptozotocin administration (P<0.001, P<0.01, P<0.01 respectively). Plasma Total Antioxidant Capacity (TAC) of G2 and G3 were statistically higher than G1 (P<0.001). It was found that plasma TAC levels of G3 were statistically higher than the control (P<0.05). It was determined that the G1 (P<0.001), G2 (P<0.01) and G3 (P<0.05) group had significantly higher plasma Total Oxidant Capacity (TOC) than the control group. TAC levels in the liver of the experimental groups were determined to be statistically insignificant according to the control group. The liver TOC levels of the G2 and G4 group were significantly higher than the control group (P<0.01, P<0.001 respectively). In conclusion, the use of oleuropein alone did not affect the blood glucose level, the live weight, the plasma and the liver TAC and TOC levels, but the use of metformin and insulin with oleuropein as an antioxidant and free radical scavenger following to the rising oxidation in diabetes were supported and strengthen the system.

Keywords: Diabet, Insulin, Metformine, Oleuropein, TAC, TOC.

Streptozotocin ile Diyabet Oluşturulmuş ve Metformin-İnsülin ile Diyabet Tedavisi Gören Ratlarda, Oleuropeinin Hiperglisemi, Total Oksidan ve Total Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkileri

Özet: Bu çalışmada, streptozotocin ile diyabet oluşturulmuş ve metformin ve insülin ile diyabet tedavisi gören ratlarda, oleuropeinin hiperglisemi, oksidan-antioksidan düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu maksatla, 40 adet erkek Sprague Dawley rat kullanıldı. Ratlar her grupta 8 hayvan bulunacak şekilde 4 deney ve 1 kontrol grubu olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna %0.09 NaCl intraperitoneal (ip) uygulandı. G1'e 50 mg/kg STZ ip, G2'ye 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg metformin + 4 IU/kg insülin ip, G3'e 50 mg/kg STZ + 100 mg/kg metformin + 4 IU/kg insülin ip ve 30 mg/kg oleuropein oral olarak ve G4'e 50 mg/kg STZ ip olarak ve 30 mg/kg oleuropein oral olarak uygulandı. Streptozotocin uygulandıktan sonraki 3, 10 ve 21. günlerde deneme gruplarının kan glukoz değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla P<0.001, P<0.01, P<0.01). Plazma total antioksidan kapasiteleri gruplar arasında kıyaslandığında, G2 ve G3 grubunun Total Antioksidan Kapasite (TAC) düzeyleri, G1 grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek belirlenmiştir (P<0.001). Kontrol grubu ile deneme grupları arasında kıyaslama yapıldığında G3 grubunun TAC düzeylerinin, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir (P<0.05). G1 (P<0.001), G2 (P<0.01) ve G3 (P<0.05) grubunun plazma Total Oksidan Kapasitelerinin (TOC) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu belirlenmiştir. Deneme gruplarının karaciğer TAC düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edildi. Karaciğer total oksidan kapasiteleri gruplar arasında kıyaslandığında G2 grubu ile G4 grubunun TOC düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (sırasıyla P<0.01, P<0.001) belirlenmiştir. Sonuç olarak oleuropeinin tek başına kullanımının kan glukoz düzeyini, canlı ağırlığı ve plazma ile karaciğer TAC ve TOC kapasitelerini etkilemediği, ancak diyabette yükselen oksidasyona karşılık, metformin ve insülinle birlikte kullanımının antioksidan sisteme destek olduğu ve serbest radikal tutucu etkiyi kuvvetlendirdiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabet, Insulin, Metformine, Oleuropein, TAC, TOC.

Introduction

Type 2 diabetes mellitus (DM) is a heterogeneous group of diseases often includes varying levels of insulin resistance, disorders

characterized by increased glucose production and decreased insulin secretion. This metabolic disease constitute more than 90% of the diabetes cases.

Different genetic and metabolic disorders associated with insulin action or secretion leads to Type 2 DM of which common feature is hyperglycemia. While the main feature is hyperglycemia in DM, pathophysiological mechanisms causing hyperglycemia is different. Impaired insulin secretion or insulin resistance is a key feature of hyperglycemia in Type 2 DM (Emanuelli et al., 2004; Özata and Yöntem, 2006; Pirie et al., 1996). Also researchers indicated that excessive production of free radicals is the primary cause of chronic hyperglycemia. High levels of free radicals and deterioration of antioxidant defense mechanisms can lead to the development of insulin resistance, the increase of lipid peroxidation and damage of cellular organelles. At the same time, diabetic complications are considered to occur as a result of hyperglycemia, excessive free radical production and increased oxidative stress (Novelli et al., 2001; Novelli et al., 2004). Chronic hyperglycemia produces dysregulation of cellular metabolism, interrupts cell integrity, induce reactive oxygen radicals and promotes apoptosis. Therefore oxidative stress mediates the deleterious effects of diabetes on many tissue function.

Antioxidants neutralize harmful substances called free radicals and are extremely important substances for preventing the destruction of the cells. The suppression of oxidative stress by modulating anti-oxidant capacity may also alleviates high glucose-mediated oxidative stress. In fact, organisms, are able to defend themselves against oxidative stress due to the biological antioxidant enzymes. However, this wealth is not inexhaustible. Therefore, organisms should be supplemented with nutrients containing antioxidant properties. The importance of polyphenols as antioxidant utilized for this purpose have been reported by researchers. Polyphenols present in olive, olive oil and olive leaf extract has proven to prevent oxidation of the cells and to retard aging (Galli and Visioli, 1999; Tsimidou, 1998; Vlahov, 1992). Due to side effects of therapeutic agents such as oral hypoglycemic drugs, there is increasing interest in herbal medicine for treating diabetes recently. Many traditional medicinal plant extracts are used in the treatment of diabetes. In recent years, reducing the negative effects of oxidative stress and free radicals in diabetic patients by using non-vitamin antioxidants such as flavonoids and polyphenols is recommended by the researchers (Asgary et al., 2002; Lean et al., 1999).

Oleuropein which is a phenolic compound extracted from the olive leaf is still being investigated for its effects on the hyperglycemia and oxidant-antioxidant system in diabetes (Tripoli

et al., 2005). This compound is a hydroxylated and glycosylated elenolic acid tyrosol ester. Oleuropein and its metabolic hydroxytyrosols are known to have strong antioxidant abilities (Tsimidou, 1998). Olive leaves and their products are defined as healthy diet elements due to its phenolic compounds (Visioli and Galli, 1994; Visioli and Galli, 1995). Meanwhile, it is reported in studies (Galli and Visioli, 1999; Garrido-Fernandez et al., 1997; Vhalov, 1992) that oleuropein allows to decrease high blood sugar level and shows hypoglycemic effect. Also, (Tsimidou, 1998; Vhalov, 1992) the use of oleuropein derivatives is recommended for the protection, prevention and treatment of disease due to its immune system supporting effect and antioxidant action.

In this study, we aimed to investigate the effects of oleuropein on hyperglycemia and on oxidant-antioxidant balance in streptozotocin induced diabetic rats and diabetic rats treated with metformin and insulin.

Materials and Methods

Experimental Protocols and Treatment of Animals:

This study was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Kafkas University with ethics decision number of 2010-44. In this study 40 male, eight-months old-Sprague-Dawley rats of 250±50 g body weight of age were used. Rats were housed at room temperature with a lighting schedule of 12 h light-dark cycle and humidity of 55%. Animals had free access to a standard rodent pellet diet and tap water *ad libitum*. The rats were divided into 5 groups comprising 4 experimental and a Control groups each containing 8 animals. Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of 50 mg/kg bodyweight streptozotocin (STZ, S0130, Sigma Chemical Inc., St Louis, MO, USA). To the Control rats 1 ml isotonic saline was applied intraperitoneally. Glucose concentrations of Control and experimental groups were measured by a glucometer (On-Call Plus, Acon Lab., San Diego, USA) before and 72th h after STZ injection. To monitor blood glucose concentrations, blood samples were collected from the tail vein of the rats. Rats showing blood glucose concentrations over 180 to 200 mg/dL were considered diabetic. A total of 32 rats with diabetes were randomly divided into four groups. G1 was used as diabetic control, to the rats of G2 100 mg/kg metformine and 4 IU/kg insülin was administered intraperitoneally, to G3 100 mg/kg metformine, 4 IU/kg insülin was administered intraperitoneally and 30 mg/kg oleuropein orally, to G4 only 30

mg/kg oleuropein was administered orally. This applications continued for 21 consecutive days.

Collection of Samples: Blood samples were harvested from each group of rats by intracardiac needle. The plasma was separated by centrifugation at 3000 rpm for 10 min. Livers were removed, blotted, weighed, and homogenized. Plasma samples and supernatants of liver homogenates were used for analysis of total oxidant capacity (TOC) and total antioxidant capacity (TAC).

Measurement of TAC and TOC: TAC and TOC of serum and liver were determined using a Rel Assay Diagnostic Kit (Gaziantep, Turkey).

Statistical Analysis: Statistical analyzes were assessed by the one-way ANOVA test using the SPSS 16.0 program (SPSS for Windows, Chicago, IL, USA) followed post hoc analyses of groups were made according to the Tukey Test. Variables were expressed as mean±standard deviation (SD) and P<0.05 was considered statistically significant.

Results

Plasma glucose levels: Changes in plasma glucose levels are shown in Figure 1. Blood glucose values were significantly different between experimental groups and control (P<0.001) on 3 days after the streptozotocin administration. Glucose levels of group G1 and G2 on 10th day (P<0.01, P<0.001) and group G1, G2 and G4 on 21th day (P<0.001, P<0.05 and P<0.01, respectively) were significantly higher than the control group.

Plasma total antioxidant capacity: Plasma total antioxidant capacity of the groups are shown in Figure 2. When Total antioxidant capacity (TAC) in the experimental group compared with the G1, TAC levels of G2 and G3 were determined to be significantly higher (P<0.001). However, no statistically significant difference was detected between the G1 and G4. In comparison between the experimental group and the Control, TAC level of the G3 was determined to be statistically higher than the Control (P<0.05). TAC levels of G4 were determined to be lower than the control.

Liver total antioxidant capacity: Liver total antioxidant capacity (TAC) of the groups are shown in Figure 3. No statistically significant change was found in TAC levels of the experimental group as compared with the Control.

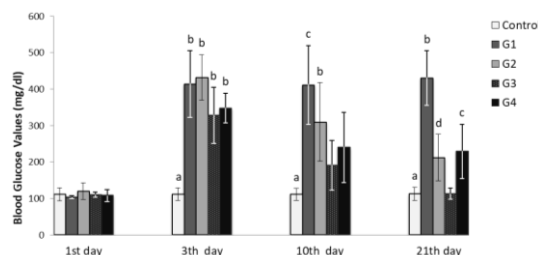


Figure 1. Changes in plasma glucose levels of groups (mg/dl). a-b: P<0.001, a-c: P<0.01, a-d: P<0.05.

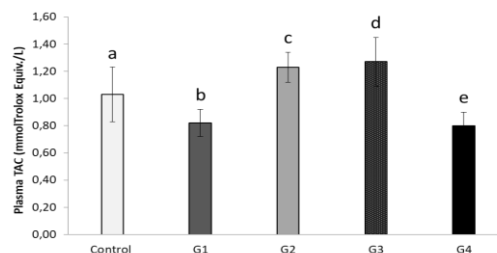


Figure 2. Plasma TAC of the groups (mmolTrolox Equiv./L). a-d, a-e: P<0.05, b-c, b-d, c-e, d-e: P<0.001.

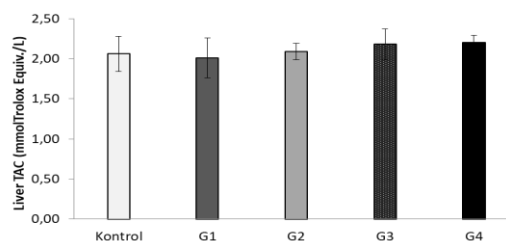


Figure 3. Liver TAC of the groups (mmolTrolox Equiv./L).

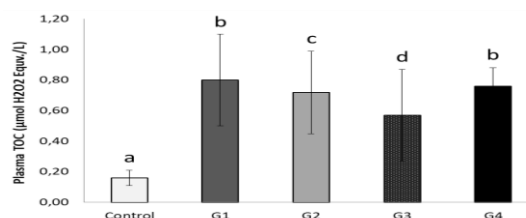


Figure 4. Changes in the plasma TOC (µmol H2O2 Equiv./L). a-b: P<0.001, a-c: P<0.01, a-d: P<0.05.

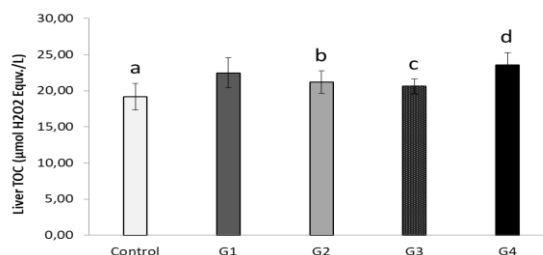


Figure 5. Changes in the liver TOC (µmol H2O2 Equiv./L). a-b: P<0.01, a-d: P<0.001, c-d: P<0.05.

Plasma total oxidant capacity: Changes in the plasma total oxidant capacity (TOC) of the groups are shown in Figure 4. TOC levels of G1-G4 (P<0.001), G2 (P<0.01) and G3 (P<0.05) were determined to be significantly higher as compared

to the Control. No statistically significant difference was detected between groups when the experimental groups compared with the G1.

Liver total oxidant capacity: Changes in the liver total oxidant capacity of the groups are shown in Figure 5. Liver total oxidant capacity (TOC) of G2 and G4 were statistically higher than the Control ($P<0.01$, $P<0.001$, respectively). There were no statistically significant change between Liver TOC levels of G1 and treatment groups.

Discussion

Complications like micro- and macrovascular diseases, chronic renal failure and diabetic nephropathy due to diabetes is still the most important causes of morbidity and mortality among DM patients in the world (Yenigün, 2001, Üstüner, 1999). In terms of glucose balance, insulin serves a key role and the lack of insulin leads to increased blood glucose levels and a variety of complications in diabetics. In order to avoid these complications insulin support should be provided to keep blood sugar level in normal glycemic values. In recent years, insulin therapy in combination with oral antidiabetic drugs is maintained in Type 2 diabetes. In all of the current diabetes treatment, metformin is a safe agent that increases insulin sensitivity and lowers fasting blood glucose levels down to 78 mg/dL (Schneider, 1991). Because of the reduction in total insulin dose by 36%, metformin is added to diabetes treatment in combination with insulin. On the other hand, it has been proven by many studies that monounsaturated fatty acids found in the olive leaf extract lower blood sugar in diabetes patients (Kumar et al., 2001). Also, olive oil was demonstrated to reduce blood glucose levels by 12% in diabetics (Visioli and Galli, 1995). It is reported that oleuropein facilitates the reduction of blood sugar and stimulate insulin secretion by the pancreas (Visioli and Galli, 1994). In our study, oleuropein alone did not affect blood glucose levels, but the effect of lowering blood glucose level was determined to be higher when used in combination with metformin and insulin. In addition this combination the live weight was kept unchanged.

High levels of glycoproteins, defective glucose auto-oxidation and damaged antioxidant balance have been found in diabetic patients. The variety of lipid-dependent gene expression and lipid peroxidation due to oxidative stress induced by free radicals are found to be responsible for the various diabetic complications. Reports showed that low-grade chronic inflammation and abnormal immune

response plays a key role in the development of Type 2 diabetes mellitus and in the pathogenesis of insulin resistance (Niwa et al., 2011). It has been reported that reactive molecules formed by chronic inflammation that cause β -cell destruction due to increased oxidative stress and insulin reduction in the pancreas and also potentiate diabetes along with DNA damage (Niwa et al., 2011). Researchers has determined that gene expression caused by oxidative stress induced by free radical peroxidation is responsible for the development of micro and macro vascular complications in diabetics (Aslan et al., 2007; Sheetz and King, 2002). The changes in the plasma lipid profile leads to the development of atherosclerosis abnormalities in diabetic patients. On the other hand, many enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems play a protective role against the harmful effects of reactive oxygen species. However, the increased production of free radicals and decreased antioxidant level is responsible for the formation of oxidative stress in diabetes. It has been shown that hyperglycemic conditions change oxidant-antioxidant balance towards the increase of the oxidants in diabetes mellitus (Wolff, 1993). Researchers (Pan et al., 2008, Abou-Seif and Youssef, 2004) reported that oxidative DNA damage, protein glycation and oxidation products are responsible for the pathogenesis of pancreatic and vascular complications in diabetes. In our study, we have detected no difference in TAC of plasma and liver, but significantly higher capacity of plasma and liver TOC in streptozotocin-diabetic rats.

Most patients with Type 2 diabetes require multiple antihyperglycemic medications to ensure optimal glycemic control. There are various drug combinations used for this purpose. Use of metformin with insulin is stated to be frequently used method for reducing the dose of both drugs in treatment options today (ADA, 2005; Cusi and DeFronzo, 1998). Metformin has been reported to reduce hyperglycemia and prevent hyperlipidemia in Type 2 diabetic patients (ADA, 2005; Cusi and DeFronzo, 1998, Lee and Kwon 2004, Stepensky et al. 2002). Also, Li et al. (2011) showed that the use of metformin reduces obesity-related insulin resistance and hyperinsulinemia and stabilize β -cell function. The administration of metformin have a significant impact on reducing diabetic protein oxidation products and eliminating the the formation of free radicals that have inflammatory effects and DNA oxidation (Farah et al. 2008, Xia et al. 2008). Meanwhile reports (Lhommeau et al., 2011, Montes-Cortes et al., 2010) showed that insulin have an important influence on suppressing the formation of free radicals, deactivation of

singlet oxygen and play an important role in supporting the antioxidant system. The researchs conducted in recent years indicate that the use of insulin with metformin provides superior treatment option from its use alone (Sliwinski et al., 2006). The use of some combinations of insulin with metformin is reported to correct the decreased activity of certain organs such as gastro-intestinal tract, liver and kidney tissue (Lee et al., 2011). In our study, antioxidant capacity of plasma and liver was determined to remain the same with the control group and the use of metformin in combination with insulin as a good anti-oxidant and anti-stress agent. A variety of antioxidant compounds used in diabetes are thought to be protective against tissue damage due to free radical scavenger properties and working as glycation inhibitors (Davie et al., 1992; Sinclair et al., 1992). Oleuropein that active phenolic compound in olive leaf extract is quite a good H₂O₂ holder (Tetik, 2005). Also, it is showed that oleuropein suppresses hyperglycemia, oxidative metabolism of H₂O₂ and diabetes-induced oxidative stress and assist in preventing diabetic complications (Al-Azzawie and Alhamdani, 2006, Singh et al., 2008). In our study, it was observed that the use of oleuropein alone did not cause the expected change in the plasma and liver TAC capacity. However, we detected that combined use of metformin, insulin, and oleuropein significantly increased plasma antioxidant capacity. These results showed that single use of oleuropein as an antioxidant did not create adequate effect in diabetes.

Conclusions

In conclusion, the use of oleuropein alone did not affect blood glucose level, the live weight, the plasma and the liver TAC and TOC levels in SZT induced diabetic rats, but the use of metformin and insulin as antidiabetic agents with oleuropein as an anti-oxidant and free radical scavenger according to the rising oxidation in diabetes were supported and strengthen the system. It was said that administration of the metformine, insulin and oleuropein on streptozotocin-diabetic rats have protective role on hyperglycemia and oxidant-antioxidant levels.

Acknowledgements

This research supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Kafkas University as Project Number VF-27.

References

- Abou-Seif MA, Youssef AA, 2004: Evaluation of some biochemical changes in diabetic patients. *Clinica Chimica Acta*, 346, 161–170.
- Al-Azzawie HF, Alhamdani MS, 2006: Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci*, 78, 1371-1377.
- American Diabetes Association (ADA) 2005: Standards of medical care in diabetes, *Diabetes Care* 28, 34-36.
- Asgary S, Naderi GA, Sarraf ZN, Vakili R, 2002: The inhibitory effects of pure flavonoids on in vitro protein glycosylation. *J Herb Pharmacother*, 2, 47–55.
- Aslan M, Orhan DD, Orhan N, Sezik E, Yeşilada E, 2007: In vivo antidiabetic and antioxidant potential of *Helichrysum plicata* ssp. *Plicatum capitulum* in streptozotocin-induced-diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 109, 54–59.
- Cusi K, DeFronzo RA, 1998: Metformin: a review of its metabolic effects. *Diabetes Rev*, 6, 89-131.
- Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS, 1992: Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes*, 41, 167–173.
- Emanuelli B, Glondu M, Filloux C, Peraldi P, Obberghen EV, 2004: The potential role of SOCS-3 in the interleukin-induced desensitization of insulin signaling in pancreatic-cells. *Diabetes*, 53, 97-103.
- Farah R, Shurtz-Swirski R, Lapin O, 2008: Intensification of oxidative stress and inflammation in Type 2 diabetes despite antihyperglycemic treatment. *Cardiovasc Diabetol*, 7, 20.
- Galli C, Visioli F, 1999: Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the mediterranean diet. *Lipids*, 34, 23-26.
- Garrido-Fernandez A, Fernandez-Diez MJ, Adams MR, 1997: *Table Olives: Production and Processing*. 1st ed., 495, Chapman & Hall, London, UK.
- Kumar RS, Anthrayose CV, Iyer KV, Vimala B, Shashidhar S, 2001: Lipid peroxidation and diabetic retinopathy. *Indian Med Sci*, 55, 133-138.
- Lean ME, Noroozi M, Kelly I, Burns J, Talwar D, Sattar N, Crozier A, 1999: Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. *Diabetes*, 48, 176–181.
- Lee MS, Hsu CC, Wahlqvist ML, Tsai HN, Chang YH, Huang YC, 2011: Type 2 diabetes increases and metformin reduces total, colorectal, liver and pancreatic cancer incidences in Taiwanese: a representative population prospective cohort study of 800,000 individuals. *BMC Cancer*, 11, 20.
- Lee SH, Kwon KI, 2004: Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling for the relationship between glucose-lowering effect and plasma concentration of metformin in volunteers. *Arch Pharm Res*, 27, 806-810.
- Lhommeau I, Douillard S, Bigot E, Benoit I, Krempf M, Patrice T, 2011: Serum resistance to singlet oxygen in patients with diabetes mellitus in comparison to healthy donors. *Metabolism*, 60, 1340-1348,

- Li X, Zhang N, Li Y, Shi Y, Li D, Xie Y, Ming J, 2011: Effects of metformin and rosiglitazone on peripheral insulin resistance and β -cell function in obesity: a double-blind, randomized, controlled study. *J Int Med Res*, 39, 358-365.
- Montes-Cortes DH, Hicks JJ, Ceballos-Reyes GM, Garcia-Sanchez JR, Medina-Navarro R, Olivares-Corichi IM, 2010: Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation with blood from diabetic patients in oxidative stress. *Metabolism*, 59, 935-942.
- Niwa A, Tajiri T, Higashino H, 2011: Ipomoea batatas and agarics blazei ameliorate diabetic disorders with therapeutic antioxidant potential in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clin Biochem Nutr*, 48, 194-202.
- Novelli M, Fabregat ME, Fernandez-Alvarez J, Gomis R, Masiello P, 2001: Metabolic and functional studies on isolated islets in a new rat model of Type 2 diabetes. *Molecular and Cell Endocrin*, 175, 57-66.
- Novelli M, Pocai A, Lajoix AD, Beffy P, Bezi D, Marchetti P, Gross R, Masiello P, 2004: Alteration of β -cell constitutive NO synthase activity is involved in the abnormal insulin response to arginine in a new rat model of Type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrin*, 219, 77-82.
- Özata M, Yöner A, 2006: Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet. 1st ed., 275-343, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, Türkiye.
- Pan HZ, Zhang H, Chang D, Li H, Sui H, 2008: The change of oxidative stress products in diabetes mellitus and diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*, 92, 548-551.
- Pirie FJ, Omar M, Motala AA, Amod A, 1996: The Genetics of non insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) in Africa. *Int J Dia Dev Count*, 16, 36-40.
- Schneider J, 1991: Effects of metformin on dyslipoproteinemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Metab*, 17, 185-190.
- Sheetz MJ, King GL, 2002: Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA*, 288, 2579-2588.
- Sinclair AJ, Girling AJ, Gray L, Lunec J, Barnett AH, 1992: An investigation of the relationship between free radical activity and vitamin C metabolism in elderly diabetic subjects with retinopathy. *Gerontology*, 38, 268-274.
- Singh I, Mok M, Christensen AM, Turner AH, Hawley JA, 2008: The effects of polyphenols in olive leaves on platelet function. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18, 127-132.
- Sliwinska A, Blasiak J, Drzewoski J, 2006: Effect of gliclazide on DNA damage in human peripheral blood lymphocytes and insulinoma mouse cells. *Chem-Biol Interact*, 162, 259-267.
- Stepensky D, Friedman M, Raz I, Hoffman A, 2002: Pharmacokinetic pharmacodynamic analysis of the glucose-lowering effect of metformin in diabetic rats reveals first-pass pharmacodynamic effect. *Drug Metab Dispos*, 30, 861-868.
- Tetik HD, 2005: Sofralık Zeytin İşleme Teknikleri. 5th ed., 136, Emre Basımevi, İzmir, Türkiye.
- Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Majo DD, Giammanco S, Guardia LM, 2005: The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *NutrRes Rev*, 18, 112.
- Tsimidou M, 1998: Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Ital J Food Sci*, 10, 99-116.
- Üstüner MC, 1999: The Effects of Acarbose and *Rumex Patientia L.* (Labada) in Experimental Animals with Type II Diabetes. Yüksek Lisans Tezi, OĞÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Visioli F, Galli C, 1994: Oleuropein protects LDL from oxidation. *Life Sci*, 55, 1965-1971.
- Visioli F, Galli C, 1995: Natural antioxidants and prevention of coronary heart disease: the potential role of olive oil and its minor constituents. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 5, 306-331.
- Vlahov G, 1992: Flavonoids in three olive (*Olea europaea*) fruit varieties during maturation. *J Sci Food Agric*, 58, 157-159.
- Wolff SP, 1993: Diabetes mellitus and free radicals: Free radicals, transition metals and oxidative stress in the etiology of diabetes mellitus and complications. *British Medical Bulletin*, 49, 642-52.
- Xie Z, Zhang J, Wu J, Viollet B, Ming-Hui Z, 2008: Upregulation of mitochondrial uncoupling protein-2 by the AMP-activated protein kinase in endothelial cells attenuates oxidative stress in diabetes. *Diabetes*, 57, 3222-3230.
- Yenigün M, 2001: Her Yönü ile diabetes mellitus. 1st ed., 8-80, Nobel Tıp, İstanbul, Türkiye.

***Corresponding author:**

Prof. Dr. Nadide Nabil Kamiloğlu,
Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, KARS.
E-mail: nkamiloglu@hotmail.com

Şanlıurfa Yöresinde Maedi-Visna Virus (MVV) Enfeksiyonunun Serolojik Olarak Araştırılması*

Hikmet ÜN^{1**}, İrfan ÖZGÜNLÜK², Mehmet ÇABALAR²

¹Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Aksaray, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 04.05.2018

Kabul Tarihi: 19.06.2018

Özet: Maedi-visna virus (MVV) enfeksiyonu ya da koyunların progresif pnömonisi (OPP) koyunların bir lentivirus enfeksiyonudur. Bu çalışmada, Şanlıurfa yöresindeki koyunlarda MVV enfeksiyonunun seroprevalansı araştırılmıştır. Bu amaçla mezbahada kesime tabi tutulan koyunlardan 1096 serum örneği toplanmış ve MVV spesifik antikolar yönünden agar jel immunodiffüzyon (AGID) tekniği ile kontrol edilmiştir. Örneklenen hayvanlarda MVV enfeksiyonunun varlığı ortaya konmuş ve enfeksiyona bağlı ekonomik kayıpların önlenmesi adına, bölgede etkili kontrol, eradikasyon programlarının planlanmasının yararlı olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Maedi-visna virus, AGID, Seroloji.

Serologically Investigation of Maedi-Visna Virus Infection (MVV) in Şanlıurfa Precincts

Abstract: Maedi-visna virus (MVV) infection or ovine progressive pneumonia (OPP) is a lentivirus infections of sheep. In this study, the serological situation of MVV infection was investigated in Şanlıurfa precincts. For this purpose, 1096 serum samples were collected from slaughtered sheeps in slaughterhouse. Serum samples were tested for specific antibodies to maedi-visna virus by using agar gel immunodiffusion test (AGID). The seroprevalance of MVV infection in animal population was 5.29% (58/1096). The presence of MVV infection has been demonstrated in the sampled animals and it has been thought that planning of effective control and eradication programs in the region may be beneficial in order to prevent economic losses due to infection.

Keywords: Maedi-visna virus, AGID, Serology.

Giriş

MVV enfeksiyonu koyunlarda aynı virus tarafından oluşturulan bir enfeksiyonun histopatolojik ve klinik olarak farklı hastalık formları olarak bildirilmekte (Lairmore, 2011; Straub, 2004); ovine progressive pneumonia (OPP) olarak da adlandırılmaktadır (OIE, 2012; Straub, 2004). Hastalık etkeni virus *Retroviridae* ailesi içerisinde *Lentivirus* cinsinde sınıflandırılmaktadır (Fauquet ve ark., 2005). Visna koyunlarda az bulaşıcı, meningitis ve encephalomyelitise sebep olan, inkubasyon periyodu birkaç aydan dokuz yıla kadar değişebilen bir hastalıktır. Bu hastalık formuna ilgili klinik bulgular İzlanda'da 1940'lı yılların başında saptanmıştır (Lairmore, 2011; Straub, 2004). MVV enfeksiyonu hayvanlarda ağırlık kaybı ve hastalığın ileri dönemlerinde meydana gelen ölümler nedeniyle ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Dohoo ve ark. (1987) MVV ile enfekte dişilerin gebe kalma oranlarının, enfekte olmayan dişilerden düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı araştırmacılar (Dohoo ve ark., 1987), 3-4 yaşlı enfekte dişilerin doğurduğu kuzuların, sürüdeki ortalama doğum ağırlıklarının yaklaşık %3-6 kadar daha düşük doğum ağırlığına sahip olduklarını da saptamışlardır. "Maedi", Palsson (1979)'ın bildirdiğine göre ilk kez Gislason tarafından 1939 yılında yine İzlanda'da

tanımlanmıştır. Virusun ilk izolasyonu 1957 yılında "Visna" klinik semptomları gösteren 5 koyunun beyinden doku kültürlerinde yapılmıştır. Maedi formu klinik semptomlarını gösteren bir koyunun akciğerinden 1958 yılında virusun izole edilmesinden sonra, maedi ve visna viruslarının doku kültürlerinde aynı sitopatolojik değişiklikleri (CPE) oluşturdukları, fiziksel ve kimyasal özellikleri ile benzerlik taşıdıkları saptanmıştır (Cutlip ve ark., 1988; Lairmore, 2011). Small Ruminant Lentivirusları (SRLV) içerisinde yer alan etken 120 nm çapında olup, eter, kloroform ve tripsine duyarlıdır (Lairmore, 2011). Virusun en iyi ürediği hücre kültürleri koyun choroid plexus, akciğer, synovial membrane ve meme hücre kültürleridir (OIE, 2012). Serolojik teşhis amacıyla, komplement fikzasyon (CF), indirekt immunofloresan (IIF), AGID, indirekt ELISA, Western blot ve radio-immunoprecipitation gibi testlerden yararlanılmaktadır (Cutlip ve ark., 1977; Keen ve ark., 1996; OIE, 2012; Pepin ve ark., 1998; Saman ve ark., 1999; Schreuder ve ark., 1988).

Türkiye'de enfeksiyon ilk kez Alibaşoğlu ve Arda (1975) tarafından 1975 yılında, patolojik bulgulara dayanılarak, çeşitli illerdeki mezbahalarda kesilen hayvanlarda %0.02 oranında bildirilmiştir.

Girgin ve ark. (1987), 1984 yılında yurtdışından satın alındığı belirtilen 2 (iki) adet Ostfriz ırkı koçta klinik ve patolojik bulgulara dayanılarak hastalığı saptadıklarını ve hastalıklı iki koçtan alınan kan serumunun AGID testi ile pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Schreuder ve ark. (1988) Erzurum iline bağlı 14 farklı yerleşim biriminden 198 yerli ırk koyundan kan serumu örnekleme yapmış ve bu serumları anti-MVV antikoları yönünden ELISA ile test etmiş ve bu serumlardan yalnızca 3'ünde MVV antikor saptadıklarını ifade etmişlerdir. Burgu ve ark. (1990) tarafından 1990 yılında yapılan çalışmada, 12 koyun yetiştiriciliği işletmesinden toplanan 1099 kan serumundan 263 ünün (%23.9) AGID testi ile seropozitif bulunduğu ortaya konulmuştur. Aynı çalışmada kan serumu örnekleme yapılan 12 sürüden 10 unun (%83) MVV antikor taşıyan koyun bulundurduğu ve sürülerdeki pozitiflik dağılımının %1.5-%56.2 arasında olduğu belirlenmiştir. Alkan ve Tan (1998) ise, 1998 yılında 245 koyun kan serumu ve kolostrum örneğinden, 69 (%28.1) serum ve 53 (%21.6) kolostrumun AGID testi ile MVV antikoları taşıdıklarını saptamışlardır. Tan ve Alkan (1998), MVV antikolarının araştırıldığı başka bir çalışmada, 628 kan serumu örneğinden 168 (%26.7) adinde enfeksiyonun varlığını tespit etmişlerdir. Yılmaz ve ark. (2002), İstanbul ilindeki mezbahalardan toplanan 320 koyun kan serumunu AGID testi ile MVV antikoları yönünden test etmişler ve %0.9 (3/320) oranında pozitiflik belirlemişlerdir. Kandil ve ark. (1997) Elazığ ilinde 160 koyun serum örneğini MVV antikoları yönünden kontrol etmişler ancak örneklenen hayvanların hiçbirinde pozitiflik tespit edememişlerdir. Yavru ve ark. (2012), Konya ve çevresindeki işletmelerden elde ettikleri 1343 koyun kan serumunun 39 unun (%2.90) AGID ile MVV antikor yönünden pozitif olduğunu belirlemişler; işletmelere göre seropozitiflik oranının ise %0.85 ile %13.33 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Çimtay ve ark. (2004) ELISA yöntemi ile test ettikleri Şanlıurfa yöresinden elde ettikleri koyun kan serumu örneklerinde %10 oranında (30/300) seropozitiflik tespit etmişler ve yaşa bağımlı olarak pozitifitenin arttığını vurgulamışlardır. Albayrak ve ark. (2012), Karadeniz Bölgesinden elde ettikleri 583 adet koyun kan serumunun 137 adinde (%23.5) seropozitiflik tespit etmişlerdir. Preziuso ve ark. (2010), kendi geliştirdikleri ELISA yöntemi ile İstanbul ilinden topladıkları koyun kan serumu örneklerinin 15.3'ünde (83/542) seropozitiflik belirlemişlerdir. Arslan ve ark. (2012) ile Gürçay ve Parmaksız (2013), Şanlıurfa ilinde koyunlarda ELISA yöntemi kullanılarak sırası ile %19.7 ve %9.8 oranında seropozitiflik belirlediklerini bildirmişlerdir. Muz ve ark. (2013) 2006-2009 yılları arasında örneklenen ve daha önceki yıllar seropozitif olduğu bilinen 23 adet

sürüden elde edilen koyun kan serumu örneklerinin %51'inin (465/911) ve örneklenen sürülerin %95.6'sının (22/23) seropozitif olduğunu ortaya koymuşlardır. Hastalık, Avustralya ve Yeni Zelanda dışında tüm dünyada görülmektedir (OIE, 2012). Virus varlığı İngiltere (Markson ve ark., 1983; Pritchard ve ark., 1984; Pritchard ve Done, 1990), İrlanda (Adair, 1986), Hollanda (Houwens ve ark., 1984), Kanada (Simard ve Morley, 1991), İspanya (Lujan ve ark., 1993), Suriye (Giangaspero ve ark., 1993), Finlandiya (Sihvonen ve ark., 1999; Sihvonen ve ark., 2000), A.B.D. (Cutlip ve ark., 1992) ve Polonya (Kita ve ark., 1990) gibi ülkelerde bildirilmiştir. Kita ve ark. (1990) Polonya'da, örneklenen populasyonda seropozitifliğin %24 (1990/4284) olduğunu bildirmişlerdir. Pritchard ve Done (1990), İngiltere'de koçlardan alınan serumlarda 1987 yılında %15 oranında pozitiflik saptarken, 1989 yılında pozitifliğin %54 oranına ulaştığını tespit etmişlerdir. Giangaspero ve ark. (1993) Suriye'de 1445 koyun serumundan %6'sını AGID testi ile seropozitif olarak tespit etmişlerdir. A.B.D.'de 1992 yılında, Cutlip ve ark. (1992) 16.827 koyun serumunun %26'sının, örneklenen sürülerden de %48'inin seropozitif bulunduğunu bildirmişlerdir. İspanya'da Lujan ve ark. (1993) örneklenen sürülerin %97'sinin ve sürülerdeki koyunların ise %40.7'sinin MVV antikoları yönünden pozitif olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu enfeksiyona karşı Avrupa ülkelerinde uygulanan eradikasyon programı (Cutlip ve Lehmkühl, 1986; Houwers ve ark., 1984; Sihvonen ve ark., 2000; Straub, 2004; Williams-Fulton ve Simard, 1989) sürü içindeki enfekte hayvanların tespit edilerek, sürüden uzaklaştırılması ve enfekte anneden doğan kuzuların izole edilerek suni yolla beslenmesi ile seropozitif hayvanların sürüden ayrılmasından sonra, sürünün izolasyonu ve 4-6 aylık periyodlarla serolojik kontrollerinin yapılması esasına dayanmaktadır. Sihvonen ve ark. (2000), Finlandiya'da 1994'den beri uygulanan eradikasyon programı sonucunda MVV seronegatif sürüler oluşturulduğunu bildirmişlerdir.

Bu bilgiler ışığında planlanan bu çalışmada, Şanlıurfa yöresinde mezbahada kesime tabi tutulan koyunlarda MVV enfeksiyonunun seroprevalansının belirlenmesi ve enfeksiyonun mücadelesine yönelik önerilerde bulunulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Örneklenen hayvanlar: Araştırmada kullanılan serum örnekleri, Şanlıurfa ilinde faaliyet gösteren özel bir kesimhane firmasında (Dem-Et San. Tic. A.Ş.) koyun kesimi sırasında farklı ırk, yaş ve cinsiyetteki koyunlardan alındı. Örnekleme yapılacak hayvanlar tesadüfi olarak seçildi. Örneklenen hayvanların tamamı 6 aylıktan büyük ve

büyük bir kısmı 2-5 yaş aralığındaydı. Örneklem Aralık 2013-Temmuz 2014 arasında kalan zaman diliminde yapıldı. Örneklenen hayvanlar Şanlıurfa ilinde farklı işletmelere aitti.

Steril şartlarda kaolinli tüplere 1096 adet koyundan kan örnekleri alındı. Soğuk zincir şartlarına uyularak laboratuvara getirilen kan örnekleri 10 dakika süre ile santrifüj (3000 rpm/dakika) edilerek serumları ayrıldı. 56°C'de su banyosunda 30 dakika inaktive edilen kan serumları testte kullanılabildiği kadar -20°C'de saklandı.

Agar jel immunodiffuzyon (AGID) testi: Çalışmada ticari AGID test kiti (Maeditect, AHVLA, Weybridge, UK) kullanıldı. AGID testi üretici firmanın tavsiye ettiği yöntemle yapıldı. Bu amaçla, 0.05 M Tris içinde %0.7 Agaroz, %8 NaCl, pH:7.2'de hazırlanarak otoklav edildi ve 8.5 cm çapındaki petrilere steril koşullarda 17 ml konuldu. Agarın katılmasını takiben özel metal delici ve vakum motoru ile merkezde bir ve merkezdekine eşit uzaklıkta 6 kuyucuk açıldı. Ortadaki kuyucuğa antijen ve çevredekilere pozitif kontrol serum ve sulandırılmamış şüpheli serum örnekleri konulduktan sonra, petri kutuları reaksiyon için nemli ortamda oda ısısında bekletildi. Sonuçlar 48-72 saat sonra değerlendirildi ve pozitif sonuç veren şüpheli serum örnekleri bir kez daha test edilerek doğrulamaları yapıldı.

Bulgular

Mezbahada kesime tabi tutulan koyunlardan elde edilen 1096 serum örneğinin 58 tanesinde AGID yönetimi ile MVV spesifik antikorları saptandı. Örneklenen populasyonda MVV enfeksiyonunun seroprevalansı %5.29 olarak tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de MVV enfeksiyonunun teşhisi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda klinik belirtiler, patolojik ve histopatolojik bulgular, serolojik yöntemler (AGID ve ELISA) ve moleküler testlerin kullanıldığı bildirilmektedir (Alibaşoğlu ve Arda, 1975, Girgin ve ark., 1987; Muz ve ark., 2013; Preziuso ve ark., 2010; Schreuder ve ark., 1988). MVV enfeksiyonunun seroprevalansının saptanmasına yönelik yapılan çalışmalarda mezbahalardan kan serumu toplanması tercih edilen bir yöntemdir. Epidemiyolojik olarak bu örnekler populasyonun temsili yönünde araştırmacılara önemli fikir verirler. MVV enfeksiyonunun Türkiye'de ilk bildirimini Alibaşoğlu ve Arda (1975) tarafından mezbahada toplanan materyalde yapılmıştır. Bu çalışma ile 1975 yılında, çeşitli illerdeki mezbahalarda kesilen

hayvanlarda patolojik bulgulara dayanılarak %0.02 oranında bildirilmiştir. Daha sonra Yılmaz ve ark. (2002) tarafından bildirildiğine göre, AGID testi kullanarak İstanbul'daki mezbahalardan toplanan 320 koyun kan serumundan yalnızca 3'ünün (%0.94) pozitif olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuca göre örneklenen populasyon için seropozitiflik değerinin (%5.29) Şanlıurfa'da daha önce yapılan çalışmalar (Arslan ve ark., 2012; Çimtay ve ark., 2004; Gürçay ve Parmaksız, 2013), göz önüne alınacak olursa düşük olduğu dikkati çekmektedir.

Hastalığın prevalansı enzootik bölgelere, bakım şartlarına ve sürü yönetim stratejilerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Burgu ve ark. (1990), Muz ve ark. (2013) ve Arslan ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmalarda bildirildiği üzere önceden enfekte olduğu bilinen sürülerden örneklem yapılması, doğal olarak yüksek oranda seropozitiflik bulunmasına neden olmuştur. Bu nedenle, bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile mezbaha da kesilen hayvanlarda elde edilen seropozitiflik değerleri arasında tespit edilen farkın doğal olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar ışığında, hastalığın bildirilmediği bölgelere yapılacak hayvan hareketlerinde ve hayvan ithalatı durumunda MVV yönünden ön test yapılmasının faydalı olacağı açıktır. MVV enfeksiyonunun kontrol ve eradikasyon programı için ülke, bölge ve sürü özelinde altı aylık aralıklarla hastalık izlenmeli ve hastalık tespit edildiğinde derhal sürüye hayvan giriş çıkışına ve hayvan hareketlerine kısıtlayıcı önlemler getirilmelidir. Seropozitif hayvanlar sürüden uzaklaştırılmalı ve bu çalışmalar referans laboratuvar tarafından uygulamalı ve denetlenmelidir.

Hastalığın, Avustralya ve Yeni Zelanda dışında tüm dünyada görüldüğü (OIE, 2012) ve seroprevalans oranlarının yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Adair, 1986; Cutlip ve ark., 1992; Houwers ve ark., 1984; Kita ve ark., 1990; Lujan ve ark., 1993; Pritchard ve Done, 1990; Sihvonen ve ark. 2000; Simard ve Morley, 1991). Bu ülkelerde aynı zamanda gönüllü veya zorunlu hastalık kontrol çalışmalarının yapıldığı belirtilmektedir (Lujan ve ark., 1993; Sihvonen ve ark., 1999; Sihvonen ve ark., 2000). Görüldüğü üzere hastalığın batı dünyasında yüksek seropozitiflik değerleri ile seyretmesi bu ülkelerden dışalım yolu ile hayvan gen kaynağı temin eden ülkeler için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır. Türkiye'nin zaman zaman ithalat yolu ile hayvan temin eden bir ülke olması, 1970'li yıllardan sonra hastalığın seroprevalans değerlerinde tespit edilen artışın en önemli nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir. Özellikle, Muz ve ark. (2013) tarafından tespit edilen Türkiye'de ve Avrupa'daki MVV izolatları arasındaki

filogenetik benzerlik de bu durumu destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; bu çalışmadan elde edilen bulgulara dayanılarak, hastalık kontrol-eradikasyon çalışmaları için MVV enfeksiyonunun sürekli olarak izlenmesinin, periyodik sero-epidemiolojik çalışmalarının yapılmasının, ithalatta yerinde ön test yapılarak hayvan seçiminin, yapılan çalışmaların sonuca ulaşması için mücadele yöntemleri ile desteklenmesinin yararlı olabileceği düşünülmektedir. Özellikle damızlık niteliği yüksek olan işletmeler için danışmanlık desteği verilmesi ve yetiştiricilerin bilinçlenmesine yönelik çalışmalara ağırlık verilmelidir.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (HÜBAK) tarafından HÜBAK-13077 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Adair BM, 1986: Serological surveillance for maedi/visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus in Northern Ireland. *Vet Rec*, 118, 422-423.

Albayrak HH, Yazıcı Z, Okur-Gümüşova S, Ozan E, 2012: Maedi-visna virus infection in Karakaya and Amasya Herik breed sheep from provinces in northern Turkey. *Trop. Anim Health Prod*, 445, 939-941.

Alibaşoğlu M, Arda M, 1975: Koyun pulmoner adenomatosis'inin Türkiye'de durumu ile patolojisi ve etiyolojik araştırılması. TÜBİTAK-VHAG yayınları, 273/4:111.

Alkan F, Tan MT, 1998: A comparative study on the diagnosis of maedi-visna infection in serum and colostrum samples using agar gel immunodiffusion AGID technique. *Dtsch tierarztl Wschr*, 105, 276-278.

Arslan S, Savaşunlu Z, Vural T, Arslan H, Yüksel M, Şelli MŞ, Badıllı M, Demir R, Aydoğdu M, Çabalar M, 2012: Şanlıurfa ilindeki koyunlarda maedi-visna enfeksiyonunun varlığı ve yaygınlığının araştırılması. 10. Ulusal Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi, 24-27 Eylül 2012. Kuşadası, AYDIN. S.374.

Burgu İ, Toker A, Akçan Y, Alkan F, Yazıcı Z, Özkul A, 1990: Türkiye'de visna-maedi enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 373, 538-553.

Çımtay İ, Keskin O, Şahin T, 2004: Şanlıurfa yöresindeki koyun ve keçilerde bazı lentivirus enfeksiyonlarının araştırılması. *Uludağ Üniv J Fac Vet Med*, 23(1-2-3), 33-38.

Cutlip RC, Jackson TA, Laird GA, 1977: Immunodiffusion test for ovine progressive pneumonia. *AmJVetRes*, 38, 1081-1084.

Cutlip RC, Lehmkühl HD, 1986: Eradication of ovine progressive pneumonia from sheep flocks. *JAVMA* 1889, 1026-1027.

Cutlip RC, Lehmkühl HD, Sacks JM, Waever AL, 1992: Seroprevalence of ovine progressive pneumonia virus in sheep in the United States as assessed by analyses of voluntarily submitted samples. *Am J Vet Res*, 536, 976-979.

Cutlip RC, Lehmkühl HD, Schmerr MJF, Brogden KA, 1988: Ovine progressive pneumonia Maedi-Visna in sheep. *Vet Microbiol*, 17, 237-250.

Dohoo IR, Heaney DP, Stevenson RG, Samagh BS, Rhodes CS, 1987: The effects of maedi-visna virus infection on productivity in ewes. *Prev Vet Med*, 4, 471-484.

Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, 2005: Virus Taxonomy, the Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, New York.

Gianguasero M, Tabbaa D, Nishikawa H, Vanopdenbosh E, 1993: Epidemiological survey of the Maedi-Visna MV virus in Syrian Awassi sheep. *Rev Elev Med Vet Pays Trop*, 463, 431-434.

Girgin H, Aydın N, Yonguç AD, Aksoy E, Çorak R, 1987: Ve şimdi koyunların viral maedi-visna'sı Türkiye'de. *Etlik Vet Mikrob Derg*, 61, 9-22.

Gürçay M, Parmaksız A, 2013: An Investigation of Visna-Maedi virus Infection in Şanlıurfa Province, Southeast Anatolia, Turkey. *AVKAE Derg*, 3(1), 46-50.

Houwens DJ, Schaeke J, De Boer GF, 1984: Maedi-visna control in sheep. II. Half yearly serological testing with culling of positive ewes and progeny. *Vet Microbiol*, 9, 29-36.

Kandil M, Metin N, Özdarendeli A, Yüksel H, 1997: Elazığ'da koyunlarda Visna-Maedi virus enfeksiyonu üzerinde serolojik araştırma. *FÜ Sağlıklı Bil Dergisi*, 11, 283-287.

Keen J, Kwang J, Littledike ET, Hungerford LL, 1996: Ovine lentivirus antibody detection in serum, colostrum and milk using a recombinant transmembrane protein ELISA. *Vet Immun Immunopathol*, 51, 253-275.

Kita J, Cutlip RC, Kempski W, Sacks J, 1990: Survey for antibodies against maedi-visna in sheep in Poland. *Pol Arch Weter*, 30(1-2), 5-11.

Lairmore MD, 2011. *Retroviridae*, Chapter 14, In "Fenner's Veterinary Virology", Eds; MacLachlan NJ, Dubovi E, fourth edition, Academic Press, London, UK, pp.243-274

Lujan L, Badiola JJ, Marin G, Moreno B, Vargas D, de Luco F, Perez V, 1993: Seroprevalence of maedi-visna infection in sheep in the north-east of Spain. *Prev Vet Med*, 15, 181-190.

Markson LM, Spence JB, Dawson M, 1983: Investigations of a flock heavily infected with maedi-visna. *Vet Rec*, 112, 267-271.

Muz D, Oğuzoğlu TC, Rosati S, Reine R, Bertolotti L, Burgu İ, 2013: First Molecular Characterization of Visna/Maedi Viruses from Naturally Infected Sheep in Turkey. *Archives of Virology*, 1583: 559-570, DOI: 10.1007/s00705-012-1518-1.

OIE, 2012: Caprine Arthritis-Encephalitis & Maedi-Visna, In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Chapter 2.7.3/4., <http://www.oie.int/international-standard->

- setting/terrestrial-manual/access-online/ erişim tarihi:05.03.2013.
- Palsson PA, 1979: Maedi and visna in sheep. In "Slow viruses of animals and man", Ed. R.H. Kimberlin, 179-2000, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, The Netherland.
- Pépin M, Vitu C, Russo P, Mornex JF, Peterhans E, 1998: Maedi-visna virus infection in sheep: a review. *Vet Res*, 293(4), 341-367.
- Preziuso S, Or ME, Giammarioli M, Kayar A, Feliziani F, Gönül R, Farneti S, Yaramış ÇP, Valente C, Cuteri V, 2010: Maedi-visna virus in Turkish sheep: a preliminary serological survey using ELISA tests. *Turk J Vet Anim Sci*, 343, 289-293.
- Pritchard GC, Done SH, 1990: Concurrent maedi-visna virus infection and pulmonary adenomatosis in commercial breeding flock in East Anglia. *Vet Rec*, 127, 197-200.
- Pritchard GC, Spence JB, Arthur MJ, Dawson M, 1984: Maedi-visna virus infection in commercial flocks of indigenous sheep in Britania. *Vet Rec*, 115, 427-429.
- Saman E, Eynde GV, Lujan L, Extramiana B, Harkiss G, Tolari F, Gonzalez L, Amorena B, Watt N, Badiola J, 1999: A new sensitive serological assay for detection of lentivirus infections in small ruminants. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 6, 734-740.
- Schreuder BEC, Yonguç AD, Girgin H, Akçora A, 1988: Antibodies to maedi-visna in indigenous sheep in eastern Turkey. *Etlik Vet Mikrob Derg*, 63, 47-53.
- Sihvonen L, Hirvela-Koski V, Nuotio L, Kokkonen UM, 1999: Serological survey and epidemiological investigation of maedi-visna in sheep in Finland. *Vet Microbiol*, 65, 265-270.
- Sihvonen L, Nuotio L, Rikula U, Hirvela-Koski V, Kokkonen UM, 2000: Preventing the spread of maedi-visna in sheep through a voluntary control programme in Finland. *Prev Vet Med*, 47, 213-220.
- Simard C, Morley RS, 1991: Seroprevalence of maedi-visna in Canadian sheep. *Can J Vet Res*, 55, 269-273.
- Straub OC, 2004: Maedi-Visna virus infection in sheep. History and present knowledge. *Comp Immun Mic and Inf Dis*, 271, 1-5.
- Tan MT, Alkan F, 1998: Türkiye'de Visna-maedi enfeksiyonunun seroepidemiolojisi ve virus izolasyonu. III. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 23-25 Eylül 1998, Bursa.
- Williams-Fulton NR, Simard CL, 1989: Evaluation of two management procedures for the control of maedi-visna. *Am J Vet Res*, 53, 419-423.
- Yavru S, Şimşek A, Bulut O, Kale M, 2012: Konya bölgesi koyunlarında Maedi-Visna virus enfeksiyonu üzerine serolojik araştırma. *Eurasian J Vet Sci*, 28(3), 142-148.
- Yılmaz H, Gürel A, Turan N, Bilal T, Kuşçu B, Dawson MM, Morgon KL, 2002: Abattoir study of Maedi-Visna virus infection in Turkey. *Vet Rec*, 151, 358-360.
- *Çalışma sonuçları 11. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresinde (Uluslararası Katılımlı, 21-24 Ekim 2014, Kemer, Antalya) sunulmuştur. Çalışma için izin belgesi Dollvet A.Ş. Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.
- **Sorumlu Yazar:** Hikmet ÜN
Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Aksaray, Türkiye.
E-mail: hikmetun@aksaray.edu.tr

Fiziksel ve Kimyasal Koşulların Çeşitli Yöntemlerle Elde Edilmiş Viral DNA'ya Etkileri

Zeynep AKKUTAY-YOLDAR

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Dışkapı, 06110, Ankara, Türkiye.

Geliş Tarihi: 30.04.2018

Kabul Tarihi: 19.11.2018

Özet: DNA virusları tamir mekanizmaları ve RNA viruslarına göre daha stabil olmaları sayesinde çevre şartlarına dirençli bir yapı gösterirler. Sahip oldukları bu direnç mutasyonel değişiklikleri elimine ederek, virusun korunmuş bölgelerinin kolaylıkla amplifikasyonu sağlamasına rağmen, uygun olmayan laboratuvar koşulları ve inhibe edici ajanlar, viral DNA tespitine engel olabilmektedir. Viral DNA eldesinde çeşitli yöntemlerin karşılaştırılmasının yapıldığı bu çalışmada aynı zamanda farklı fiziksel ve kimyasal koşulların viral DNA'ya etkileri de sorgulandı. Bu amaçla biri konvansiyonel metot olmak üzere toplam dört farklı ekstraksiyon yöntemi bir parapoxvirus olan *ecythma contagiosum* DNA'sını tespit amacıyla kullanıldı. Elde edilen DNA'lar verimlilikleri yönünden kıyaslandıktan sonra çeşitli fiziksel (basınç, UV) ve kimyasal (deterjan) koşullara maruz bırakıldı. Basıncı buhar otoklavına maruziyetten sonra viral DNA amplifikasyonu gerçekleşirken; tween 20 ve UV radyasyon viral DNA amplifikasyonu inhibe ettiler. Ticari kitlerin çoğu DNA ekstraksiyonunun süresini kısaltmaya yardımcı olurken konvansiyonel yöntem viral DNA tespiti açısından en yüksek verimliliği sağladı.

Anahtar Kelimeler: Ekstraksiyon, PCR, Viral DNA.

The Effects of Physical and Chemical Conditions on Viral DNA Obtained by Various Methods

Abstract: DNA viruses are more resistant to environmental conditions than RNA viruses due to their repair mechanisms and stability of their genetic material. Despite these advantages, inadequate laboratory conditions and inhibitory agents can interfere with viral DNA detection. In this study, which compares various methods of viral DNA obtainment, the effects of different physical and chemical conditions on viral nucleic acid were also questioned. For this purpose, a total of four different extraction methods, one of which was the conventional method, have been used to detect the DNA of the parapox virus causing *ecythma contagiosum*. The isolated DNAs were exposed to various physical (pressure, uv) and chemical treatment (detergent) conditions before PCR amplification. While viral DNA amplification occurred after exposure to autoclave pressure steam sterilizer; Tween 20 and UV radiation inhibited viral DNA amplification. While most commercial kits helped to shorten the duration of DNA extraction, the conventional method provided the highest efficiency for viral DNA detection.

Keywords: Extraction, PCR, viral DNA.

Giriş

Viruslar doğada insan, hayvan ve bitkileri enfekte edebilen, hatta el değmemiş buzulların içinde olmak üzere birçok farklı ve zorlu koşullara adapte olabilen ve enfekziozitesini devam ettiren patojenlerdir (Zimmer, 2015). Sahip olduğu genetik materyale göre Deoksi Ribo Nükleik Asit (DNA) ve Ribo Nükleik Asit (RNA) olarak ikiye ayrılan viruslardan genetik materyalinde DNA içerenler çift sarmal yapıları sebebiyle bu koşullara daha dirençlidir. DNA içeren virus ailelerinden Poxviridae ailesi 375 kb'ne varabilen genom ve morfolojik olarak kompleks simetriye sahip tuğla görünümü sergilemektedirler (Knowles, 2011). Poxviridae ailesi, Chordopoxvirinae ve Entomopoxvirinae olmak üzere iki alt aileye ayrılır. Parapoxvirus, Chordopoxvirinae alt ailesinde bulunan 11 cinsten birisidir. Bu cins; orf virus (ORFV), bovine papüler stomatit virus (BPSV), pseudocowpox virus (PCPV) ve Yeni Zelanda'da bulunan kırmızı geyiklerin parapoxvirusunu içermektedir (PVNZ) (Knowles, 2011; Skinner ve ark., 2012). Ailenin diğer

üyelerinden farklı olarak Parapoxviruslar ovoid şekillidir. Koyun ve keçilerde orf hastalığına sebep olan bu virus meralarda aylarca canlılığını koruyabilmektedir (Murphy ve ark., 1999). Bu çalışmada çevre şartlarına dirençli olan orf virus DNA'sının farklı ekstraksiyon metotlarıyla eldesi sonrasında amplifikasyonlarının karşılaştırılması ve basınç, UV (Ultraviyole) radyasyon ve deterjan gibi çeşitli kimyasal ve fiziksel faktörlere direncinin araştırılması hedeflenmiştir.

DNA virusları, proofreading mekanizmaları gereğince her ne kadar nükleotid hatalarını düzeltme ve stabilitelelerini korumakta başarılı olsalarda, çeşitli etmenler sonucunda inhibe olabilmekte ve Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (PCR) her zaman pozitif sonuç elde edilememektedir (Reha-Krantz, 2010; Wilson, 1997). Nükleik asitlerin amplifikasyonunun inhibe olabileceği aşamalardan birisi ekstraksiyondur. Tuzlar, deterjan ve fenollerin bu aşamada amplifikasyona engel olabileceği bilinmektedir (Arnal ve ark., 1999). PCR'in etkin ve

verimli bir şekilde çalışabilmesinde ekstraksiyon bir önkoşuldur. Ekstraksiyon metotları virusun elde edildiği dokuya ve canlıya, göre değişiklik arz etmektedir. Gıdalarla bulaşan virusların tespitinde elüsyon-konsantrasyon, ultrafiltrasyon, ultrasantrifügasyon kullanılırken; dokudan ve kandan izole edilmesi planlanan viruslar için RNAzol, GTC-silica, nucleospin, magnetic beads gibi birçok farklı metot uygulanabilir (Arnal ve ark., 1999; Deng ve ark., 2005; Scherer ve ark., 2010). Bu çalışmada gerek konvansiyonel gerekse spin-kolon prensibiyle çalışan farklı firmalara ait ekstraksiyon yöntemlerinin nükleik ait amplifikasyonuna olan etkileri incelenmiştir. Bunu takiben de basınç, UV radyasyon ve tween 20 gibi çeşitli faktörlerin farklı koşullarda elde edilmiş olan viral DNA'ya etkisi araştırılmış ve bu ajanların varlığında farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmiş viral DNA'nın ihibisyonuna yol açıp açmadığı incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal: Araştırma kapsamında yapılan farklı ekstraksiyon yöntemleri ve PCR uygulamalarında viral DNA daha önce tanısı ve filogenetik analizi gerçekleştirilmiş olan ülkemiz orjinli orf virus kabuk örneklerinden yapıldı (Akkutay-Yoldar ve ark., 2016). Kabuk materyali fosfat tamponlu sıvı çözeltisi (PBS) içinde homojenize hale getirildi. Homojenize materyal daha sonra -80 derecede 1'er saat süreyle, üç kez dondurma-çözme işlemine tabi tutuldu. Bunu takiben de hücrelerden virusun PBS içerisine çıkmasını sağlamak amacıyla 4000 rpm de 15 dakika santrifüj edilerek DNA ekstraksiyonu için hazır hale getirildi.

DNA ekstraksiyonu: Viral DNA ekstraksiyonunda Sambrook ve Russell (2001) tarafından tanımlanan; konvansiyonel olarak adlandırdığımız asit guanidin tiyosiyanat-fenol ekstraksiyon metodu ve spin-kolon yöntemi ile çalışan 3 farklı nükleik asit kiti kullanıldı. Konvansiyonel ekstraksiyon metotunda 300µl klinik örnek ve 300 µl solüsyon D [4.2 M guanidin tiyosiyonat (Applichem A1107, Almanya), 0.75M sodyum sitrat dihidrat (Merck, Darmstadt, Almanya), 0.33M N-lauril sarcosin (Applichem, A1163, Almanya) ve 360 µl 2-merkaptoetanol (Merck, Darmstadt, Almanya) bir araya getirildi ve 10-15 saniye vorteksledi. Karışımın üzerine 325 µl alkali fenol (pH 4), (Merck, Darmstadt, Almanya), 325 µl kloroformizoamilalkol [Ch/IsoA (24:1)] eklendi ve homojen bir karışım elde edilene kadar 15 saniye süre ile vorteksledi. Tüpler, 12000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan 3 fazın en üst fazından 700 µl yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine eşit hacimde -20°C'ye soğutulmuş izopropanol (Merck, 1.09634.2500,

Darmstadt, Almanya) ve 100 µl 3 M sodyum asetat (pH 5.2) (Applichem, Almanya) ilave edildi ve karıştırıldı. Nükleik asit presipitasyonu için karışım en az 1 saat süre ile -80°C de bekletildi. Süre sonunda oda ısısında eritildikten sonra, 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Çöken DNA pelleti, %70' lik etanol (Sigma-Aldrich, 32221, Almanya) ile yıkandı ve 37°C' lik etüvde kurutuldu. DNA pelletleri 20 µl deiyonize su ile yeniden süspansiyon edildi. Elde edilen DNA'lar PCR reaksiyonlarında kullanılmak amacıyla -20°C'de saklandı. Spin-kolon temelli ticari nükleik asit kitleri: QIAamp cadar Pathogen Mini Kit (Qiagen), NucleoSpin RNA (Macherey-Nagel) ve The PureLink® Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen), üreticilerin talimatlarına göre uygulandı.

PCR: Farklı kitlerle hazırlanan saf ve çeşitli ajanlara maruz bırakılan orf virusunun B2L gen bölgesine spesifik PPP-1 (5'-GTCGTCACGATGAGCAGCT-3') ve PPP-4 (5'-TACGTGGGAAGCGCCTCGCT-3') primerleri kullanılarak, Inoshima ve ark. (2000) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek PCR reaksiyonları gerçekleştirildi (Inoshima ve ark. 2000). Biyo Güvenlik Kabini (BGK) (esco iso 9001 quality, ABD) içerisinde hazırlanan PCR karışımı, 30 uL toplam hacim içinde (5 U/µl) Taq DNA polimeraz (MBI, Fermentas, Waltham, MA, ABD), 10 x Taq Tamponu (1.25 mL olup, (NH₄)₂SO₄ içeren), 25 mmol/L MgCl₂ ve su (18 Mohm/cm, Applichem, Darmstadt, Almanya), primerler ve 3µl ekstrakte edilmiş DNA kullanıldı. 96°C'de 5 dakika süren ilk denatürasyonun ardından 96°C'de 30 s DNA denatürasyonu, 48°C'de 30 saniye primer bağlanma ve 72°C'de 45 saniye amplifikasyon aşamalarını içeren 35 siklus gerçekleşti. PCR ürünleri etidyum bromid (Sigma-Aldrich, Almanya, 1:5000) içeren %1 agaroz jelinde elektroforezden sonra transilluminatörde görüntüledi ve 595 bç büyüklüğündeki ürünler pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1). Elde edilen nükleik asitler hem ekstraksiyon sonrası hem de fiziksel ve kimyasal ajanlara maruz kaldıktan sonra (Picodrop Microliter UV/Vis spektrofotometre (Picodrop, Cambridge, UK) ile ölçüldü (Tablo 1).

Nükleik asitlere fiziksel ve kimyasal etkilerin uygulanması:

Basınçlı buhar sterilizasyonu (Otoklav): Otoklavla sterilizasyon Systec D-90 (Systec GmbH, Switzerland) otoklav cihazında 121°C'de 15 psi basınçta, 15 dakika olarak gerçekleştirilmiştir.

Ultraviyole radyasyon: Ultraviyole ışınları, tepesine UV lambalarının monte edilmiş olduğu UV kutusunun içinde, 20 cm mesafeden; 30 dakika, 1 ve 4 saat olmak üzere 3 farklı süre boyunca DNA'ya uygulandı.

Tween 20: Tween 20 (P1379 Sigma-Aldrich) diğer adıyla polyethylene glycol sorbitan monolaurate

vizküz solüsyonu sulandırılmaksızın 1 damla olacak şekilde viral DNA üzerine tatbik edildi.

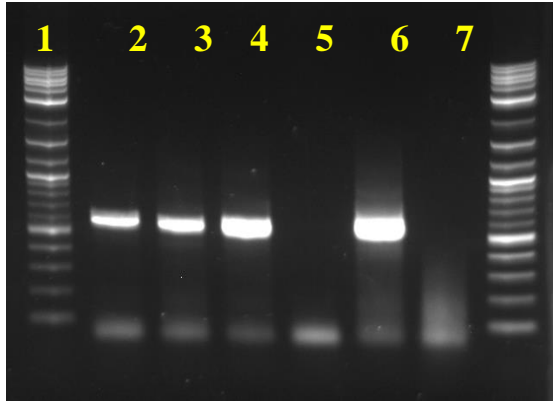
Tablo 1. Farklı yöntemler aracılığıyla elde edilen dsDNA'ların (ng/ µl) 260 nm dalga boyunda ölçümleri ve PCR sonuçları.

Ekstraksiyon Yöntemleri	Özellikler	PCR sonuçları				İzolasyon Sonrası DNA miktarları ng/ml
		Direkt PCR	Basınç	UV	Tween 20	
1 QIAamp <i>cador</i> Pathogen Mini Kit	Viral RNA/DNA Bakteriyel DNA	+	+	-	-	130.21
2 NucleoSpin RNA	RNA	+	+	-	-	58.10
3 The PureLink	Viral RNA/DNA	+	+	-	-	256.21
4 Konvansiyonel	Viral DNA	+	+	-	-	437.10

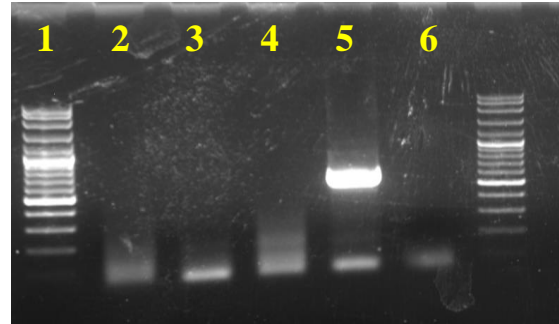
Bulgular

PCR sonuçları konvansiyonel yöntemle elde edilen ekstraktlardan yapılan PCR'in en yüksek amplifikasyona sahip olduğunu gösterdi. 1 ve 3 numaralı ticari kitler ile yapılan ekstraksiyonlar ideal bir pozitiflik verirken, 2 numaralı ekstraksiyon yönteminde ise diğer üç metota göre biraz daha zayıf bir pozitiflik elde edildi. Ekstraksiyon sonrası uygulanan ajanlardan tween 20, PCR'in inhibisyonuna yol açmış olup, herhangi bir amplifikasyon gerçekleşmedi. Farklı sürelerde (30d, 1s, 4s) uygulanan UV radyasyondan sonra da viral DNA tespit edilemedi. UV ışığa maruz kalınma

sonrası, yapılan dsDNA 260 nm dalga boyu spektrofotometre ölçümünde anlamlı bir veri elde edilememiş olmakla birlikte, otoklava maruz bırakılan ve tween 20 ile muamele edilen ekstraktların nükleik asit miktarlarının (ng/µl) spektrofotometre ölçüm sonuçları da daha önce elde edilen ekstraksiyon ölçümleriyle benzerlik göstermiş olup, herhangi bir ürün kaybı belirlenmedi. Fiziksel ajanlardan UV ve kimyasal ajan Tween 20'nin saf hali DNA'yı inhibe edebilir nitelikte olduğu görüldü. Otoklav işleminin ardından ise viral DNA güçlü bir şekilde amplifiye olmayı başardı (Şekil 2).



Şekil 1. Parapox virus B2L genine spesifik PCR sonucu oluşan ürünlerin agaroz jel görüntüsü. [1:3000 bp DNA merdiveni, 2: Macherey Nagel, 3: Cador, 4: Invitrogen, 5: negatif kontrol 6: Konvansiyonel, 7: negatif kontrol].



Şekil 2. Nükleik asitlerin fiziksel ajanlara maruz bırakılmalarının sonrası parapox virus B2L genine spesifik PCR sonucu oluşan ürünlerin agaroz jel görüntüsü. [1:3000 bp DNA merdiveni, 2: UV radyasyonda 30 dakika bekletilen DNA, 3: UV radyasyonda 1 saat bekletilen DNA, 4: UV radyasyonda 4 saat bekletilen DNA, 5: Otoklav sonrası elde edilen DNA, 6: negatif kontrol].

Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda nükleik asit tespitine dayalı tekniklerin kullanılması önem arz etmektedir. Bu bağlamda nükleik asit elde edilmesinde, ticari kit kullanımı günümüzde oldukça tercih edilen ve zamanı kısaltan bir yol olmuştur. Bu ticari kitlerde kullanılan spin-kolon, sodyum katyonlarının DNA'ya bağlanması prensibinin temel alındığı bir metot olup, fenol-kloroform-izoamilalkol yönteminin toksik etkilerini minimize etmektedir. Standardize edilmiş prosedürleri olan, minimum

kontaminasyonla yüksek verim elde eden bu ticari kitlerin yanı sıra, ultrafiltrasyon, magnetik küre, deterjan ve enzimlerle hücre zarını parçalayan birçok farklı ekstraksiyon yöntemi de konvansiyonel metoda alternatif olarak kullanılmaktadır (Chacon-Cortes ve Griffiths, 2014; Scherer ve ark., 2010).

Bu çalışmada, DNA verimliliği, PCR ürünü ve elde edilen ürünlerin çevre şartlarına dirençliliği üzerine odaklanıldı. Ayrıca farklı yöntemlerin DNA ekstraksiyon performansına etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanarak bunlar karşılaştırıldı ve DNA miktarları spektrofotometrede (Picodrop,

Cambridge, UK) ölçüldü. Kullanılan 1. kit tam kan, serum, sürüntü ve doku da dahil olmak üzere bir dizi hayvan örneğinden viral RNA, DNA ve bakteriyel DNA'nın izolasyonu amacıyla kullanılan bir kittir. Bu yöntem viral DNA izolasyonunda orta derecede bir verimlilik elde etmemizi sağladı. Denenen 2. kit ise kolon içerisinde rDNase içeren ve kontamine DNA'nın kolay ve etkili bir şekilde uzaklaştırılmasını sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntemde enzim varlığına rağmen ekstraksiyonunu yaptığımız virustan DNA izole etmeyi başardık fakat ürün verimliliği elde edilen diğer ürünlere göre daha düşük bulundu. 3 numaralı kit spin-kolon yöntemlerinin içerisinde en yüksek verimliliği veren ekstraksiyon kiti oldu. Taze veya donmuş plazma, serum, beyin-omurilik gibi sıvılardan ve hücre kültürü süpernatantlarından viral RNA ya da DNA eldesi sağlayan bu kit, konvansiyonel yöntemden sonra en yüksek verimliliği sağladı. Bunun nedeninin, kitin düşük elüsyon hacimleri kullanarak nükleik asiti pürifiye etmesi ve herhangi bir nükleaz içermemesinin etkili olduğu düşünüldü (Tablo 1). Spektrofotometre ds DNA ölçümlerine (ng/µl) ve agaroz jel görüntülerine bakıldığında en iyi sonuç veren ekstraksiyon metodu konvansiyonel yöntemdir. Asit guanidin tiyosiyanat-fenol temelli bu yöntem, maliyeti düşük ve spin-kolon yöntemlerine göre daha fazla zamana ihtiyaç duyulan bir uygulamadır. Spin-kolon yöntemlerinde sıklıkla etanolden kurtulmak için uygulanan iki aşamalı yıkama yönteminin bu uygulamada olmaması ürün kaybının daha az olmasında etkili bir faktör olabilir. Bu araştırmadaki beklenti ekstraksiyon kitlerinin manipülasyona bağlı meydana gelebilecek hataları indirgeyebileceği düşüncesinden hareketle, konvansiyonel metoda göre daha yüksek miktarda DNA elde edilmesiydi. Kazanılan bulgular ise DNA eldesinin konvansiyonel yöntemde daha yüksek olduğunu gösterdi. Birbirinden çok farklılık göstermemekle birlikte üç ticari kit de uygun miktarda DNA'yı izole etti.

Çalışmada basıncın viral DNA üzerindeki etkisine bakmak için örnekler basınçlı buhar otoklavına tabi tutulmuştur. Otoklav her ne kadar hücre yapısını parçalasa da viral genomların yok edilmesi için otoklavlanmanın etkinliği hakkında çok az çalışma bulunmaktadır (Choi ve ark., 2014). Choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada viral genomların, kuru şartlara göre hidratlı koşullarda daha kolay hasar gördüğü ve RNA virus genomunun, DNA virusundan daha kolay bozulduğu gözlemlenmiştir (Choi ve ark., 2014). Bu çalışmada elde edilen bulgular viral DNA amplifikasyonun otoklav sonrası kolaylıkla gerçekleştiğidir.

Bu çalışmada viral DNA üzerindeki etkili araştırılan bir diğer fiziksel koşul olan ultraviyole radyasyon bir dezenfeksiyon yöntemi olarak

laboratuvarlarda ve su dezenfeksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada viral DNA, 20 cm gibi yakın bir mesafeden UV'ye maruz bırakılmış ve maruziyet süreleri olan 30 dakika, 1 ve 4 saat sonunda tekrar amplifiye olamamıştır. UV ışınlarının aracı bir yüzey olmadan direkt olarak ekstraksiyon ürününe ulaşması sağlanmıştır. DNA'nın ultraviyole radyasyona maruz kalması sonucunda oluşan lezyonlardan en çok gözlenen, pirimidin (6-4) pirimidon foto ürünleri ve oldukça mutajenik olan siklobütan pirimidin dimerleridir. Yapılan bir çalışmada ligasyon aracılı PCR yöntemleri ile bu lezyonların varlığı gösterilmiş ve nükleotid düzeyinde tespitleri gerçekleştirilmiştir (Besaratnia ve Pfeifer, 2012). UV radyasyon, tozsuz hava ve temiz su içinden kolaylıkla geçmesine rağmen; kire ve yağ tabakalarına, bulanık solüsyonlara ve plastik gibi maddelere etkin olarak geçemezler. Bu bağlamda moleküler düzeyde araştırmaların yapıldığı laboratuvarlarda UV radyasyonun direkt olarak uygulandığı yüzeyler DNA kontaminasyonun önlenmesinde etkin rol oynamaktadır. Yine de hücre kültüründe kendi genomunu tamir etme kabiliyetinde olan adenovirus gibi çift sarmallı DNA viruslarının UV dezenfeksiyonu daha zorlayıcıdır (Eischeid ve ark., 2009).

Polioksietilen (20) sorbitan monolaurat (tween 20), farmasötik formülasyonlar, gıda ve kozmetik endüstrilerinde bir emülsifiye edici ve stabilizatör olarak yaygın olarak kullanılan iyonik olmayan bir yüzey aktif maddedir (Eskandani ve ark., 2013). Bu çalışmada kimyasal ajan olarak kullanılan tween 20 ile viral DNA'ya yapılan işlem sonucunda PCR'da pozitiflik tespit edilemedi. Triton X-100, tween 20 gibi iyonik olmayan deterjanlar Taq polimeraz enzimini stabilize eder ve %0.1-1'lik kullanımı verimi artırılabilir. Bunun yanında istenmeyen nonspesifik amplifikasyon da artabilir (Bickley ve Hopkins, 1999). Tween 20 DNA ekstraksiyon metodlarında solüsyonların içerisinde ve PCR reaksiyonlarında mix içerisinde sulandırılarak kullanılan ve düşük düzeylerde bulunabilen bir ajan olmasına karşın bu çalışmada saf halde kullanılması viral DNA tespitine engel olmuştur (Xin ve ark., 2003).

Sonuç olarak viral DNA ekstraksiyonunda pek çok farklı ekstraksiyon kiti ve yöntem kullanılması viral DNA tespitine olanak sağlamaktadır. Bunlar içerisinde araştırılan yöntemlerden en yüksek verimliliğe sahip olan konvansiyonel yöntem olarak tespit edildi. Ticari kitler ile konvansiyonel ekstraksiyon metodlarının da karşılaştırıldığı bu çalışma nükleik asit eldesi amacıyla konvansiyonel metodun sıklıkla tercih edilebilir olduğunu göstermiştir. Laboratuvara ulaşan örneklerden yüksek verimli DNA amplifikasyonu isteniyorsa viral DNA; UV radyasyon ve kimyasal ajanlara maruz bırakılmaması olumlu katkı sağlayacaktır. Elde

edilen veriler ışığında, çalışmalarda, daha az zaman ve iş gücü gerektiren, tüm laboratuvarlarda standart olarak uygulanabilen ekstraksiyon metotlarının tercih edilmesi önerilmektedir.

Kaynaklar

- Akkutay-Yoldar Z, Oguzoglu TC, Akça Y, 2016: Diagnosis and phylogenetic analysis of orf virus in Aleppo and Saanen goats from an outbreak in Turkey. *Virolog Sin*, 31(3), 270-273.
- Arnal C, Ferre-Aubineau V, Besse B, Mignotte B, Schwartzbrod L, Billaudel S, 1999: Comparison of seven RNA extraction methods on stool and shellfish samples prior to hepatitis A virus amplification. *J Virol Methods*, 77(1), 17-26.
- Besaratinia A, Pfeifer GP, 2012: Measuring the formation and repair of UV damage at the DNA sequence level by ligation-mediated PCR. In "DNA Repair Protocols", Ed; Bjergbaek, L, Humana Press, Totowa, NJ, pp. 189-202.
- Bickley JA, Hopkins DA, 1999: Inhibitors and enhancers of PCR. In "Analytical Molecular Biology: quality and validation", Ed; Saunders GC and Parkers HC., pp.81-102.
- Chacon-Cortes D, Griffiths LR, 2014: Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *J Biorep Sci App Med*, 2, 1-9.
- Choi WS, Rodríguez RA, Sobsey MD, 2014: Persistence of viral genomes after autoclaving. *J Virol Methods*, 198, 37-40.
- Deng MY, Wang H, Ward GB, Beckham TR, McKenna TS, 2005: Comparison of six RNA extraction methods for the detection of classical swine fever virus by real-time and conventional reverse transcription-PCR. *J Vet Diagn Invest*, 17(6), 574-578.
- Eischeid AC, Meyer JN, Linden KG, 2009: UV disinfection of adenoviruses: molecular indications of DNA damage efficiency. *Appl Environ Microbiol*, 75(1), 23-28.
- Eskandani M, Hamishehkar H, Ezzati Nazhad Dolatabadi J, 2013: Cyto/Genotoxicity study of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (tween 20). *DNA Cell Biol*, 32(9), 498-503.
- Inoshima Y, Morooka A, Sentsui H, 2000: Detection and diagnosis of parapoxvirus by the polymerase chain reaction. *J Virol Methods*, 84, 201-208.
- Knowles DP, 2011: Poxviridae. In "Fenner's Veterinary Virology", 4th Eds., Academic Press, Elsevier, Ed; N. Maclachlan N, Dubovi EJ, pp. 151-65.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ, 1999: Veterinary Virology. Third ed. San Diego: Academic Press, pp. 335-342.
- Reha-Krantz LJ, 2010: DNA polymerase proofreading: Multiple roles maintain genome stability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(5), 1049-1063.
- Sambrook J, Russell DW, 2001: Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Scherer K, Johne R, Schrader C, Ellerbroek L, Schulenburg J, Klein G, 2010: Comparison of two extraction methods for viruses in food and application in a norovirus gastroenteritis outbreak. *J Virol Methods*, 169(1), 22-27.
- Skinner MA, Buller RM, Damon IK, Lefkowitz EJ, McFadden G, Mc Innes CJ, Mercer AA, Moyer RW, Upton C, 2012: Poxviridae. In: Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (Eds.), Elsevier Academic Press, San Diego, pp. 291-309.
- Wilson IG, 1997: Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Appl Environ Microbiol*, 63(10), 3741.
- Xin Z, Velten JP, Oliver MJ, Burke JJ, 2003: High-throughput DNA extraction method suitable for PCR. *Biotechniques*, 34(4), 820-827.
- Zimmer C, 2015: A planet of viruses. University of Chicago Press, pp. 1-30.

***Yazışma Adresi:** Zeynep AKKUTAY-YOLDAR
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Dışkapı, 06110, Ankara, Türkiye.
E-mail: akkutay@ankara.edu.tr

Yüksek Yağlı Diyet ile Beslenen Ratlarda Mate (*Ilex paraguariensis*) Çayının Obeziteyi Önleyici Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması

Ahmet UYAR^{1*}, Erhan ESİM²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

Geliş Tarihi: 02.05.2018

Kabul Tarihi: 19.11.2018

Özet: Bu çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda, Mate yaprağı (*Ilex paraguariensis*) çayının obezite oluşumu üzerine etkisi histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırıldı. Bu amaçla 32 adet Wistar albino rat; Kontrol (K) (n: 8), Yüksek Yağlı Diyet (YYD) (n: 8), YYD+Mate (YYD+M) (n: 8) ve Mate (M) (n: 8) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu ratlar standart pelet yemle beslendi. YYD ve YYD+M grubu ratlara, 300 g/kg oranında tereyağı eritilip yeme katılarak enerji değeri yüksek (4165 kcal/kg) hale getirilen pelet yem verildi. YYD+M ve M grubu ratlar ise 3 gr/kg vücut ağırlığı olacak şekilde günlük hazırlanan Mate yaprağı (*Ilex paraguariensis*) çayı orogastrik sonda ile verildi. Çalışma süresince ratların canlı ağırlık artışları izlendi. Histopatolojik olarak karaciğerlerden alınan doku örneklerinde YYD grubunda yağlanma, hidropik dejenerasyon ve bazı hepatositlerde koagülasyon nekrozları görülürken, YYD+M grubunda tek tük yağlanma görüldü. Biyokimyasal analizlerde ALT, AST, ALP, LDH, GGT, kolesterol, trigliserit, HDL ve açlık kan glukoz düzeyleri YYD grubunda kontrol grubuna göre belirgin düzeyde yüksek, YYD+M grubunda ise kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, YYD ile birlikte verilen Mate yaprağı (*Ilex paraguariensis*) çayının ratlarda obezite oluşumunun önüne geçebileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Antiobesite etki, Mate, Yüksek yağlı diyet.

Histopathological and Biochemical Investigation of the Effects of Mate (*Ilex paraguariensis*) Tea on Antiobesity Effect in Rats Fed with High Fat Diet

Abstract: The aim of this study was to investigate the preventative effect of Mate tea (*Ilex paraguariensis*) tea on obesity development in rats fed with high fat diet by histopathological and biochemical methods. In this study, 32 Wistar albino rats were divided into four groups as Control Group (C) (n:8), High Fat Diet Group (YYD) (n: 8), High Fat Diet+Mate Group (YYD+M) (n: 8) and Mate Group (M) (n: 8). YYD and YYD+M group rats received YYD (4165 kcal/kg) containing fat (300 g/kg) for 8 weeks. The daily preparation of Mate leaf (*Ilex paraguariensis*) tea at the dose of 3 g/kg body weight in rats of group YYD+M and M group was given by orogastric catheter. During the study, weight gain of the rats was monitored. Hepatoprotective effect by *Ilex paraguariensis* tea was further supported by the almost normal histology in YYD+M group as compared to the degenerative changes such as fattenings, hydropic degeneration and coagulation necrosis of some hepatocyte in the YYD treated rats. Decreased levels of blood glucose, AST, ALT, ALP, LDH, GGT, cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and glucose were detected in YYD+M group. These findings suggested that simultaneous treatment of *Ilex paraguariensis* attenuated hepatic fat accumulation in YYD fed rats.

Keywords: Antiobesity effect, High-fat diet, *Ilex paraguariensis*.

Giriş

Kentleşme ve sanayileşme, insanların yaşam tarzında obeziteye yatkınlık oluşturabilecek önemli değişikliklere neden olmuştur. Fiziksel aktivitenin azalması, yiyeceklerin kolay ulaşılabilir, bol ve ucuz olması bu değişikliklerin başlıcalarıdır. Hızlı yemek yeme alışkanlığı, hazır gıda tüketiminin artması ve yiyecek maddelerinin yüksek oranda yağ ve şeker içermesi fazla kalori alımını artırmaktadır (Bell ve ark., 2005). Enerji yönünden zengin gıda tüketimi ve fiziksel aktivite eksikliği nedeniyle günümüzde aşırı kilolu/obez kişi sayısı artmıştır. Dünya Sağlık

Örgütü (WHO) raporlarında obezitenin 1980 yılından sonra 2 kat arttığı, 2008 yılında ise 1.8 milyar insanın aşırı kilolu, 500 milyon insanın ise obez olduğu bildirilmiştir. 2012 yılı için 5 yaş altındaki 42 milyon çocuğun aşırı kilolu ya da obez olduğu rapor edilmiştir (Adıyaman, 2016).

Kandaki yüksek kolesterol düzeyini düşürmek ve buna bağlı olarak oluşan patolojileri önlemek amacıyla medikal uygulamalar (statinler) ve diyet gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla sibutramin ve orlistat adlı iki farklı ilaç

kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylı sibutramin ve orlistat adlı iki farklı ilaç bulunmaktadır. Ancak bu ilaçların kullanımına bağlı olarak kilo kaybı orta derecededir (Pagotto ve ark., 2008). Kilo kaybının orta derecede olması ve medikal uygulamalarda kullanılan orlistat ve sibutraminin yan etkilerinin fazla olması insanları oldukça rağbet gören alternatif tıbbi yönlendirmiştir. Bütün dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de bitkisel yöntemler oldukça rağbet görmektedir. Yan etkilerinin az olması, kullanım kolaylığı, kolay bulunabilmesi özellikle bitkisel seçeneklerin tercih edilmesinde etkili olmuştur (Padwal ve Majumdar, 2007). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de Mate olarak bilinen "*Ilex paraguariensis*" bitkisi, kilo alımını engellemek veya kilo vermek amacıyla çay şeklinde kullanılan bitkilerdendir (Baytop, 1994). Şili, Peru, Arjantin, Brezilya ve Çin gibi ülkelerde doğal olarak yetişmekte olan Mate bitkisi (Evans, 2009; Padwal ve Majumdar, 2007), ülkemizde Trabzon-Maçka bölgesinde yetişmektedir (Baytop, 1994; Davis, 1967). Dünyanın değişik bölgelerinde hierba mate, yerba mate, erva maté, kaiha, chimarrao ve terere (Bracesco ve ark., 2001), Jesuit's Brazil Çayı, St. Bartholomew's çayı, Paraguay çayı (LaGow, 2004), Mate ve Hervea (Wichtl, 2004) gibi isimlerle bilinmektedir. *I. paraguariensis* bitkisinin üzerinde yapılan çalışmalarda bu bitkinin kimyasal bileşeninde özellikle fenolik asitler, flavon ve flavonoller, saponinler (Arçari ve ark., 2011), pürin alkaloidleri, kateşik tanenler, klorojenik asit ve türevleri (Bastos ve ark., 2007), kafeik asit (Anesini ve ark., 2012; Arçari ve ark., 2011) tespit edilmiştir. Halk arasında vücuda zindelik vermek ve vücuttan su atılımını artırarak zayıflama amaçlı kullanılmasının yanısıra (Davis, 1967), ülser ve enflamasyona karşı krem (Vieira, 2008) haricen lapa şeklinde de kullanılmaktadır (LaGow, 2004). Yapılan bilimsel çalışmalarda bu bitkinin; antioksidan (Filip ve ark., 2000), antienflamatuvar (Arçari ve ark., 2011), antimikrobiyal (Martin ve ark., 2013), antidepresan (Reis ve ark., 2014), antiromatizmal (Newall ve Anderson, 1996) ve sitotoksik (Mejia ve ark., 2010; Ramirez-Mares ve ark., 2004) etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bitki bu özellikleri nedeniyle; selülit ve yaşlanmaya karşı (Bracesco ve ark., 2001), gastrointestinal problemlerde (LaGow, 2004), zihinsel ve fiziksel yorgunlukta (Blumenthal, 1998), açlık ve susuzluk hissini gidermede (Andersen ve Fogh, 2001) kullanılmıştır. Mate'nin normal dozlarda kullanıldığında herhangi bir probleme neden olmadığı, ancak çok fazla tüketildiğinde,

korku ve gerginlik durumları gibi psikolojik yan etkilere, uykusuzluğa ve palpasyona sebep olduğu bildirilmiştir (Çubukçu ve ark., 2002).

Bu çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen ratlarda Mate (*Ilex paraguariensis*) çayının obeziteyi önleyici etkisi histopatolojik ve biyokimyasal olarak araştırıldı.

Materyal ve Metot

Deney hayvanları: Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izin (2015/14) alındıktan sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden ortalama 260-285 gr ağırlığında Wistar-albino türü 32 adet rat temin edildi. Deneme süresince 12;12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırılması, 22±2 °C ısı, %45-50 nemi otomatik olarak ayarlanmış odalarda barındırılan ratlar için yem ve su alımı serbest (ad libitum) bırakıldı. Ratlar çalışma başlangıcında tartılarak ağırlık bakımından eşit dağılımlı olacak şekilde gruplara ayrıldı.

Bitki materyali ve yüksek yağlı diyet (YYD) hazırlanması: Bitki materyali olarak Smart Kimya Tic. ve Danışmanlık Ltd. Şti. (Hammaddeler.com)'den temin edilen Mate yaprağı (*Ilex paraguariensis*) kullanıldı. Günlük olarak uygulama öncesinde 3 gr/kg vücut ağırlığı dozda Mate yaprağı çayı 8'er rat için hesaplanarak herbir rat için 2 ml/kg oral yoldan verilecek şekilde toplam 50 ml distile suda bir homojenizatör yardımıyla hazırlandı (Arçari ve ark., 2009). Ticari bir yem üreticisinden temin edilen standart pelet yem öğütüldükten sonra 300 g/kg oranında tereyağı eritilip yeme katılarak enerji değeri (4165 kcal/kg) yüksek hale getirilen pelet yem haftalık olarak hazırlandı (Gunbatar ve Bayiroglu, 2014). Çalışmada kullanılan rat yemi içerikleri ve enerji değeri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan rat yemi içerikleri ve enerji değeri.

Enerji (kcal/kg)	4165
Ham yağ (%)	41.56
Ham protein (%)	18.45
Ham selüloz (%)	6.72
Ham kül (%)	5.46

Grupların oluşturulması: Ratlar her grupta 8'er adet olmak üzere dört gruba ayrıldı. Kontrol grubu ratlar standart rat pelet yemiyle beslenirken, Yüksek yağlı diyet (YYD) grubu ratlar yüksek yağlı diyet ile beslendi. YYD+Mate grubu ratlar ise yüksek yağlı diyet ile birlikte Mate yaprağı çayı günlük orogastrik gavaj ile verildi. Mate grubu

ratlara, standart pelet yem ile birlikte Mate yaprağı çayı günlük orogastrik gavaj ile verildi. Çalışmaya 8 hafta süreyle devam edildi.

Denemenin 0., 28. ve 60. günlerinde ratlar tartıldı ve açlık kan glukoz düzeyleri ölçüldü.

Tablo 2. Mate çayının bazı serum biyomarkırları üzerine etkisi.

Testler	Gruplar			
	Kontrol (n=8)	YYD (n=8)	YYD+M (n=8)	M (n=8)
ALT (U/L)	32.75±0.86	64.33±4.78 ^a	44.20±3.40 ^{ab}	36.50±1.56
AST (U/L)	86.25±3.12	144.34±10.36 ^a	120.10±5.41 ^{ab}	85.25±2.60
GGT (U/L)	4.00±0.40	9.67±0.88 ^a	6.20±0.38 ^{ab}	3.75±0.25
ALP (U/L)	199.00±17.56	416.84±34.40 ^a	259.40±26.37 ^{ab}	204.00±12.74
LDH (U/L)	519.25±150.19	1055.67±96.05 ^a	658.80±42.63 ^{ab}	487.50±75.05
Kolesterol (CHOL) (mg/dL)	52.50±0.65	82.00±1.46 ^a	63.60±4.18 ^{ab}	51.50±2.10
LDL- kolesterol (mg/dL)	22.43±1.09	39.52±1.48 ^a	28.17±1.43 ^{ab}	21.15±1.36
HDL- kolesterol (mg/dL)	24.73±1.30	15.50±2.63 ^a	21.40±3.11 ^{ab}	25.10±1.36
Trigliserid (mg/dL)	103.75±14.43	216.00±43.16 ^a	176.40±14.42 ^{ab}	120.75±5.33
Glukoz (mg/dL)	109.75±7.53	334.50±15.25 ^a	215.10±10.70 ^{ab}	106.75±4.20

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05.

b: YYD grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05.

Tablo 3. Grupların günlere göre kan glukoz (mg/dL) düzeyleri ile standart hataları.

Glukoz	Gruplar			
	Kontrol (n=8)	YYD (n=8)	YYD+M (n=8)	M (n=8)
1.GÜN	109.25±4.11	100.50±3.64	99.48±2.98	107.50±3.07
28.GÜN	108.00±35.54	296.75±22.02 ^a	208.50±19.52 ^{ab}	112.00±19.41
60.GÜN	119.75±29.58	365.75±13.50 ^a	223.37±16.38 ^{ab}	116.75±20.23

a: Kontrol grubuna göre fark istatistiksel açıdan anlamlıdır (P<0.05).

b: YYD grubuna göre fark istatistiksel açıdan anlamlıdır (P<0.05).

Tablo 4. Grupların günlere göre canlı ağırlık ortalamaları (gr).

	Gruplar			
	Kontrol (n=8)	YYD (n=8) Ortalama±SD	YYD+M (n=8)	M (n=8)
1. Gün	283.00±23.56	284.50±11.20	277.75±12.61	281.50±19.50
28.GÜN	299.75±21.33	325.00±11.30 ^a	303.37±10.66 ^b	294.50±16.05 ^b
60.GÜN	322.50±17.87	395.37±10.21 ^a	349.10±11.82 ^b	326.50±12.18 ^b

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05.

b: YYD grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05.

Biyokimyasal analizler: Deneme sonunda tüm ratlar 50 mg/kg Ketamine hidroklorit+10 mg/kg dozunda Xylazine hidroklorit anestezisi altında eksangünasyon yöntemi ile sakrifiye edildi. Tüm hayvanlardan intrakardiyak yoldan kanlar alındı ve kan serumları çıkarılarak Alanin transaminaz (ALT), Aspartik transaminaz (AST), Alkalen fosfataz (ALP), Laktat dehidrogenaz (LDH) ve Gama glutamil transferaz (GGT), Trigliserit, Kolesterol (CHOL), HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol düzeyleri Biyokimya otoanalizöründe Abott marka ticari kitler kullanılarak çalışıldı.

Histopatolojik inceleme: Ratların nekropsileri yapılarak alınan karaciğer doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 72 saat süreyle fikse edildi. Rutin takip işlemi kapsamında;

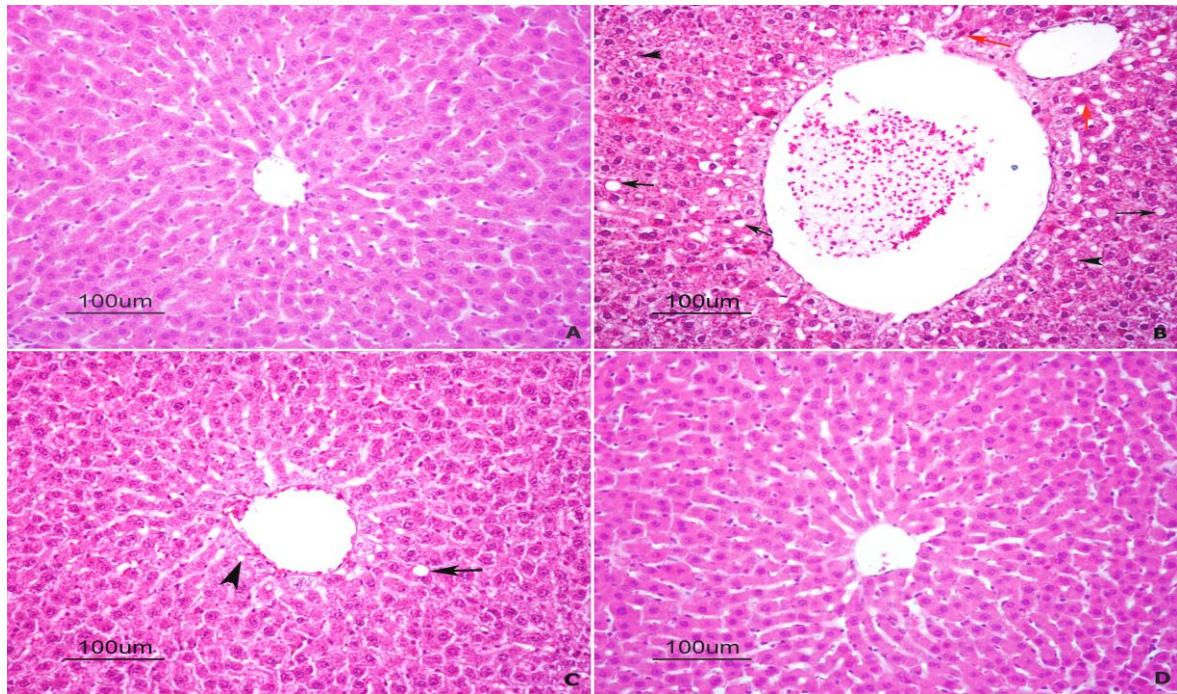
doku örnekleri alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyonları; ksilol serilerinden geçirilerek şeffaflandırılmaları sağlandı ve daha sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan mikrotomda (Leica RM 2135) 4µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H.E.) boyama tekniğine göre boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-R12) incelendi.

İstatistiksel analiz: Biyokimyasal analiz sonuçları, merkezi eğilim ve yayılım ölçülerinden olan ortalama ve standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) ile değerlendirildi. Grup ortalamaları ve canlı ağırlıklar arasındaki farkın anlamlılığı ise tek taraflı Varyans Analizi ile (Oneway ANOVA) test edildi. Tüm istatistik analizlerde SPSS-15 paket programından yararlanıldı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Bulgular

Histopatolojik bulgular: Karaciğer dokusunun mikroskopik görünümü Şekil 1 (A-D)'de sunulmuştur. Kontrol grubu (Şekil 1A) ile sadece Mate verilen gruba (Şekil 1D) ait ratların karaciğer dokusunda herhangi bir morfolojik değişikliğe rastlanılmamıştır. Bu grupların karaciğerlerinde; hepatositler ve portal alanların yapıları normal görünümde ve hepatositler de vena centralis çevresinde düzenli remark kordonları şeklinde organizasyona sahipti. Remark kordonları arasında bulunan sinüzoidler normal görünüm arz etmekteydi. YYD grubundaki ratların karaciğerlerinde ise özellikle sentrilobuler ve

midzonal bölgelerdeki hepatositlerde yağ dejenerasyonu, bazı hepatositlerde de parankim dejenerasyonu görüldü. Dejenerasyona uğrayan bazı hepatositlerin çekirdeklerinde piknotik değişikliklerin olduğu koagülasyon nekrozları tesbit edildi. Ayrıca sinüzoidal aralıklarda daralma ve Remark kordon yapısında dissosiasyon vardı (Şekil 1B). YYD+M grubundaki ratların karaciğerinde ise; sentrilobuler ve midzonal bölgelerdeki hepatositlerde nadiren yağ dejenerasyonuna ve hafif düzeyde parankim dejenerasyonuna rastlandı. Bu gruptaki ratların karaciğerleri normal histolojik yapıya yakın bir görüntü arz etmekteydi (Şekil 1C).



Şekil 1 (A-D). Karaciğerin mikroskopik görünümü. **A:** Kontrol Grubu: Karaciğerin normal histolojik görünümü, H.E. Bar=100 µm. **B:** YYD Grubu: Sentrilobüler hepatositlerin sitoplazmalarında farklı büyüklüklerde yağ birikimleri (oklar ve ok başları) ve bazı hepatositlerde koagülasyon nekrozu (kırmızı ok), hidropik dejenerasyon ve sinüzoidlerde daralma H.E. Bar=100 µm. **C:** YYD+M Grubu: Hepatositlerin sitoplazmalarında farklı büyüklüklerde çok nadir yağ birikimleri (ok ve ok başı). H.E. Bar=100 µm. **D:** Mate Grubu: Karaciğerin normal histolojik görünümü, H.E., Bar=100 µm.

Biyokimyasal bulgular: Deneme sonunda kontrol ve deney gruplarının alanin transaminaz (ALT), aspartik transaminaz (AST), alkalin fosfataz (ALP), laktat dehidrogenaz (LDH) ve gama glutamil transferaz (GGT), kolesterol, trigliserit ve HDL serum düzeyleri Tablo 2'de, belirli günlere ait kan glukoz düzeyleri Tablo 3'de sunulmuştur.

Canlı ağırlık artışı değişimleri: Kontrol ve deney gruplarının günlere göre canlı ağırlık ortalamaları ile standart hataları Tablo 4'de sunulmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Modern toplumlarda en sık görülen sağlık sorunlarından biri olan obezite, gelişmiş ve ülkemizin de dahil olduğu gelişmekte olan ülkelerde, epidemik boyutlara ulaşan ve sıklığı giderek artan ve küresel ölçekte önemli bir halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkan bir problemdir (Çayır ve ark., 2011). Obezite basit olarak enerji alımı ve harcanması arasındaki dengesizlikle bağlantılı olarak düşünülür. Bununla birlikte,

yapılan araştırmalar genetik, fizyolojik ve davranış faktörlerinin de obezitenin etiolojisinde rol oynadığı gösterilmiştir (Wilborn ve ark., 2005). Obezite kalp, karaciğer, böbrek ve pankreas gibi birçok organın lipidle infiltre olmasına neden olmaktadır (Fraulob ve ark., 2010).

Yüksek yağlı diyetle beslenmenin obezite ile çok yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir (Dyck, 2000). Xu ve ark. (2010)'nın ratlarda yaptıkları bir araştırmada, %52'si karbonhidratlar, %30'u yağlar ve %8'i proteinden yüksek yağlı diyetle, %67 karbonhidrat, %10 yağ ve %23 protein içeren kontrol diyetinin etkilerini incelemişler ve yüksek yağlı diyetle ile beslenen ratların vücut ağırlığındaki artışın kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olduğunu belirtmişlerdir. Woods ve ark. (2004), enerjinin %45'ni, Briaud ve ark. (2002) ise enerjinin %58'ni yağdan sağlanacak şekilde beslenen ratlarda kontrol grubuna göre canlı ağırlık artışı şekillendiğini bildirmişlerdir. Canlı ağırlıklardaki bu belirgin artışın, deneme süresine bağlı olarak besin ve enerji alımındaki artışla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Amin ve Nagy, 2009; Lee ve ark., 2006). Literatürde yağlı diyetle beslenen sıçanlarda canlı ağırlık artışı bildiren çalışmaların yanında (Altunkaynak ve ark., 2008; Cha ve ark., 2000), yağlı diyetle beslenmeye rağmen kilo alımının gerçekleşmediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (Omagari ve ark., 2008). Gao ve ark. (2002)'nin yaptığı çalışmada 6 ay süreyle %45 yağ içeren diyet ile beslenen sıçanların 4'ünde ağırlık artışıyla diyete bağlı obezite gelişirken, diğer 4 sıçanda ağırlık artışı gözlenmemiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise 7 ay süre ile yüksek yağ içerikli diyet ile beslenen dişi sıçanlarda beslenme döneminin sonunda bazı sıçanlarda obezite gelişmesine rağmen, bazılarında da gelişmediği bildirilmiştir (Cattaneo ve ark., 1997). Haddad ve ark. (2009), 12 hafta boyunca yüksek yağlı sıvı diyet ile nonalkolik steatohepatit oluşturmayı hedefledikleri ratlarda 200 mg/kg gün dozda silibinin+fosfatidilkolin kompleksinin etkilerine bakmışlardır. Ratlarda silibinin verilen grubun son kilosunun kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düştüğünü, fakat aynı çalışmada yüksek yağlı diyet (YYD) grubuna göre silibinin grubunda deneme sonunda kiloda düşme olmakla birlikte anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Kapsaisin de obez sıçanlarda vücut yağ miktarını ve vücut ağırlığını azaltığı bildirilmiştir (Seyithanoğlu, 2015). Sunulan bu çalışmada YYD ile beslenen gruptaki kilo artışı, standart yem ile beslenen kontrol grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi (P<0.05). Ayrıca YYD ile birlikte Mate verilen gruptaki sıçanların kilo artışı kontrol grubuna yakın olduğu görülerek

yüksek yağlı beslemeyle birlikte Mate verilmesinin kilo artışı engellediği görülmüştür.

Karaciğerin histopatolojik incelemelerinde hepatositlerin %5'ten fazlasında yağ vakuollerinin görülmesi karaciğer yağlanması olarak adlandırılmaktadır (Adams, 2005). Yağlı karaciğer hastalığında basit steatozisten, steatohepatit, ileri derecede fibrozis ve siroza kadar klinikopatolojik bir tablo görülebilmektedir (Duvnjak ve ark., 2007; Tiniakos, 2010). Yağlanma sonucu oluşan inflamasyon ve fibrozis; oksidatif stres, mitokondrial fonksiyon bozuklukları, TNF- α gibi sitokinler ile adiponektin, leptin gibi hormonlar nedeniyle olduğu bildirilmektedir (Sonsuz, 2007). Ratlarda yapılan bir çalışmada (Xu ve ark., 2010), %30'u yağlardan oluşan YYD ile beslenen ratlarda özellikle 24-48.haftalar arasında şiddetli steatozis, 16. haftadan itibaren ise hepatik fibrozis bulguları görülmeye başlandığı bildirilmiştir. Benzer şekilde %30 yağ içeren yüksek yağlı diyet ile yapılan çalışmada da, yüksek yağlı diyet gruplarında; sinüzoidlerde dilatasyon, vena centralis ve portal aralıklarda mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibrozis gözlemlendiği bildirilmiştir (Altunkaynak, 2005). Omagari ve ark. (2008)'nin, yüksek karbonhidratlı diyet ile yüksek yağlı diyeti karşılaştırmak amacıyla yaptıkları bir çalışmada her iki grupta da steatohepatitis ile ilgili steatozis, fibrozis ve inflamasyon bulgularına rastlanıldığı, ancak gruplar arasında hem kilo alımı açısından hem de karaciğerde histopatolojik olarak meydana getirdikleri steatoz sıklığı, lobüler inflamasyon, hepatosit balonlaşması ve fibroziste anlamlı bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada YYD grubundaki sıçanların tamamının karaciğer hepatositlerinde özellikle periasiner bölgede yağ vakuelleri ve hidropik dejenerasyondan dolayı sinüzoidal aralıklarda daralma ve Remark kordon yapısında dissosiasyon saptanması, fibrozis hariç yukarıda araştırmacıların bildirdikleri histopatolojik bulgular ile paralellik arzettiği ancak fibrozis götülmemesi yönünden paralellik arz etmediği görülmüştür.

Son yıllarda yağlı diyet uygulanarak oluşturulmuş deneysel yağlı karaciğer modeli çalışmalarında kullanılan bazı bitkilerin karaciğer yağlanmasını önlediği vurgulanmaktadır (Sharma ve ark., 2013). Kafein ve kafein benzeri etken maddeleri ihtiva eden bitkiler uygun dozda kullanıldıklarında kilo kontrolüne yardımcı olabileceği, örneğin yeşil çayın içerdiği epigallocateşingallat ve kafein nedeniyle yağ metabolizmasını arttırarak kilo kontrolüne neden olduğu bildirilmektedir (Sayın, 2012). Benzer şekilde Meksika biberi adıyla bilinen ve içinde kapsaisin bulunan preparatların da termojenezisi arttırarak kilo kontrollüne destek olabileceği

görülmüştür (Aslan ve Orhan, 2010). Silybum marianum ekstresinin obezite üzerinde etkisinin araştırıldığı çalışmada yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda lipit metabolizmasını, leptin ve insülin düzeylerini düzenleyerek kandaki obeziteyle ilişkili parametreleri de düzeltmesiyle karaciğerde harabiyet gözlenmediği bildirilmiştir (Sayın, 2012). Ejaz ve ark. (2009)'nın yaptıkları çalışmada yağlı diyetle birlikte kurkumin uygulamasının farelerde hepatik steatozisi azalttığı gösterilmiştir. Sunulan bu çalışmada da YYD+M grubundaki sıçanların tamamının karaciğer hepatositlerinde YYD grubundakine oranla hafif derecede mikroveziküler yağlanma ve hidropik dejenerasyonla birlikte bazı hepatositlerde hafif düzeyde parankim dejenerasyonu görülmesi, karaciğerin normal histolojik yapısında görülen lopçuklu görünümü ile birlikte Remark kordon yapısının bozulmamış olması ve kordonlar arasındaki sinüzoidlerin normal histolojik yapıda olması, yangı hücreleri, fibrozis ve hepatositlerde nekroza rastlanılmaması; yüksek yağlı diyet ile birlikte Mate verilmesinin karaciğerde meydana gelebilen hasarları önleyebildiği anlaşılmaktadır.

Yapılan çalışmalarda intraselüler enzimlerden ALT, AST, LDH ve GGT; hepatositlerdeki hasara bağlı olarak seruma salınmakta ve bu enzimlerin aktivitelerindeki artışın ise karaciğer hasarının göstergesi olduğu ileri sürülmektedir (Aras ve Ersen, 1992; El-Sakka ve ark., 2002). Obezite oluşturulan ratların karaciğerinde tespit edilen en yaygın biyokimyasal bulgular; ALT, AST, ALP ve GGT normal sınırın 2-3 katı kadar artışlardır (El-Sakka ve ark., 2002). Silymarin ile yapılan bir çalışmada; hepatoselüler kansere bağlı artan trigliserid, LDL ve VLDL seviyelerini geriletmediği ve azalan HDL düzeyini arttırdığı gösterilmiştir (Adams ve ark., 2005). Bir diğer çalışmada yüksek yağlı diyet grubunda trigliserid, total ve VLDL kolesterol düzeylerinde yükselme ve HDL kolesterol düzeyinde kontrol grubuna göre düşüşler gözlemlendiği, yüksek yağlı diyetle birlikte *Achillea wilhelmsii* ekstresi uygulaması ile trigliserid, total ve VLDL kolesterol düzeylerinde diyet grubuna göre düşüşler gözlemlendiği dolayısıyla bu bitki ekstresinin kan lipitleri üzerinde düzenleyici bir rolü olduğu ifade edilmiştir (Suzergoz ve ark., 2013). Yüksek kolesterollü diyetle beslenen ratlarda silymarin (Adams ve ark., 2005) ve ginsengin (Altin ve ark., 2014) etkisinin araştırıldığı çalışmalarda yüksek oranda kolesterollü diyetle birlikte ginseng uygulamasının serum total kolesterol, LDL-kolesterol ve trigliserid düzeyinde meydana gelen düşüşler ile serum HDL kolesterol düzeyinde artışlar görülmesi, bu bitkilerin lipid profili üzerine düzenleyici etkileri olabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Sunulan çalışmada YYD grubu ile

kontrol grubu arasında ALT, AST, ALP ve GGT değerleri karşılaştırıldığında; YYD grubunda istatistiksel olarak yüksek, YYD+Mate grubunda ise kontrol ile benzer ya da kontrole yakın değerler bulundu. Bu değerlerin YYD grubunda yüksek olması; bu grupta yağlanmanın/hasarın olduğunu, YYD ile birlikte Mate verilen grupta ise hepatositlerin bu yağlanmadan/hasardan kısmen korunduğunu göstermektedir. Mevcut çalışmada YYD modeli oluşturulan grupta serum kolesterol, LDH, HDL ve trigliserid seviyelerinin de kontrol grubuna göre yüksek olduğu YYD ile birlikte Mate verilen grupta bu değerlerin kontrol grubuna yakın olduğu tespit edilmiştir. Bu biyokimyasal veriler doğrultusunda, YYD grubunda karaciğerde meydana gelen hasar nedeniyle serum enzimleri ve lipit profili biyomarkırlarının arttığı, fakat YYD+M grubunda Mate'nin hepatoprotektif ve antihiperlipidemik etkisi sayesinde karaciğer hasarlarının engellendiği söylenebilir.

Obezitenin en önemli bulgularından biri de santral yağ dağılımı kabul edilir. Santral yağ dağılımı obezite için önemli bir faktör olarak kabul edilirken glukoz dengesinin bozulmasında da önemli rol oynadığı düşünülmektedir. En önemli klinik bulgular arasında plazma serbest yağ asidi miktarında artış, karaciğer glukoz üretiminde artış ve periferik insülin direnci yer almaktadır (Reaven, 1998). Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda obeziteyle birlikte insülin direncinin artmasıyla serum glukoz düzeyinin de arttığı bildirilmiştir (Gelardi ve ark., 1990). Sunulan bu çalışmada serum glukoz düzeyinin YYD grubunda arttığı, YYD ile birlikte Mate verilen grupta serum glukoz düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek ancak YYD grubuna göre daha düşük düzeyde olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda Mate (*Ilex paraguariensis*) bitkisinin obezite oluşumu üzerine koruyucu etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, bu bitkinin karaciğer yağlanmasını ve kilo artışını büyük oranda engellediği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, 2005: The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: A population-based cohort study. *Gastroenterol*, 129, 113-21.
- Adıyaman F, 2016: Dünya sağlık örgütü avrupa obezite ile mücadele Bakanlar konferansının öncesi ve sonrasında Obezitenin gazetelerde sunumu. *Selçuk Üniv İletişim Fak Akademik Derg*, 9(3), 204-223.
- Altin M, Keskin E, Uluisik D, 2014: Effects of ginseng on TNF- α , leptin and plasma lipid levels of rats fed a cholesterol-rich diet. *Turk J Sport Exe*, 16(2), 59-62.

- Altunkaynak ME, Özbek E, Altunkaynak BZ, 2008: The effects of high-fat diet on the renal structure and morphometric parametric of kidneys in rats. *J Anat*, 212, 845-852.
- Altunkaynak Z, 2005: Effects of High Fat Diet Induced Obesity on Female Rat Livers (A Histochemical Study). *Eur J Gen Med*, 2(3), 100-109.
- Amin KA, Nagy MA, 2009: Effect of Carnitine and herbal mixture extract on obesity induced by high fat diet in rats. *Diabetol Metab Syndr*, 16, 1(1), 1-17.
- Andersen T, Fogh J, 2001: Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *J Hum Nutr Diet*, 14(3), 243-250.
- Anesini C, Turner S, Cogoi L, 2012: Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (Ilex paraguariensis). *Food Sci Technol*, 45(2), 299-304.
- Aras K, Ersen G, 1992: Klinik Biyokimya, Tas Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara, 338.
- Arçari D, Bartchewsky W, Tanila W, Oliveira KA, DeOliveira CC, Gotardo ÉM, Pedrazzoli J Jr, Gambero A, Ferraz LF, Carvalho Pde O, Ribeiro ML, 2011: Anti-inflammatory effects of yerba mate extract (Ilex paraguariensis) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. *Mol Cell Endocrinol*, 335(2), 110-115.
- Arçari DP, Bartchewsky W, dos Santos TW, Oliveira KA, Funck A, Pedrazzoli J, de Souza MF, Saad MJ, Bastos DH, Gambero A, Carvalho PO, Ribeiro ML, 2009: Antiobesity effects of yerba maté extract (Ilex paraguariensis) in highfat diet-induced obese mice. *Obesity*, 17(12), 2127-2133.
- Aslan M, Orhan N, 2010: Obezite Tedavisine Yardımcı Olarak Kullanılan Doğal Ürünler. *Mised*, 23-24, 91-105.
- Bastos DHM, Oliveira DD, Matsumoto RLT, Carvalho PO, Riberio ML, 2007: Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. *Med Aromat Plant Sci Biotechnol*, 1(1), 37-46.
- Baytop T, 1994: Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Ankara. Türk Dil Kurumu Yayınları 140. Bell CG, Walley AJ, Froguel P, 2005: The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet*, 6, 221-34
- Blumenthal M, 1998: The Complete German Commission E Monographs. Boston: Massachusetts, 167-168.
- Bracesco N, Sanchez AG, Contreras V, 2001: Recent advances on Ilex paraguariensis research: Minireview. *J Ethnopharmacol*, 136(3), 378-384.
- Briaud I, Kelpel CL, Johnson LM, 2002: Differential effects of hyperlipidemia on insulin secretion in islets of Langerhans from hyperglycemic versus normoglycemic rats. *Diabetes*, 51, 662-668.
- Cattaneo L, De Gennaro Colonna V, Müller EE, Cochi D, 1997: Hypothalamopituitary-IGF-1 axis in female rats made obese by overfeeding. *Life Sci*, 61(9), 881-889.
- Cha MC, Chou CJ, Boozer CN, 2000: High-fat diet feeding reduces the diurnal variation of plasma leptin concentration in rats. *Metabolism*, 49, 503-507.
- Çayır A, Atak N, Köse SK, 2011: Beslenme ve diyet kliniğine başvuranlarda obezite durumu ve etkili faktörlerin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 64(1), 13-19.
- Çubukçu B, Sarıyar G, Meriçli AH, 2002: Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi, 5.
- Davis PH, 1967: Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh University Press, 2, 541-542.
- De la Maza MP, Hirsch S, Petermann M, Suazo M, Ugarte G, Bunout D, 2000: Changes in microsomal activity in alcoholism and obesity. *Alcohol Clin Exp Res*, 24(5), 605-610.
- Duvnjak M, Lerotić I, Baršić N, Tomašić V, Jukić LV, Velagić V, 2007. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 13(34), 4539-4550.
- Dyck DJ, 2000: Dietary fat intake, supplements and weight loss. *Can J Appl Physiol*, 25, 495-523.
- Ejaz A, Wu D, Kwan P, Meydani M, 2009: Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. *J Nutr*, 139(5), 919-25.
- El-Sakka S, Salem Eel-D, Abdel-Rahman MS, 2002: In vitro hepatotoxicity ofalachlor and its by-product. *J Appl Toxicol*, 22, 31-35.
- Evans WC, 2009. Trease and Evans Pharmacognosy (Eighth Edition). England: Elsevier Health Sciences, 410-411.
- Filip R, Lotito SB, Ferraro G, Cesar GF, 2000: Antioxidant activity of Ilex paraguariensis and related species. *Nutr Res*, 20(10), 1437-1446.
- Fraulob JC, Ogg-Diamantino R, Fernandes-Santos C, 2010: A mouse model of metabolic syndrome: insulin resistance, fatty liver and Non-Alcoholic Fatty Pancreas Disease (NAFPD) in C57BL/6 mice fed a high fat diet. *J Clin Biochem Nutr*, 46, 212-223
- Gao J, Ghibaudi L, van Heek M, Hwa JJ, 2002. Characterization of diet-induced obese rats that develop persistent obesity after 6 months of high-fat followed by 1 month of low-fat diet. *Brain Res*, 936, 87-90.
- Gelardi NL, Cha CJM, Oh W, 1990: Glucose metabolism in adipocytes of obese offspring of mild hyperglycemic rats. *Pediatr Res*, 28(6), 641-645.
- Gunbatar N, Bayiroglu F, 2015: The Effect of a Highly Saturated Fat Diet and Intermittent Fasting Diet on Experimental Colon Cancer Development and Some Serum Inflammation Markers in Rats, Adiponectin and Lipid Metabolism. *Van Vet J*, 26(3),123-127.
- Haddad Y, Vallerand D, Brault A, Haddad PS, 2009: Antioxidant and Hepatoprotective Effects of Silibinin in a Rat Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. Oxford University Press, 35, 98-115.
- LaGow B, 2004: PDR for Herbal Medicines (Third edition). Montvale, New Jersey. Thomson Medical Economics, 559-560.
- Lee, JS, Lee MK, Ha TY, 2006: Supplementation of whole persimmon leaf improves lipid profiles and suppresses body weight gain in rats fed high-fat diet. *Food Chem Toxicol*, 44, 1875-1883.
- Martin JGP, Porto E, de Alencar SM, da Gloria EM, Correa CB, Cabral ISR, 2013: Antimicrobial activity of yerba mate (Ilex paraguariensis A.St.-Hil.) against food pathogens. *Rev Argent Microbiol*, 45, 93-98.

- Mejia E, Songa Y, Hecka C, 2010: Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): Phenolics, antioxidant capacity and in vitro inhibition of colon cancer cell proliferation. *J Funct Foods*, 2, 23-34.
- Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD, 1996: Herbal Medicines. Mate. London: The Pharmaceutical Press, 189-190.
- Omagari K, Kato S, Tsuneyama K, 2008: Effect of a Long-Term High-Fat Diet and Switching from a High-Fat to Low-Fat, Standard Diet on Hepatic Fat Accumulation in Sprague-Dawley Rats. *Dig Dis Sci*, 53, 3206-3212.
- Padwal RS, Majumdar SR, 2007: Drug treatments for obesity: orlistat, sibutramine, and rimonabant. *Lancet*, 369(9555), 71-7.
- Pagotto U, Vanuzzo D, Vicennati V, 2008: Pharmacological therapy of obesity. *G Ital Cardiol (Rome)*, 9(4), 83-93.
- Ramirez-Mares MV, Chandra S, de Mejia EG, 2004: In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. *Mutat Res* 554(1), 53-65.
- Reaven GM, 1998: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37, 1595-1607.
- Reis EDE, Neto FWS, Cattani VB, Peroza LR, Busanello A, Leal CQ, Boligon AA, Lehmen TF, Libardoni M, Athayde ML, Fachinetti R, 2014: Antidepressant-like effect of *Ilex paraguariensis* in rats. *Biomed Res Int*, Volume 2014, Article ID 958209, 9 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/958209>.
- Sayın, FK, 2012: *Silybum marianum* ekstresinin yüksek yağlı diyetle beslenen ratlarda insülin rezistansı, karaciğer fonksiyonları, lipid düzeyleri ve leptin seviyesi üzerine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, SÜ Tıp Fakültesi, Konya.
- Seyithanoğlu M, 2015: Deneysel yüksek yağlı beslenme modelinde kurkumin ve kapsaisin uygulamasının karaciğer yağlanması üzerine etkileri. Doktora Tezi, İÜ Tıp Fakültesi, İstanbul.
- Sharma SK, Vij AS, Sharma M, 2013: Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *Eur J Pharmacol*, 15, 720 (1-3), 55-62.
- Sonsuz A, 2007: Nonalkolik karaciğer yağlanması. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, 58, 91-98.
- SPSS Inc. Released 2007. SPSS for Windows, Version 15.0. Chicago, IL, USA.
- Suzergoz F, Çınar S, Oktay R, Karakus F, Gurol AO, 2013: Effect of *Achillea wilhelmsii* Extract Intake Upon Blood Lipid Profile, Hematologic and Immunologic Parameters in the Rat. *Food Agric Immunol*, DOI:10.1080/09540105.2013.864605.
- Tiniakos DG, 2010: Nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis: histological diagnostic criteria and scoring systems. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 22(6), 643-50.
- Vieira MA, Rovaris AA, Maraschin M, De Simas KN, Pagliosa CM, Podestá R, Amboni RD, Barreto PL, Amante ER, 2008: Chemical characterization of candy made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) residue. *J Agric Food Chem*, 56 (12), 4637-42.
- Wichtl M, 2004: Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on A Scientific Basis. Stuttgart, CRC press, 319-321.
- Wilborn C, Beckham J, Campbell B, Harvey T, Galbreath M, La Bounty P, Nassar E, Wissman J, Kreider R, 2005: Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. *J Int Soc Sports Nutr*, 2(2), 4-31.
- Woods SC, D'alezio DA, Tso P, 2004: Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. *Physiol Behav*, 83(4), 573-578.
- Xu JZ, Fan JG, Ding XD, 2010: Characterization of High-Fat, Diet Induced, Non-alcoholic Steatohepatitis with Fibrosis in Rats. *Dig Dis Sci*, 55(4), 931-940.
- *Yazışma adresi:** Ahmet UYAR
Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, 31040 Antakya/Hatay, Türkiye.
E-mail: uyarahmet@hotmail.com.

Koyun ve Keçilerde Doğumun İndüksiyonu Sonuçlarının Değerlendirilmesi

E. Sinem ÖZDEMİR SALCI^{1*}, Kamil SEYREK İNTAŞ¹

¹Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, Bursa, Türkiye

Geliş Tarihi: 11.05.2018

Kabul Tarihi: 13.06.2018

Özet: Bu çalışmada, koyun ve keçilerde uygulanan rutin medikal doğum indüksiyon yöntemlerinin klinik sonuçlarının aktarılması amaçlanmıştır. Çalışma materyalini anamnez ve klinik muayene sonuçlarına göre gebeliğin son döneminde tespit edilmiş problemler sonucu doğum indüksiyonu uygulanan farklı ırk, yaş ve gebelik sürelerindeki 11 koyun ve 6 keçi oluşturdu. Koyunlarda doğumun indüksiyonu amacıyla 16 mg dexametazon, keçilerde ise 10 mg dinoprost uygulandı. Doğumların indüksiyonu sonrası koyunlarda 36.1±10.32 saat, keçilerde ise 34.41±2.95 saat sonra doğumlar gerçekleşti. Koyunların 10'u normal doğum yaptı ve sadece 1 koyun güç doğuma bağlı sezaryen operasyonuna alındı. Keçilerin tümünde vaginal doğum şekillendi, ancak sadece 1 keçi fotal malpozisyon nedeniyle doğuma elle müdahale edildi ve bu keçi postpartum metritis şekillendi. Koyunlardan 17 canlı (10 erkek ve 7 dişi) 1 ölü (dişi) kuzu, keçilerden ise 6 erkek, 3 dişi olmak üzere 9 adet canlı oğlak elde edildi. Kuzuların vücut sıcaklığı 36.67±0.72°C; vücut ağırlıkları 2.90±0.50 kg; oğlakların ise beden ısıları 36.83±0.87°C; vücut ağırlıkları 2.84±0.58 kg'dı. Sonuç olarak, koyun ve keçilerde uygulanan rutin doğum indüksiyonları annenin genel durumunun iyi olduğu ve olgunun acil olmadığı durumlarda tercih edilebilir. Ancak ileri derecede sağlık problemi bulunan koyun ve keçilerde sezaryen operasyonuna başvurulması daha uygun bir yaklaşım olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Dexametazon, Doğum indüksiyonu, Keçi, Koyun, PGF2α.

Evaluation of Induction of Parturition Results in Sheep and Goats

Abstract: In this study, it is aimed to convey the clinical outcomes of routine medical methods of induction of parturition applied in sheep and goats. The material of the study consisted of 11 sheep and 6 goats with different breed and age and gestation period by which the parturitions induced according to the anamnesis and clinical examination results at the late gestation period. In sheep, a total dose of 16 mg of dexamethasone was administered for induction of parturition whereas 10 mg of dinoprost was administered to the goats. The duration from induction to parturition averaged 36.1 ± 10.32 hours in sheep and 34.41±2.95 hours in goats. The parturitions in 10 sheep occurred normally however one sheep underwent a cesarean section. Vaginal delivery was achieved in all of the goats, but only a case of fetal malposition was manually intervened, and resulted postpartum metritis. There were 17 live (10 males and 7 female) and 1 dead (female) lambs from the sheep and 9 live yearlings (6 males and 3 female) from goats. Mean body temperature of the lambs was 36,67±0,72 ° C; body weights 2.90±0.50 kg; body temperatures of the yearlings were 36.83±0.87 ° C; body weights were 2.84±0.58 kg. As a result, routine induction of parturition in sheep and goats may be preferred when the general health status of the mother is good and the case is not urgent. However, it would be more appropriate to prefer cesarean operation in sheep and goats having health problems.

Keywords: Dexamethasone, Goat, Induction of parturition, Sheep, PGF2α.

Giriş

Obstetrik uygulamaların başlıca amaçlarından biri doğum sırasında annenin maruz kaldığı travmayı en aza indirerek, mevcut gebeliğin sağlıklı bir yavru doğumu ile sonuçlanmasını sağlamaktır. Acil sezaryen şartlarının oluşmadığı, ancak anne veya yavru açısından gebeliğin sonlanmasının gerekli olduğu durumlarda doğumun mekanik ya da medikal olarak başlatılması gerekebilir (Gelegen, 2013; Karademir, 2005). Fötal membranların hidropsu, prepubic tendo rupturu (Purohit, 2010; Purohit, 2012), travma, gebelik toksemisi gibi metabolik rahatsızlıklar, respiratorik distres (Purohit, 2012; Zoller ve ark., 2015) ve uzayan gebeliklerde (Purohit, 2012) doğum indüksiyonu

endikasyon bulur. Özellikle birden fazla yavruya sahip gebe koyunlar (Zoller ve ark., 2015), obez koyun ve keçiler (Lima ve ark., 2012) gebeliğin ilerleyen döneminde metabolik bozukluklara daha eğilimli olurlar (Lima ve ark., 2012; Zoller ve ark., 2015). Travmatik yaralanma, respiratorik distres ve gebelik toksemisi gibi hastalıklarda doğum indüksiyonu küçük ruminantlar için hayat kurtarıcı bir tedavi seçeneğidir (Zoller ve ark., 2015).

Progesteron üretim kaynağı türler arasında ve aynı tür içerisinde gebelik dönemine göre değişkenlik gösterir. Bu nedenle koyun ve keçilerde doğumun indüksiyonu için farklı yöntemler tercih edilmektedir (Purohit ve ark., 2012). Progesteron,

keçilerde gebelik süresi boyunca luteal yapıdan, koyunlarda ise gebeliğin ilk 1/3'ünden sonra plasentadan salgılandığı için keçilerde prostaglandin ve analogları ile doğum her dönem uyarılabilirken, koyunlarda ise tek başına prostaglandinler kullanılarak doğumu uyarmak yeterli olmaz (Batista ve ark., 2011; Kastelic ve ark., 1996; Purohit, 2010; Purohit ve ark., 2012; Sanchez-Aparicio ve ark., 2009). Koyun ve keçilerin doğum indüksiyonunda fetal kortizole benzer bir etki göstererek doğumun başlamasını sağlayan kortikosteroidler, miyometriyal kontraksiyonları uyararak prostaglandin F2 alfa (PGF2 α) ve servikal dilatasyonu sağlayan prostaglandin E1 analogları, progesteron reseptörlerine bağlanarak etki gösteren progesteron reseptör blokörleri ve 3 β -hidroksi steroid dehidrojenaz enzim inhibitörleri gibi çeşitli medikal preparatların kullanıldığı bildirilmektedir (Currie ve Thorburn, 1973; Ingoldby ve Jackson, 2001; Salci ve ark., 2018).

Sunulan bu çalışmada koyun ve keçilerde doğuma yakın dönemde karşılaşılmış patolojik durumlar nedeniyle uygulanmış olan rutin doğum indüksiyon yöntemlerinin klinik sonuçlarının veteriner pratik yapan meslektaşlarımızla paylaşılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın materyalini Bursa ili Osmangazi ilçesindeki bir sürüde bulunan, planlanmış bir proje çalışması (Proje No: OUAP-MPMYO 2013/44) esnasında abdominal travma ya da genel durum bozukluğu, halsizlik şikayetleri ile tarafımıza sunulmuş ve yapılan muayeneler sonucu doğum indüksiyonu kararlaştırılmış 4'ü Merinos, 7'si Kıvırcık ırkı; 3.04 \pm 0.56 yaşında; 61.63 \pm 8.01 kg; 144 \pm 2.92 gebelik gününde toplam 11 adet, koyun ve Saanen ırkı; 3.16 \pm 1.32 yaşında; 60.16 \pm 13.52 kg; 145.2 \pm 1.41 gebelik gününde 6 keçi oluşturdu (Tablo 1).

Anamnezde tüm olguların doğuma yakın dönemde olduğu görüldü ve yapılan rutin klinik (beden ısısı, pulzasyon, respirasyon, mukozal membran rengi, kapillar dolum zamanı, lokal lenf yumrularının büyüklüğü ve rumen hareketlerinin tayini) ve vaginal muayene (serviksin açıklığı ve vulvada ödem varlığı) sonucunda doğum indüksiyonu endikasyonu belirlendi. Koyun ve keçilerin ultrasonografik muayenesinde, yavru canlılığı, fetal kalp atımı ve yavru hareketleri izlendi (Ingoldby ve Jackson, 2001). Laboratuvar muayenesi olarak, vena jugularis'ten alınan kan numunesinde total lökosit sayımı ve hematokrit ölçümü ile birlikte idrarın strip muayenesi yapıldı. Bu muayenelerin

ardından, bireysel yetiştiricinin de kabul etmesiyle destekleyici tedavi (parenteral sıvı elektrolit infüzyonu, oral propilen glikol vb.) başlanarak doğumlar uyarıldı.

Doğum indüksiyonu amacıyla keçilerde PGF2 α analogu (dinoprost) (Dinolytic[®], Pfizer, İstanbul) koyunlarda ise deksametazon sodyum fosfat (Devamed[®], Topkim, İstanbul) vücut ağırlığına göre doze edilerek kullanıldı. Uygulamaya ait detaylar Tablo 1'de verildi. Koyunlarda 16 mg deksametazon ya tek doz (140. gebelik gününden sonra) ya da 12 saat aralıklar ile tekrarlayan dozda (140. gebelik gününden önce), keçilerde ise tek doz 10 mg dinoprost kullanıldı. Doğuma kadarki süreçte tüm koyun ve keçiler ayrı bir boksta gözlem altına alındı. Doğumun olduğu anki koyun ve keçilerin genel muayeneleri ve doğumlarının şekli kayıt edildi. İndüksiyon uygulanması ile doğum şekilleninceye kadarki geçen süre belirlenerek kaydedildi. Doğan yavru sayısı, yavruların cinsiyeti, vücut ağırlıkları, canlılık durumları ile yavruların genel muayene bulguları not edildi.

Elde edilen tüm laboratuvar ve parametrik klinik bulguların ortalama değer ve standart sapmaları hesaplandı. İstatistiksel farkın anlamlılığı IBM SPSS 23.0 istatistiksel paket programında t- testi ile analiz edildi. İstatistiksel olarak koyun ve keçilerin doğum indüksiyonu ile doğumun gerçekleştiği süre arasındaki anlamlılık t-testi ile koyun ve keçilerden doğan yavruların ağırlıkları ve vücut sıcaklıkları arasındaki fark yine t-testi ile gerçekleştirildi. Anlamlılık değeri P<0.05 olarak belirlendi.

Bulgular

Çalışmada doğumu uyarılan koyunların gebelikleri 144 \pm 2.92 gün, keçilerin 145.2 \pm 1.41 gün idi. Olguların kliniğe getirildiklerindeki kalp frekansı 164 \pm 11/dakika, solunum sayısı 48 \pm 16/dakika ve beden ısıları ise 38.6 \pm 0.6 $^{\circ}$ C idi. Laboratuvar analizlerinde, total lökosit değerleri 10.06 \pm 2.8 10⁹/L, hematokrit değeri %33.3 \pm 6.7, kan glukoz değeri de 57.64 \pm 19.74 mg/dl arasında değişmekteydi. İdrardaki keton değerleri ise 2.43 \pm 0.49 olarak saptandı. Anamnez, klinik ve laboratuvar sonuçlarına göre 2 keçi ve 1 koyunda respiratuvar distres, 2 keçi ve 7 koyunda subklinik gebelik toksemisi, 1 keçi ve 1 koyunda gebelik toksemisi, 1 koyunda gebelik toksemisi ve respiratuvar distres, 1 keçi ve 1 koyunda da abdominal travma mevcut idi.

Yapılan indüksiyon uygulaması sonrası koyunlarda 36.1 \pm 10.32 saat, keçilerde ise

34.41±2.95 saat sonra doğumlar gerçekleşti. Koyunların 10'u normal doğum yaptı ve sadece 1'i güç doğum nedeniyle sezaryen operasyonuna alındı. Keçilerin tümünde vaginal doğum şekillendi, ancak sadece 1 keçide (olgu 7) fetal malpozisyon nedeniyle doğuma elle müdahale edilmek zorunda kalındı. Yine bu keçide (olgu 7) postpartum metritis şekillendi. Doğum indüksiyonu uygulanan koyun ve

keçilerden dünyaya gelen yavrulara ilişkin bilgiler Tablo 1'de verildi. İstatistiksel olarak, koyun ve keçilerin doğum indüksiyonu ile doğumun gerçekleştiği süre arasında anlamlı bir fark bulunmadı (P=0.706). Koyun ve keçilerden doğan yavruların ağırlıkları (P=0.662) ve vücut sıcaklıkları (P=0.631) arasında anlamlı bir fark belirlenmedi.

Tablo 1. Olgular ve doğan yavrulara ait tüm bilgi ve bulgular.

Olgu no	İndüksiyon nedeni	Kaçıncı gebelik	Gebelik günü	İndüksiyon yöntemi ve dozu	İndüksiyon doğum arası süre (saat)	Doğan yavru sayısı	Doğan yavruların cinsiyeti	Yavruların kilosu (gr)	Yavruların doğum sonrası beden ısısı (°C)
1	Abdominal travma	3	146	10 mg Dinoprost	33	1	♂	3.200	38.1
2	Abdominal travma	2.	148	16 mg Deksametazon	20	2	♂; ♂	3.300; 3.700	38.0; 37.3
3	Respiratorik distress	3.	139	16 mg Deksametazon tekrarlı	34	1	♂	3.100	37.2
4	Respiratorik distress	2.	144	10 mg Dinoprost	33,5	2	♀; ♂	2.380; 2.400	36.1; 36.3
5	Respiratorik distress	2.	144	10 mg Dinoprost	35	1	♀	2.150	35.1
6	Subklinik gebelik toksemisi	1.	Son hafta	10 mg Dinoprost	31,5	1	♂	3.900	37.3
7	Subklinik gebelik toksemisi	3.	147	10 mg Dinoprost	40	3	♂; ♂; ♀	2.700; 2.900 2.500	37.4; 37.1 36.9
8	Subklinik gebelik toksemisi	1.	Son 1-2 gün	16 mg Deksametazon	21	2	♀; ♂	2.500; 3.800	36.3; 36.1
9	Subklinik gebelik toksemisi	3.	145	16 mg Deksametazon	40	2	♀; ♀	2.600; 2.800	36.0; 35.9
10	Subklinik gebelik toksemisi	3.	143	16 mg Deksametazon	44	3	♀; ♂; ♂	2.300; 2.700 2.500	36.1; 36.3 36.1
11	Subklinik gebelik toksemisi	3.	140	16 mg Deksametazon tekrarlı	30	2	♀; ♂	2.100; 2.750	38.1; 37.5
12	Subklinik gebelik toksemisi	3.	145	16 mg Deksametazon	46	1	♂	3.700	36.5
13	Subklinik gebelik toksemisi	3.	145	16 mg Deksametazon	47	1	♀	3.300	36.0
14	Subklinik gebelik toksemisi	3.	144	16 mg Deksametazon	47	1	♂	2.950	37.1
15	Gebelik toksemisi	2.	147	10 mg Dinoprost	33,5	1	♂	3.500	37.2
16	Gebelik toksemisi	2.	Son hafta	16 mg Deksametazon	-	1	♀	2.300	-
17	Gebelik toksemisi	2.	147	16 mg Deksametazon	32	2	♀; ♂	2.800; 3.150	36.1; 36.9

Tartışma

Evcil hayvanlarda doğuma yakın dönemde gözlenen hidroallantois, hidroamnion, fetal mumifikasyon, fetal membranların hidropsu, hernia, prepubic tendo rupturu, abdominal travma, keçilerin caprine arthritis ensafilits sendromu, gebelik toksemisi, solunum problemleri (respiratuar distress) ve uzayan gebelik gibi patolojik durumlarda doğum indüksiyonu uygulanmaktadır (Fthenakis ve ark., 2012; Ingoldby ve Jackson, 2001; Jackson, 2004; Purohit, 2010; Purohit, 2012; Zoller ve ark., 2015). Sunulan çalışmada koyun ve keçilerde karşılaşılan subklinik gebelik toksemisi, gebelik toksemisi, abdominal travma ve respiratorik distress problemleri nedeniyle doğum indüksiyonuna başvuruldu.

Koyunlarda deksametazon, flumetazon, betametazon ya da kortizol asetat gibi kortikosteroidler yaygın olarak tercih edilmektedir (Zoller ve ark., 2015). Farklı dozlarda (1.5-25 mg arası değişmekte) deksametazon kullanılarak doğumun uyarıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır (Harrison, 1982; Kastelic ve ark., 1996; Tsiligianni ve ark., 2008). Doğuma birkaç gün kala düşük dozlarda (1.5 mg, im.) yapılan kortikosteroid uygulamaları başarılı sonuçlar verse de (Tsigliannis ve ark., 2008), koyunlarda doğum indüksiyonu için total 16 mg deksametazon'un kullanılması tavsiye edilmektedir (Ingoldby ve Jackson, 2001). Keçilerde ise deksametazon, misopristol, aglepriston ve bazı medikal preparatlar ile doğumun uyarıldığı bilinse de genellikle 5-10 mg dinoprost'un doğum indüksiyonu için yeterli olduğu bildirilmiştir (Purohit ve ark., 2012). Çalışmamızda doğum indüksiyonu amacıyla rutinde önerilen dozlar olan koyunlar için 16 mg deksametazon ve keçiler için 10 mg dinoprost kullanıldı. Olgu 3 ve 11'de gebeliğin 140. gününden önce yapılan deksametazon uygulamalarının hızlı yanıt vermemesi ve de indüksiyon doğum arası sürenin çok geniş aralıklara yayılması sebebiyle Zoller ve ark. (2015)'in önerisi dikkate alınarak 16 mg deksametazon 12 saat aralıklar ile tekrarlayan dozlar halinde uygulandı.

Kullanılacak ilaç anne ya da yavruya yan etki oluşturmamalı, doğumu kesinlikle başlatmalı ve kolay uygulanabilmelidir (Silver, 1990). Gebelik toksemisinin ileri evresinde yüksek doz ve tekrarlı deksametazon uygulamaları protein katabolizmasında artış meydana getirerek üremiye neden olmaktadır (Purohit ve ark., 2012). Ayrıca doğuma yakın zamanda yapılmayan doğum indüksiyonu sonucu doğum gerçekleşmeyebilir, servikal spazm gözlenebilir, postpartum retensiyon sekondinarum şekillenebilir, laktasyon başlamayabilir, yavru annesini emmeyebilir ve kolostrum kalitesi de düşebilir (Ingoldby ve Jackson,

2001; Taşal ve Şendağ, 2012; Zoller ve ark., 2015). Bundan dolayı doğum indüksiyonu uygulanmadan önce olgularda klinik ve transrektal ultrasonografi ile gebelik muayenesi yapılarak gebeliğin doğuma yakın olduğunun tespiti yapıldı. Yine doğum indüksiyonu sonrası olası yaşanabilecek problemlerin önüne geçmek için doğum gerçekleşene kadar ve postpartum süreçte koyun ve keçilerle birlikte doğan yavrular yakından takip edildi. Ayrıca belli aralıklarla koyun ve keçilerin genel muayenesi, idrar muayenesi, ultrasonografik muayene ile yavru canlılıklarının teyidi, vaginal muayene ile serviksin açıklığının kontrolü ve imkan dahilinde bireysel glukoz cihazı ile kan glukoz seviye ölçümleri ve mikroskopik total lökosit sayımları gerçekleştirildi. Olgu 16'nın (koyun) genel durumunda fark edilen kötüleşme nedeniyle sezaryen operasyonu yapıldı. Ayrıca olgu 7'de (keçi) fetal maldispozisyona bağlı güç doğum şekillendiği için doğuma elle müdahale edildi.

Deksametazon'un 16 mg dozda 141. gebelik gününde uygulanmasının ardından 49.0±2.18 saat sonra (Shevah, 1974), 140. gebelik gününde uygulanmasının ardından ise 51 saat sonra doğumların gerçekleştiği bildirilmiştir (Kastelic ve ark., 1996). Deksametazon'un 138. gebelik gününde 16 mg dozda uygulanmasını takiben 98.66±31.55 saatte doğumlar meydana gelmiştir ancak doğumların gerçekleştiği saat geniş aralıklara yayılmıştır (Salci ve ark., 2018). Ile de France ırkı koyunlara deksametazon 144. gebelik gününde 4 ve 16 mg dozda uygulandığında sırasıyla 80.62±44.04 ve 45.04±12.38 saatlerde doğumun uyarıldığı bildirilmektedir (Bosc, 1972). Sunulan çalışmada gebeliği 144±2.92 gün olan koyunlara uygulanan 16 mg deksametazon enjeksiyonu sonrası koyunlarda 36.1±10.32 (20-47) saat içerisinde doğumlar gerçekleşti. Doğum, sadece doğumuna 1-2 gün kalan vakalarda 20 saat içerisinde şekillendi. Diğerlerinde 31.5 saatten önce gerçekleşmedi. Gebelik süresi 140. günden önce olan koyunlarda 12 saat aralıklı tekrarlayan dozlar halinde uygulanan deksametazon sonrası doğumun gerçekleşme süresi sırasıyla olgu 11 ve 2'de 30 ve 34. saattir. Bir koyun (olgu 17: 32. saat) hariç diğerlerinde doğumlar 40. saat ve üzerinde şekillendi.

Keçilerde 10 mg PGF_{2α} analogunun 141-142. gebelik günlerinde uygulanması sonrası 36.17±2.80 saatte (Arsoy Başaran ve ark., 1996) ve 142. gebelik gününde uygulanması sonrasında ise 34.8 saatte (Alan ve Taşal, 2002) doğumların başladığı bildirilmiştir. Farklı dozlarda 140-142. gebelik gününde 15 mg PGF_{2α} enjeksiyonu sonrası 42-76 saat içerisinde (Bosu ve ark., 1979) ve 144. gebelik gününde 2.5-5 mg PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben 43±11.8 ve 35±8.6. saatlerde (Bretzlaff ve Ott, 1983) doğumların gerçekleştiği de rapor edilmiştir.

Doğuma daha yakın dönemlerde ise; gebeliğin 146-148. gebelik gününde 0.5 mg dozda bir prostaglandin analogu olan fenoprostalane'nin subkutan yolla enjeksiyonunu takiben 31.6 ± 0.83 . saatte doğumların gerçekleştiği bildirilmiştir (Haibel ve Hull, 1988). Gebeliğin 145. gününde bir başka prostaglandin analogu olan 75 µg cloprostenol, 7.5 mg ve 3.75 mg luprostitol enjeksiyonunu takiben 33-35 saat içerisinde doğumların meydana geldiği görülmüştür. Sunulan çalışmada gebelik günü 145.2 ± 1.41 (144-147) olan keçilerde 34.41 ± 2.95 (31.5-40) saat sonra 10 mg dinoprost ile uyarılmış keçilerden biri hariç (fötal malpozisyon nedeniyle doğumu 40 saat sonra elle müdahale ile gerçekleşen) doğumlar yaklaşık aynı zaman diliminde sonuçlanmıştır. Ancak gebelik günü daha ileri olmasına rağmen Arsoy Başaran ve ark. (1996) ile Alan ve Taşal'ın (2002) verileri ile yaklaşık aynı saatlerde doğumlar gerçekleşmiştir.

Başarılı bir doğum indüksiyonunda yavru canlılığı etkilenmez (Silver, 1990) ancak koyunlarda doğum indüksiyonu, tahmini doğum zamanına yakın yapılmazsa (133. günden önce doğan kuzuların ölüm oranı %70) premature doğacak olan yavrunun akciğerinin gelişmemiş olması, vücut sıcaklığını muhafaza edememesi, anneyi emememe ya da kolostrumu yeterli sindirememesi gibi problemlerin ortaya çıkmasına neden olur (Ingoldby ve Jackson, 2001; Silver, 1990). Şekillenecek hipoksi, asidoz, hipoglisemi, hipotermi ya da immun yetersizlik sonucu yavrunun kaybı söz konusu olabilmektedir (Silver, 1990). Gebeliğin 142. gününde 6-12 mg deksametazon'un im yolla tek enjeksiyonu ile güç doğum olmaksızın ve yavru canlılığı etkilenmeden doğum uyarılabilmektedir (Webster ve Haresign, 1981). Başka bir çalışmada, gebeliğin 145. gününde 15 mg deksametazon uygulamasında yavru doğum ağırlığının 3.8-4.2 kg, canlı doğum oranının %92.8-93.3 ve 1 aylık yaştaki yaşama oranlarının ise %66.6-71.4 olduğu bildirilmiştir (Bailos ve ark., 2008). Skinner ve ark. (1970) 138-140. günler arasında yapılan doğum indüksiyonu sonucu yeni doğan vücut ağırlıkları arasındaki anlamlı fark olduğunu, deney grubu ile kontrol grubu yavrularının büyüme oranları değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Batista ve ark. (2009) canlı yavru doğum oranını doğumun uyarıldığı grupta %93.9, kontrol grubunda ise %83.9 olarak bildirmişlerdir. Doğum indüksiyonu sonrası koyun ve keçilerde yavru doğum ağırlıklarının deney gruplarında daha az olduğu tespit edilmiştir (Arsoy Başaran ve ark., 1996; Rommereim ve Slyter, 1981; Sanchez-Aparicio ve ark., 2009; Sir ve Bartlewski, 2010). Bu farklılığın indüksiyonun yapıldığı günle ilişkili olduğu, doğuma yakın dönemde yapılan doğum indüksiyonunda yavru ağırlık farklılıklarının gözlenmediği (Batista ve ark., 2009), doğuma yakın

olmayan dönemde yapılan doğum indüksiyonunun ise yavru ağırlığını etkilediği bildirilmiştir (Sir ve Bartlewski, 2010). Sunulan çalışmada, koyunlardan 18 adet kuzu (10 erkek ve 8 dişi) elde edildi ve sadece 1 kuzu ölü doğdu. Keçilerden de 6 erkek, 3 dişi olmak üzere toplam 9 adet oğlak doğdu. Kuzular ile oğlaklar arasında vücut sıcaklıkları ve doğum ağırlıkları bakımından anlamlı bir fark bulunmadı ($P < 0.05$).

Sonuç olarak, koyun ve keçilerde uygulanan rutin doğum indüksiyon metotları annenin genel durumunun iyi ve olgunun acil olmadığı durumlarda tercih edilebilir. Koyun ve keçilerde doğum indüksiyonuna alınan yanıt olumludur ancak olgunun aciliyeti söz konusu olup gebeliğin bir an evvel sonlandırılması gerekiyorsa doğum indüksiyonu yerine sezaryen operasyonu yapılması daha uygun bir yaklaşım olacaktır.

Kaynaklar

- Alan M, Taşal I, 2002: Efficacy of prostaglandin $F_{2\alpha}$ and misoprostol in the induction of parturition in goats. *Vet Rec*, 150, 788-789.
- Arsoy Başaran D, Karakaya A, Bilgiç N, Aşkın Y, 1997: Effective doses of prostaglandin F_2 alpha for induction of parturition in Angora goats. *Turk J Vet Anim Sci*, 21, 13-16.
- Bailos SA, Kassim MS, Al-Oramary RAS, 2008: Induction of parturition in ewes (local breeds) and subsequent survival of neonates. *Egypt J Sheep Goat Sci*, 3(2), 65-70.
- Batista M, Nino T, Alamo D, Gonzalez F, Santana M, Rodriguez N, Cabrera F, Gracia A, 2009: Use of luprostitol and cloprostenol for induction of parturition in pregnant goats. *Reprod Domes Anim*, 44, 83-87.
- Batista M, Reyes R, Santana M, Alamo D, Vilar J, Gonzalez F, Cabrera F, Gracia A, 2011: Induction of parturition with aglepristone in the majorera goat. *Reprod Dom Anim*, 46, 882-888.
- Bosc MJ, 1972: The induction and synchronization of lambing with the aid of dexamethasone. *J Reprod Fertil*, 28(3), 347-57.
- Bosu WTK, Garibay JAS, Baker CAV, 1979. Pheriperal plasma levels of progesterone in pregnant goats and in pregnant goats treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Theriogenology*, 11(2), 131-148.
- Bretzlaff KN, Ott RS, 1983: Doses of prostaglandin F_2 alpha effective for induction of parturition in goats. *Theriogenology*, 19(6), 849-853.
- Currie WB, Thorburn GD, 1973: Induction of premature parturition in goats by prostaglandin $F_{2\alpha}$ administered into the uterine vein. *Prostaglandins*, 4(2), 201-214.
- Fthenakis GC, Arsenos G, Brozos C, Fragkou IA, Giadinis ND, Giannenas I, Mavrogianni VS, Papadopoulos E, Valasi I, 2012: Health management of ewes during pregnancy. *Anim Reprod Sci*, 130, 198-212.

- Gelegen K, 2013: Postdate gebelik nedeni ile doğum indüksiyonu uygulanan düşük servikal bishop skoru olan gebelerde indüksiyon başarısını etkileyen faktörler. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Adana, Türkiye.
- Haibel GK, Hull BL, 1988: Induction of parturition in goats with fenprostalane. *Theriogenology*, 30(5), 901-903.
- Harrison FA, 1982: Dexamethasone-induced parturition in sheep. *British Vet J*, 138, 402-408.
- Ingoldby L, Jackson P, 2001: Induction of parturition in sheep. *In Practice*, 23, 228-231.
- Jackson PGG, 2004: Handbook of Veterinary Obstetrics. Saunders, UK, pp. 245.
- Karademir Ö, 2005: Bishop skorunun başarılı doğum indüksiyonunun öngörülmesindeki değeri. Bakırköy Doğumevi Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, Türkiye.
- Kastelic JP, Cook RB, McMahon LR, McAllister TA, McClelland LA, Cheng KJ, 1996: Induction of Parturition in Ewes with Deksametazon or Deksametazon and Cloprostenol. *Can Vet J*, 37, 101-102.
- Lima MS, Pascoal RA, Stilwell GT, Hjerpe CA, 2012: Clinical findings, blood chemistry values, and epidemiologic data from dairy goats with pregnancy toxemia. *Bovine Pract*, 46(2), 102-110.
- Purohit G, 2010: Parturition in domestic animals: a review. *WebmedCentral Reproduction*, WMC00748, 1(10), 1-18.
- Purohit G, Shekher C, Kumar P, Solanki K, 2012: Induced termination of pregnancy in domestic farm animals. *Iran J Appl Anim Sci*, 2(1), 1-12.
- Rommereim DN, Slyter AL, 1981: Effect of day of gestation on induction of lambing with flumethasone. *J Anim Sci*, 53(3), 564-566.
- Salci ESO, Demirbilek Kahya S, Gunes N, Goncagul G, Uzabaci E, Carli T, Seyrek Intas K, 2018: Endocrinological and immunological comparison of different parturition induction methods in ewes. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 46(1), 22-28.
- Sanchez-Aparicio P, Mota-Rojas D, Trujillo-Ortega ME, Zarco-Quintero LA, Becerril-Herrera M, Alonso-Spilsbury M, Alfaro-Rodriguez A, 2009: Effect of prostaglandins for inducing birth on weight, vitality and physiological response in newborn pigs. *J Appl Anim Res*, 36, 113-118.
- Taşal İ ve Şendağ S, 2012: Doğum. In: "Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji", Ed; Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A, Bölüm 7, Medipres, Malatya, Türkiye, s. 187-192.
- Shevah Y, 1974: A note on the use of deksametazon for inducement of parturition of Finn x Dorset ewes. *Anim Product*, 18(1), 89-92.
- Silver M, 1990: Prenatal maturation, the timing of birth and how it may be regulated in domestic animals. *Expert Phy*, 75, 285-307.
- Sir C, Bartlewski PM, 2010: Analyses of parenteral and seasonal influences on the synchrony of deksametazon-induced lambing and lamb characteristics. *Livest Sci*, 131, 119-124.
- Skinner JD, Jöchle W, Nel JW, 1970: Induction of parturition in Karakul and crossbred ewes with flumethasone. *Agroanimalia*, 2, 99-100.
- Tsiligianni T, Ntovolou E, Amiridis GS, 2008: Synchronisation of lambing with low doses of deksametazon in Chios Ewes-short communication. *Acta Vet Hung*, 56(3), 393-397.
- Webster GM, Haresign W, 1981: A note on the use of dexametasone to induce parturition in the ewe. *Anim Reprod*, 32(3), 341-344.
- Zoller DK, Vassiliadis PM, Voigt K, Sauter-Louis C, Zerbe H, 2015: Two treatment protocols for induction of preterm parturition in ewes- evaluation of the effects on lung maturation and lamb survival. *Small Rumin Res*, 124, 112-119.

***Yazışma Adresi:** E. Sinem ÖZDEMİR SALCI

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, 16059, Bursa, Türkiye

E-mail: ssalci@uludag.edu.tr

Sütçü İneklerde Pnömovagina ile Açlık Çukurluğu Derinliği Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi: Ön Çalışma

E. Sinem ÖZDEMİR SALCI^{1*}, Kamil SEYREK İNTAŞ¹

¹Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, Bursa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 11.05.2018

Kabul Tarihi: 13.06.2018

Özet: Bu ön çalışmada, ineklerde, açlık çukurluğu derinliği ile anüs çöküklüğü ölçümlerinin pnömovagina ile bir korelasyonu olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma materyalini 96 adet sağlıklı (Grup I) ve 46 adet pnömovaginalı (Grup II) inekler oluşturdu. İnekler ayrıca vulva açlarına göre de grup A: 0-10° (n=62), grup B: 10-30°(n=51), grup C: 30-55°(n=22) ve grup D: >55° (n=7) olarak derecelendirildi. Açlık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü ölçümleri sırasıyla: Grup I=6.03±2.08; 5.07±1.90; Grup II=8.07±1.84; 7.5±2.62; Grup A=5.85±2.15; 4.77±1.92; Grup B=6.75±1.93; 5.74±1.56; Grup C=8.00±1.93; 7.32±2.28; Grup D=8.81±2.30; 10.71±1.87 cm olarak bulundu. Açlık çukurluğu derinlikleri ve anüs çöküklüğü ölçümleri yönünden; Grup I ve II arasında anlamlı fark bulundu (P=0.000). Grup A, B, C ve D arasında ise açlık çukurlukları derinliği ölçümleri bakımından, grup A ile C ve D (P=0.000; P=0.002); anüs derinliği ölçümleri yönünden ise tüm gruplar arasındaki fark anlamlı bulundu (P<0.05). Açlık çukurluğu ölçümleri ile anüs çöküklüğü ölçümleri arasında sadece Grup I (P=0.012; r=0.256) ve grup A'da (P=0.037; r=0.266) anlamlı ve pozitif bir korelasyon bulundu. Sonuç olarak, açlık çukurluğu derinliği ölçümü ineklerde pnömovaginanın tanısında kullanılabilir önemli bir kriter olduğu, bu amaçla açlık çukurluğu ile anüs çöküklüğü ölçümlerinin standardize edilerek birlikte kullanılmalarının uygun olacağı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Açlık çukurluğu derinliği, Anüs çöküklüğü, İnek, Pnömovagina, Vulva açısı.

Determination of the Correlation between Pneumovagina and Depth of the Paralumbar Fossa in Dairy Cows: A Preliminary Study

Abstract: In this preliminary study, it was aimed to investigate whether there is a correlation between pneumovagina and the depth of the paralumbar fossa and anus in cows. The materials of the study consisted of 96 healthy cows (Group I) and 46 cows with pneumovagina (Group II). The cows were also grouped according to the vulvar angle; group A: 0-10° (n=62), group B: 10-30°(n=51), group C: 30-55°(n=22) and group D: >55°(n=7). The measurements of the depth of the paralumbar fossa and anus were as follows respectively: Group I=6.03±2.08; 5.07±1.90; Group II=8.07±1.84; 7.5±2.62; Group A=5.85±2.15; 4.77±1.92; Group B=6.75±1.93; 5.74±1.56; Group C=8.00±1.93; 7.32±2.28; Group D=8.81±2.30; 10.71±1.87 cm. In terms of the depths of paralumbar fossa and anus, there was significant difference between Group I and II (P=0.000). Among the groups A, B, C and D, significant difference was found between group A and C and D (P=0.00; P=0.002) in terms of the depth of paralumbar fossa; between all groups in terms of the depth of anus (P<0.05). There was a significant and positive correlation between the depth of paralumbar fossa and anus measurements only in Group I (P=0.012; r=0.256) and in group A (P=0.037; r=0.266). As a result, the measurement of the depth of the paralumbar fossa was found to be an important criterion that can be used in the diagnosis of pneumovagina in cows and it is recommended to standardize and use measurements of the depth of paralumbar fossa and anus together.

Keywords: Cow, Depth of the anus, Depth of the paralumbar fossa, Pneumovagina, Vulvar angle.

Giriş

İnfertilite, sütçü inek yetiştiriciliğinde sıklıkla karşımıza çıkan ve ciddi ekonomik kayıplara neden olan bir sorundur. Enfeksiyöz infertilitenin en önemli sebeplerinden biri pnömovaginadır (Sheldon ve ark., 2004; Kumru, 2009). Pnömovagina, farklı faktörlere bağlı olarak vulva dudaklarının ve hymenal sfinkterin yeteri derecede kapanmamasından dolayı vagina içerisine hava dolması ile karakterize bir patolojidir (Dehghani ve ark., 2011; Demet, 2010; Kumru, 2009). Pnömovagina sebebi ile vaginada bulunan hava irritasyon yaratır ve bu irritasyon sonucu şekillenen ikinmaya bağlı olarak ya da hayvanın pasif

hareketleri, abdominal kontraksiyon ve relaksasyon nedeniyle vulva dudaklarından spontan hava girişi ve çıkışı söz konusu olmaktadır (Kumru, 2009). Böylece pnömovagina sebebi ile genital kanala hava girişi ile birlikte vaginal kanala mikroorganizmalar da girerek vaginitis, servisit ve endometritise yol açarlar. Bu durum ineklerde verim kaybı, siklus bozukluğu, suni tohumlamalara yanıt alamama ve gebe kalma oranında önemli ölçüde düşme olarak yansır (Demet, 2010). Pnömovagina oluşumunun nedenleri; vulva dudaklarının, vestibulo vaginal sfinkterin kapanma bozukluğu, kötü perineal bölge konformasyonu, anatomik bozukluklar, güç doğum,

doğum sırasında ya da darbelere bağlı vulva ve vaginanın travmatik yaralanması, (Dehghani ve ark., 2011; Demet, 2010; Youngquist ve Braun, 1993), ilerleyen yaş (Kien-Nguyen ve ark., 2014) ve kötü beslemedir. Pnömovagina görülen ineklerin vücut kondüsyon skoru genelde 2'nin altındadır (Sheldon ve ark., 2004). Anatomik olarak vulva, vestibular sfinkter ve serviks, uterusun dış ortamla kontamine olmasına yönelik mekanik engel sağlayan yapılardır (Youngquist ve Braun, 1993). Vulva açısının anüse olan eğimi farklı nedenlere bağlı olarak değiştiğinde; vagina, hava ve dışkıyı emmeye yatkınlaşır ve böylece vaginal kontaminasyon oluşur. Vulva dudakları anüse doğru eğik olan ineklerde, vulvaya fekal kontaminasyon şekillenir ve bu durum infertilite için predispozisyonudur (Dehghani ve ark., 2011). Vulva açılı ölçümlerinin pnömovagina gelişimi ve tespiti için önemli bir parametre olduğu bildirilmiştir (Kumru, 2009).

Pnömovagina olgularında vaginada köpüğün (hava ve mukus) bulunması patognomonik bir bulgudur. Hafif ve orta şiddetli olgularda östrusta köpüklü çara gözlenmesi en sık karşılaşılan klinik bulgudur. Şiddetli olgularda seksüel siklusun her safhasında hava girişi çıkışının duyulduğu bildirilmiştir (Kumru, 2009). Pnömovagina olgularının tanısında hava emme testi, vaginanın spekulum ile muayenesinde akıntı ya da hiperemi varlığı, rektal muayenede vaginadaki havanın dışarıya boşaltılması, uterusun transrektal ultrasonografisinde luminal yüzeyde hiperekoik görünüm, endometriyum sitoloji ve histopatolojik muayenesinde endometritis için yeterli sayıda nötrofil bulunması gibi bulgulardan birinin ya da birkaçının birden bulunması görülse de (Matyar, 2009), hava giriş çıkışının sürekli olmaması ve gözden kaçırılmasından dolayı klinik muayene bulgularına göre pnömovagina genellikle tanınmaz. Sunulan bu ön çalışmada pnömovagina tanısına yönelik yeni bir klinik bulgu elde etmek için açlık çukurluğu ölçümleri ile negatif abdominal basıncın, pnömovaginanın yapıcı sebeplerinden olabileceği hipotezini geliştirerek, ineklerde pnömovagina ile açlık çukurluğu derinliği arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

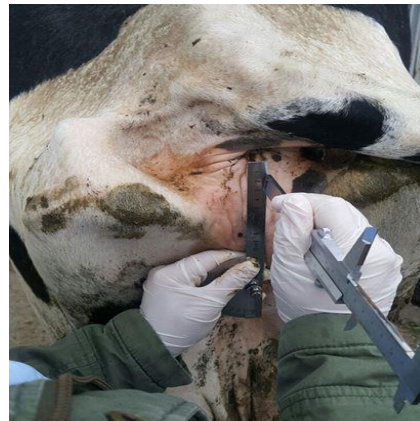
Bu ön çalışma materyalini Bursa ilinde bulunan farklı yaş (2-8 yaş arası) ve ırktaki toplam 142 adet inek oluşturdu. Bu ineklerin 96'sında pnömovagina tespit edilmemiş (Grup I) ve 46'sında ise vulva

dudaklarından belirgin hava emme tespit edilerek pnömovagina tanısı konulmuştur (Grup II), buna dayanarak inekler anamnez ve klinik muayene bulgularına göre pnömovagina yönünden negatif ve pozitif olarak sınıflandırıldı.

Yapılan genel muayenenin ardından, perineal bölgenin inspeksiyonu gerçekleştirildi. Anüsün, perineum ve vulvanın genel yapısı, üreme, yırtık vs. gibi herhangi bir yapısal değişiklik ya da patoloji olup olmadığı, vulva dudaklarının kapalı olup olmadığı, vulva kuruluğu, perivaginal bölgede herhangi bir akıntı olup olmadığı incelendi. Vulva açısı ölçümleri yapıldı. İneklerin açlık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü ölçümleri kayıt edildi. Açlık çukurluğu ölçümleri kumpas ve cetvel yardımı ile tuber coxa'dan son kostanın ortasına oblik şekilde yerleştirilen bir cetvelden açlık çukurluğunun en derin kısmına bir dikme indirilerek yapıldı (Şekil 1).



Şekil 1. İneklerde açlık çukurluğu derinliğinin ölçümü.



Şekil 2. İneklerde anüs çöküklüğünün ölçümü.

Anüs çöküklüğü, arcus ischiadicum'dan yere indirilen bir dikme ile anüs arasındaki mesafe ölçülerek gerçekleştirildi (Şekil 2). Palpasyonda; pnömovaginanın tespiti için vulva dudakları aralanıp içeriye bastırılarak hava emme durumunun olup

olmadığı kontrol edildi. Yapılan rutin klinik rektal ve transrektal ultrasonografik muayenede genital organlara ait herhangi bir patoloji olup olmadığı kontrol edildi ve vaginaya basınç uygulandığında vulvadan hava ya da pasif idrar çıkışı olup olmadığı gözlemlendi. Vaginanın spekulum ile muayenesinde vaginanın ve serviksin durumu, pnömovagina ve ürovaginaya ilişkin bulguların varlığı, vaginitis, hiperemi, konjesyon, vaginal akıntı varlığı ve varsa akıntının karakteri tespit edildi.

İnekler pnömovagina varlığına göre gruplandırıldığı gibi ayrıca vulva açılarına göre de grup A: 0-10° (n=62), grup B: 10-30°(n=51), grup C: 30-55°(n=22) ve grup D: >55°(n=7) olarak derecelendirildi.

Elde edilen tüm ölçümlere ait ortalama değer ve standart sapmalar bilgisayar programında hesaplandı (Microsoft® Excel, 2016, USA). Grup I ve II arasında açıklık çukurluğu derinliği istatistiksel olarak t-testi ile grup A, B, C ve D değerlendirmeleri ise One-Way Anova testi ile yapıldı. Açlık çukurluğu ile anüs çöküklüğü ölçümleri arasındaki korelasyonu değerlendirmek için ise Pearson korelasyon testi kullanıldı.

Bulgular

Çalışmada muayene edilen toplam 142 ineğin 46'sında pnömovagina tespit edildi ve pnömovagina prevalansı %32.39 olarak belirlendi. Yapılan açıklık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü ölçüm sonuçları Tablo 1'de verildi.

İstatistik analiz sonuçlarına göre Grup I ve II arasında açıklık çukurluğu ve anüs derinlikleri arasında anlamlı fark bulundu (P=0.000). Grup I'deki açıklık çukurluğu derinliği ile anüs çöküklüğü arasında anlamlı ve pozitif bir korelasyon bulunurken (P=0.012; r=0.256), grup II'de anlamlı bir korelasyon bulunmadı (P=0.754).

Grup A, B, C ve D arasında açıklık çukurlukları derinliği ölçümleri bakımından grup A ile C ve D (P=0.000; P=0.002) arasında anlamlı fark bulundu. Bunun yanında A ile B (P=0.095); B ile C (P=0.086); C ile D (P=0.80) arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmadı. Anüs derinlikleri bakımından ise grup A ile B (P=0.034); A ile C (P=0.000); A ile D (P=0.000); B ile C (P=0.006); B ile D (P=0.000) ve C ile D (P=0.000) arasında anlamlı fark bulundu (Tablo 2). Açlık çukurluğu ölçümleri ile anüs çöküklüğü ölçümleri arasında sadece grup A'da anlamlı ve pozitif bir korelasyon bulundu (P=0.037; r=0.266). Grup B (P=0.426), grup C (P=0.427), Grup D'de (P=0.759) korelasyon bulunmadı (Tablo 3).

Tablo 1. Gruplara ait açıklık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü ölçümlerinin ortalama ve standart sapma değerleri.

Gruplar	Açlık Çukurluğu Derinliği (cm)	Anüs Çöküklüğü (cm)
Grup I	6.03±2.08	5.07±1.90
Grup II	8.07±1.84	7.5±2.62
Grup A	5.85±2.15	4.77±1.92
Grup B	6.75±1.93	5.74±1.56
Grup C	8.00±1.93	7.32±2.28
Grup D	8.81±2.30	10.71±1.87

Tablo 2. Gruplara ait açıklık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü ölçümlerine ait istatistiksel sonuçlar.

Grup Karşılaştırmaları	Açlık Çukurluğu Derinliği	Anüs Çöküklüğü
Grup I-II	P=0.000	P=0.000
Grup A-B	P=0.095	P=0.034
Grup A-C	P=0.000	P=0.000
Grup A-D	P=0.002	P=0.000
Grup B-C	P=0.086	P=0.006
Grup B-D	P=0.067	P=0.000
Grup C-D	P=0.80	P=0.000

Tablo 3: Gruplara ait açıklık çukurluğu ile anüs çöküklüğü arasındaki korelasyonlar.

Gruplar	Korelasyon (r)
Grup I	P=0.012; r=0.256
Grup II	P=0.754; r=0.047
Grup A	P=0.037; r=0.266
Grup B	P=0.426; r= - 0.144
Grup C	P=0.427; r=0.178
Grup D	P=0.759; r= - 0.143

Tartışma

İneklerde karşılaşılan enfeksiyöz infertilitenin en önemli sebeplerinden birisi olan pnömovagina %19.2 prevalansa sahiptir (Goncagül ve ark., 2012) ve süt sığırı yetiştiriciliği açısından önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Demet, 2010). Çalışmamız kapsamında değerlendirilen 142 adet ineğin 46'sında pnömovagina tespit edilmiş olup bu problemin prevalansı %32.39 olarak belirlendi.

Pnömovagina, anamnez bilgisi, perineal bölgenin inspeksiyonu, vulvanın palpasyonu, rektal muayene, vaginoskopi ve transrektal ultrasonografik muayene esnasında tanınabilir (Kumru, 2009; Youngquist ve Braun, 1993). Vulva açısının anüse olan eğimi, farklı nedenlere bağlı olarak değişerek vaginaya hava ve dışkı girişi için yatkınlığa sebep olup pnömovagina predispozisyonunu artırır (Dehghani ve ark., 2011). Bu nedenle vulva açısı, pnömovaginanın tanısında önemli olduğundan çalışmamızda olgular vulva açısına göre de gruplandırıldı.

Farklı tür olan kısraklarda vulvanın arcus ischiadicum ile yapmış olduğu açı 10°'den büyük ise, bu olguların pnömovaginaya predispoze olduğu ve

fertilitesinin ise azaldığı bildirilirken (Chenier, 2009), yine ineklerde, vulva açısı 45°'den büyük olanların diğerlerine göre ürovaginaya predispoze olduğu bildirilir (Gautam ve Nakao, 2009). Bunun yanında ineklerde yapılan bir çalışmada, vulva açısı 20°'den büyük olan ineklerin pnömovaginaya predispoze olduğu ve özellikle vulva açısı ölçümlerinin pnömovaginanın gelişimi, değerlendirilmesi ve tespiti için oldukça önemli bir parametre olarak değerlendirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Goncagul ve ark., 2012; Kumru, 2009). Özetle, vulvanın dorsal ischiadic arch'a olan açısı 10-15°'den fazla ise pnömovagina ve dolayısıyla şekillenebilecek sekonder endometritis gözlemlenebilir (Kumru, 2009). Yapılan bir çalışmada pnömovaginalı 27 inekten 10 tanesinde vulva açısı 30° (%37), ve 17 tanesinde ise 45° (%62.9) olarak bulunmuştur (Dehghani ve ark., 2011). Sunulan çalışmamızdaki ineklerde vulva açısı 0-10° olanlar pnömovagina yönünden sağlıklı, 10-30° arasındaki inekler pnömovaginaya predispoze olarak değerlendirilirken, 30-55° ve 55°'den büyük olanlar pnömovagina yönüyle pozitif olarak değerlendirildi. Bulgularımız yönüyle ise; vulva açısı 10°'ye kadar olan 62 inekte pnömovagina tespit edilmedi, 10 ile 30° arasında olan 34 inekte pnömovagina negatif (-) ve 17'sinde pnömovagina pozitif (+) olarak değerlendirilirken, 30°'den büyük olan 29 inekte ise pnömovagina saptandı

Klinik muayene bulgularına göre pnömovaginanın tespiti yapılabilmektedir (Youngquist ve Braun, 1993) ancak vaginada havanın sürekli bulunmayışı klinisyenler açısından yanıltıcı ve dolayısıyla klinik muayene bulgularına göre pnömovaginanın tanısını zorlaştıran bir durumdur. Bu nedenle; negatif abdominal basıncın olası pnömovagina yapıcı etkisi (Goncagul ve ark., 2012) düşünülerek ek bir bulgu olarak açıklık çukurluğu ölçümlerinin pnömovagina ile ilişkisi sunulan çalışmamızda değerlendirilmiştir. Doğumdan sonra uterus hızla involü olur ve laktasyon sırasında kötü kaliteli ve az miktarda kaba yem ile beslenen ineklerde, negatif enerji dengesi, vücut kondüsyon skorunda düşme ve abdominal yağ depolarında azalma oluşur. Bu abdominal boşluk hacmindeki azalma orta dereceden yüksek dereceye varan negatif abdominal basınca sebep olur. Bu da hymenal ve vulvar kapanma yetersizliklerinde vaginadan hava emilmesine yol açar (Goncagul ve ark., 2012). Açlık çukurluğu ölçümleri, pnömovaginalı ineklerde (Grup II) 8.07±1.84 cm ve sağlıklı ineklerde (Grup I) 6.03±2.08 cm olarak belirlendi. Açlık çukurluğu ölçümlerinin pnömovagina pozitif olan Grup II'de anlamlı bir şekilde daha derin olduğu belirlendi (P=0.000). Açlık

çukurluğu ölçümlerini vulva açısına göre gruplandırıldığında grup A ile C (P=0.000) ve D (P=0.002) arasında anlamlı fark olduğu ve ölçümlerin grup C ve D'de daha derin olduğunu tespit edildi.

Şiddetli pnömovagina olgularında ineklerin perineal bölge konformasyonunda değişikliğin maksimum olması, özellikle bu ineklerde anüsün craniale doğru eğimlenmesi, anüsün vulvayı gerdirmesiyle birlikte vulvanın büyük ölçüde açılanması, ayrıca perianal yağ dokusundaki azalmaya bağlı olarak perineal atrofi şekillenmesi (Goncagul ve ark., 2012; Kumru, 2009), sunulan çalışmada da benzer bir durumun açıklık çukurluğunda olabileceği ihtimalini düşündürmüştür. Sunulan çalışma bulguları incelendiğinde anüs çöküklüğünün pnömovaginalı ineklerde (Grup II) anlamlı bir şekilde daha derin olduğu görülmüştür (P=0.000). Ayrıca inekler vulva açıklarına göre gruplandırıldığında da, pnömovaginanın şiddeti ile anüs derinliği arasında doğru orantılı bir durum saptanmıştır.

Sonuç olarak, bu ön çalışma bulguları dikkate alındığında açıklık çukurluğu ve anüs derinliği pnömovaginalı ineklerde daha fazla gözlemlenmiştir. Bu nedenle, açıklık çukurluğu ve anüs derinliği ölçümü ineklerde pnömovaginanın tanısında bir belirteç olarak diğer tanı yöntemlerini destekleyen ve klinik sahada kullanılacak özellikte ölçüm yöntemidir. Ancak, gün içerisinde yem alımına bağlı olarak değişebilen açıklık çukurluğu derinliği ve anüs çöküklüğü dikkate alınarak, ölçümlerin standardize edilmesinin gerekliliği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Chenier TS, 2009: Conditions of the external genitalia of mares. In "Current Therapy in Equine Medicine", Ed; Robinson NE and Sprayberry KA, 6th Edition, Chapter 168, Saunders, St. Louis, USA, pp. 764.
- Dehghani SN, Yavari M, Kafi M, 2011: Treatment of pneumovaginitis in dairy cattle by caslick operation. *Res Opin Anim Vet Sci*, 1(6), 349-351.
- Demet Ö, 2010: İneklerde pnömovagina olgusu; önemli bir döl tutmama sorunu. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1(1), 26-28.
- Gautam G, Nakao T, 2009: Prevalence of urovagina and its effect on reproductive performance in Holstein cows. *Theriogenology*, 71, 1451-1461.
- Goncagul G, Seyrek Intas K, Kumru IH, Seyrek Intas D, 2012: Prevalence and accompanying signs of pneumovagina and urovagina in dairy cows in the Southern Marmara region. *Tierarztl Prax Ausg G*, 6, 359-366.

Kien-Nguyen C, Okouyi MWM, Hanzen Ch, 2014: A postmortem study of physiopathological characteristic of genital tracts of culled dairy cows in South Vietnam. In: Proceeding of th 9th International Ruminat Reproduction Symposium, Obhiro City, Japan, pp. 25-29.

Kumru IH, 2009: İneklerde pneumovagina ve ürovaginanın karşılaşıma sıklığı ve fertiliteye etkisi. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

Matyar G, 2009: Kısırlarda aşım sonrası geçici stapler (zımba) uygulamalarının gebe kalma oranı üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Sheldon IM, Barrett DC, Boyd H, 2004: The postpartum period. In: "Bovine Medicine. Diseases and Husbandry of Cattle", Ed; Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, 2nd Edition, Chapter 34, Wiley-Blackwell, St. Louis, USA, pp. 519.

Youngquist RS, Braun WF JR, 1993: Abnormalities of the tubular genital organs. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 9, 309-322.

***Yazışma Adresi:** E. Sinem ÖZDEMİR SALCI

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Görükle Kampüsü, 16059, Bursa, TÜRKİYE

E-mail: ssalci@uludag.edu.tr

Intrarenal Segmentation of the Renal Arteries in the Red Fox (*Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758*) from Anatolia.

Zekeriya Özüdoğru¹, Derviş Özdemir^{2*}, Mehmet Can³, Gürsoy Aksoy⁴

¹Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Aksaray, Aksaray, Turkey.

²Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Atatürk, Erzurum, Turkey.

³Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Balıkesir, Balıkesir, Turkey.

⁴Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, Kars, Turkey.

Geliş Tarihi: 08.02.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Abstract: This study was carried out to determine the biometric parameters and intrarenal segmentation of the renal arteries of kidney in the Red fox (*Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758*). Corrosion cast method was applied to fourteen kidneys. It was found that the means for diameter of the aorta abdominalis, arteria renalis dextra and arteria renalis sinistra were 6.09 mm, 2.45 mm and 1.94 mm, respectively. Arteria renalis dextra was longer than the left artery. The renal arteries were divided into the dorsal and ventral branches. Both dorsal and ventral branches gave off the arteria interlobaris, arteria arcuata and arteria interlobularis, respectively. The right dorsal branch gave off 6 to 7 segmental arteries, the right ventral branch 5 to 7 segmental arteries, the left dorsal branch 6 to 8 segmental arteries and the left ventral branch 4 to 7 segmental arteries. Double renal arteries were determined in 3 of 10 (30%) kidneys but only on the left side. As a result, arterial vascularization of red fox kidneys was examined and similarities and differences with other animal species were determined.

Keywords: Aorta abdominalis, Arteria renalis, Division, Kidney, Red fox.

Anadolu'daki Kırmızı Tilki (*Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758*) Böbrek Arterlerinin İntrarenal Segmentasyonu

Özet: Bu çalışma Kızıl tilkinin (*Vulpes Vulpes Leinnoleus 1758*) böbrek arterlerinin biyometrik parametrelerini ve intrarenal segmentasyonunu belirlemek amacıyla yapıldı. Ondört adet böbreğe ait arterlere korozyon kast yöntemi uygulandı. Aorta abdominalis ile arteria renalis dextra ve arteria renalis sinistra'nın çaplarının ortalamaları sırasıyla 6.09 mm, 2.45 mm ve 1.94 mm olarak ölçüldü. Arteria renalis dextra arteria renalis sinistra'dan daha uzundu. Renal arterler dorsal ve ventral dallara ayrılmaktaydı. Dorsal ve ventral dallar sırasıyla arteria interlobaris, arteria arcuata ve arteria interlobularis'ı vermektedir. Sağ dorsal dal, 6-7 segmental artere, sağ ventral dal 5-7 segmental artere, sol dorsal dal 6-8 segmental artere ve sol ventral dal ise 4-7 segmental artere bölünmekteydi. Double böbrek arteri 10 (% 30) böbrekten 3'ünde, sadece solda tespit edildi. Sonuç olarak, kızıl tilki böbreklerinin arterial vaskularizasyonu incelenerek, diğer hayvan türleriyle olan benzerlik ve farklılıkları ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Aorta abdominalis, arteria renalis, böbrek, kırmızı tilki, segmentasyon.

Introduction

The kidneys are fed by the arteria renalis dextra et sinistra originating from the aorta abdominalis (Aksoy and Ozudogru, 2003; Aslan, 1995; Atalar and Yilmaz, 2004; Christensen, 1952; Fuller and Huelke, 1973; Jain and Singh, 1987; Kurtul *et al.*, 2002; Nickel *et al.*, 1981; Ozdemir *et al.*, 2009; Ozudogru and Ozdemir, 2005; Ozudogru *et al.*, 2017; Reis and Tepe, 1956; Shively, 1978; Singh *et al.*, 1982; Wiland and Indykiewicz, 1999). Renal arteries arise sometimes double or multiple renal artery (Brudnicki *et al.*, 1986; Goscicka and Tomasik, 1979; Pollak *et al.*, 1986; Reis and Tepe, 1956; Sajjarengpong and Adiektaworn, 2006; Wiland *et al.*, 1996; Wiland and Indykiewicz, 1999). The renal arteries give rise to the ventral and dorsal branches before entering at the kidney's hilus.

Ventral and dorsal branches are separated into interlobar, arcuate and interlobular arteries, respectively (Evans and Christensen, 1993; Hadziselimovic and Cus, 1975; Maros *et al.*, 1984; Horacek and Earle, 1987; Marques-Sampaio *et al.*, 2007; Mazensky and Flesarova, 2017; Pereira-Sampaio *et al.*, 2004; Smith, 1999). Although many articles on fox kidney arteries have been published in the literature (Brudnicki *et al.*, 1996; Hadziselimovic and Cus, 1975; Nowicki, 2005; Wiland *et al.*, 1996), there are no reports on the details about this vessel's segmentation, biometric parameters and relationship with fox kidney. We have aimed to examine the biometric parameters and intrarenal segmentation of renal arteries in Red Fox.

Materials and Methods

Red foxes brought to the clinic of Ataturk University Veterinary Faculty for treatment but not able to be treated were sent to Department of Anatomy. In the study, kidneys of seven adult foxes were used without gender differences. Corrosion cast method was applied to the arteries of the kidneys (Nerantsiz *et al.* 1978, Sindel *et al.* 1990, Tompset 1970). The arteries were washed with 0.9% salt solution via a cannula placed in the aorta abdominalis. The renal arteries were injected with takilon, 20% powder monomethyl-methacrylate and 80% liquid polymethyl-methacrylate. Polymerization was carried out at room temperature for 24 hours to these materials. They were exposed to corrosion at 30% KOH at 60 ° C for 24-48 hours. for 24 hours 48 hours and then washed with tap water. These materials had photographed. An electronic calibrator was used for measurements. Descriptive statistics have been made with the help of excel program.

Results

The biometric parameters and intrarenal division of the arteria renalis in the Red Fox was investigated. The diameter and lengths of the arteriae renales and their branches had been given in the Table 1 and 2. It was determined that aorta abdominalis was 6.09 mm diameter, arteria renalis dextra was 2.45 mm diameter and arteria renalis sinistra was 1.94 mm, on average in Red fox. The distance of arteria renalis dextra et sinistra was 5.56 mm. Arteria renalis dextra was 2.09 cm far from the hilus and arteria renalis sinistra was 2.08 cm. Arteria renalis dextra slightly arose cranial to the arteria renalis sinistra and was longer (Figure 1, 2). Arteria renalis dextra et sinistra gave dorsal and ventral branches after 1.46 cm and 1.19 cm from the hilus respectively. Furthermore, in three samples, ventral and dorsal branches of arteria renalis sinistra arose from abdominal aorta directly (Figure 1, 2).

Table 1. Biometric parameters of the aorta abdominalis, arteria renalis dextra et sinistra.

Character	1	2	3	4	Mean	5	6	7	Mean	
Diameter of aorta abdominalis (mm)	5.44	5.84	5.72	5.34		7.23	6.92	6.12	6.09	
Diameter of arteria renalis dextra (mm)	2.09	2.19	2.28	1.98		2.91	3.24	2.45	2.45	
Diameter of arteria renalis sinistra (mm)	2.04	1.98	2.13	1.62	1.94	Dorsal branch	2.00	2.78	1.94	2.34
						Ventral branch	1.34	2.35	1.67	1.78

Table 2. The number and lengths of the arteriae renales and their branches.

N	1 6d	2 6s	3 7d	4 7s	5 1d	6 1s	7 5d	8 5s	9 4d	10 4s	11 2d	12 2s	13 3d	14 3s	M
D										2.23		1.90		2.68	2.08
V										2.19		1.75		2.43	2.12
L	1.67	1.40	1.83	1.35	2.37	2.10	1.89	1.36	3.18		2.52		3.32		2.09
W	1.18	1.03	1.25	1.01	1.09	1.19	1.14	1.19	1.78	double	1.44	double	1.84	double	1.29
Dn	5	4	6	5	6	6	7	6	6	6	6	8	6	7	6
Vn	5	4	5	5	6	5	7	6	5	4	7	7	5	7	5.57
X	4.43	5.37	4.62	3.00	7.35	7.12	7.03	5.56							

N: Number of kidney, D: Length of the dorsal branch before giving the first interlobar artery (cm), V: Length of the ventral branch before giving the first interlobar artery (cm), L: Length of arteria renalis from its origination to the hilus of the kidney (cm), W: Length of arteria renalis dextra et sinistra before bifurcating the dorsal and ventral branch, Dn: Number of arteria interlobaris originating from the dorsal branch, Vn: Number of arteria interlobaris originating from the ventral branch, X: Distance between the origins of the arteria renalis dextra et sinistra, M: Mean value, d: Right, s: Left.

It was observed that right dorsal branch gave off 6 to 7 arteriae interlobares dextra, the right ventral branch ramified as 5 to 7 arteriae interlobares dextra, the left dorsal branch gave off 6 to 8 left arteriae interlobares sinistra and the left

ventral branch ramified as 4 to 7 left arteriae interlobares sinistra (Figure 3-6). In one sample, 2 arteriae interlobares were found to be fed from the ventral branch of the arteria renalis sinistra for the dorsal surface of the kidney.

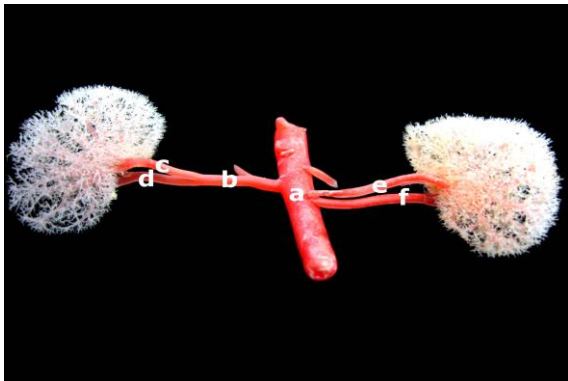


Figure 1. Ventral view of the intrarenal branches of the renal arteries. a. Aorta abdominalis, b. arteria renalis dextra, c. Right ventral branch, d. Right dorsal branch, e. Left ventral branch, f. Left dorsal branch.

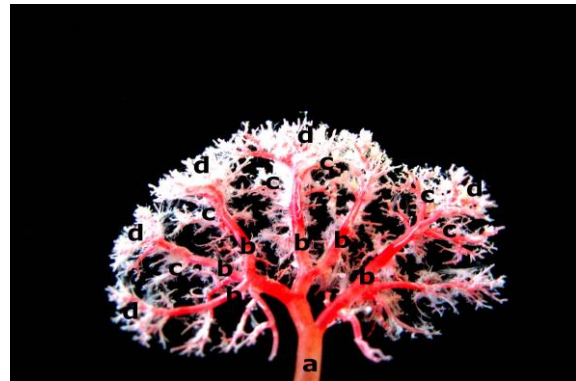


Figure 4. Dorsal view of the arteria renalis dextra. a. Right dorsal branch, b. Right dorsal interlobar arteries, c. Right dorsal arcuate arteries, d. Right dorsal interlobular arteries.

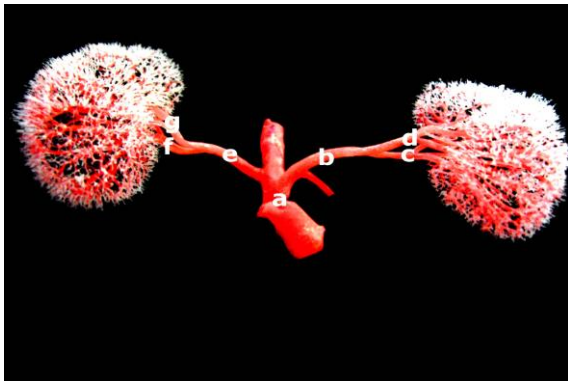


Figure 2. Dorsal view of the intrarenal branches of the arteriae renales. a. Aorta abdominalis, b. Arteria renalis dextra, c. Right ventral branch, d. Right dorsal branch, e. Arteria renalis sinistra, f. Left ventral branch, g. Left dorsal branch.

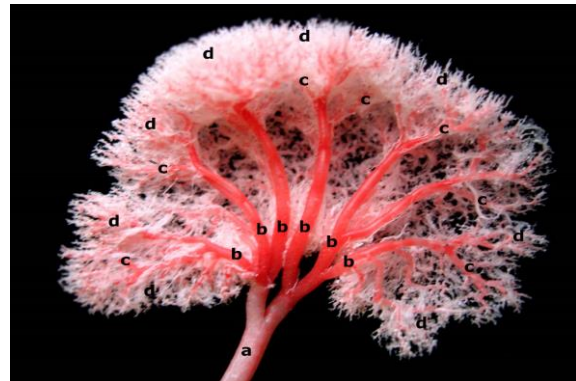


Figure 5. Dorsal view of the arteria renalis sinistra. a. Left dorsal branch, b. Left dorsal interlobar arteries, c. Left dorsal arcuate arteries, d. Left dorsal interlobular arteries.



Figure 3. Ventral view of the arteria renalis dextra. a. Right ventral branch, b. Right ventral interlobar arteries, c. Right ventral arcuate arteries, d. Right ventral interlobular arteries.

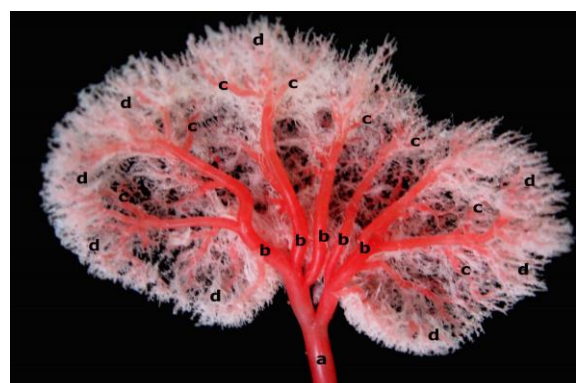


Figure 6. Ventral view of the arteria renalis sinistra. a. Left ventral branch, b. Left ventral interlobar arteries, c. Left ventral arcuate arteries, d. Left ventral interlobular arteries.

Discussion

Nowicki (2005) reported that diameter of the aorta abdominalis; arteria renalis dextra et sinistra were 6.41 mm, 3.05 mm and, 2.71 in wild fox and

5.46 mm, 2.87 mm and 2.82 mm in silver fox on average respectively. We found that diameter of the aorta abdominalis; arteria renalis dextra et sinistra were 6.09 mm, 2.45 mm and 1.94 mm on average, respectively. In addition, in three

materials, the ventral and dorsal branches of the arteria renalis sinistra arose directly from aorta abdominalis. Diameters of dorsal and ventral branches were found 2.34 mm and 1.78 mm on average, respectively.

In the literature, frequency of double arteriae renales have been shown to be (Christensen, 1952), 24.79% (29 from 117 kidneys in dogs); (Reis and Tepe, 1956), 12.80% (64 from 500 dogs); (Shively, 1978) 13.40% (67 from 500 dogs); (Brudnicki *et al.*, 1986), (in racon dogs), (Pollak *et al.*, 1986), 23% (184 from 800 kidneys); (Ulutas *et al.*, 1987), 16.3% (14 from 92 kidneys); (Brudnicki *et al.*, 1996), (in blue fox), (Wiland and Indykiewicz, 1999), 20% (7 from 35 dogs); (Aksoy and Ozudogru, 2003), (1 from 12 kidneys in Van cats); (Bordei *et al.*, 2004), 20% (54 from 272 kidneys); (Sajjarengpong and Adiektaworn, 2006), 9.72% (14 from 144 dogs); (Marques- Sampaio *et al.*, 2007), 11.6% (11 from 95 kidneys in dogs). In the present research, frequency of double renal arteries was 30% (3 from 10 kidneys). In the present study double arteria renales were observed only on the left side. Christensen (1952), Reis and Tepe (1956), Shively (1978), Wiland and Indykiewicz (1999), have reported the observation of double arteriae renales on both sides in dogs, in humans,, but they had stated that the incidence of double arteriae renales was higher on the left side than on the right side. Similar to the findings of our study, on the otherhand, Wiland and Indykiewicz (1999) and Sajjarengpong and Adiektaworn (2006), observed double arteriae renales in minks and in dogs, respectively, only on the left side. Reis and Tepe (1956), Wiland and Knasiecka (1970), Shively (1978), Brudnicki *et al.* (1986), Sampaio and Passos (1992) have reported the observation of triple and multiple arteriae renales, although we did not observe multiple arteriae renales in this study. Arteria renalis dextra was found longer than arteria renalis sinistra in our study. Christensen (1952), (in dog); Fuller and Huelka (1973), (in rat, cat and dog); Singh *et al.* (1982), (in dog, rabbit, pig and goat); Paryani (2012) in one humped camel; Aksoy *et al.* (2004), (in Tuj sheep); Sajjarengpong and Adirektaworn (2006), (in dog) have also similar findings in their studies. Although, Aksoy and Ozudogru (2003), (in Van cat); Ozudogru and Ozdemir (2005), (in wolf); Ozdemir *et al.* (2009), (in Kangal dog) reported that arteria renalis sinistra was longer than arteria renalis dextra. By examining 288 kidneys in dogs Sajjarengpong and Adirektaworn (2006) reported that arteriae renales dextra were separated from the aorta abdominalis before the arteria renalis

sinistra in 69.23% of the samples, while in 30.76% arteria renalis dextra et sinistra emerged from the aorta abdominalis at the same level. In this study, arteria renalis dextra was separated from the aorta abdominalis before the arteria renalis sinistra.

Fuller and Huelke (1973) reported that 4 segmental arteries arise from both the dorsal and ventral branches of kidney in the cat; Christie (1980) stated that kidney arteries form dorsal and ventral branches before entering the hilus, and that the dog gives 4 to 6 interlobar or arteriae arcuatae; Evans and Christensen (1993) determined that gave off 7 segmental arteries in the dog; Aksoy and Ozudogru (2003) found that the right dorsal branch gave off 3 to 5, right ventral branch 4 to 6, and, left dorsal branch 3 to 6, left ventral branch gave off 3 to 4 arteriae interlobares in the Van cat; Ozudogru and Ozdemir (2005) observed that the right dorsal branch gave off 5 to 7, right ventral branch 4 to 5, and, left dorsal branch 6 to 9, left ventral branch gave off 7 to 8 arteriae interlobares in the wolf and Ozdemir *et al.* (2009) reported that the right dorsal branch was 5-6, the right ventral branch 4-6 and the left dorsal branch 5-7, and the left ventral branch was 6-8 arteriae interlobares in the Kangal dog. In the study, it was showed that the right dorsal branch gave off 5 to 7 arteriae interlobares, the right ventral branch gave off 5 to 7 arteriae interlobares, left dorsal branch 4 to 8 arteriae interlobares and left ventral branch 4 to 7 arteriae interlobares. Aslan (1995) reported that the arteria renalis gave off the ventral and dorsal branches 1.36 cm away from aorta abdominalis while the distance from the point where the dorsal and ventral branches separated to hilus of the kidney was 2 cm in the dog. Kurtul *et al.* (2002) showed in their study, the distances of arteria renalis dextra and sinistra from their dorsal and ventral branches were 2.3-2.5 cm 1.7-1.8 cm, respectively in the dog. Aksoy and Ozudogru (2003) reported that the dorsal branch was 0.55 cm in the first arteria interlobaris, 0.39 cm in the ventral branch, and 1.75 cm in the renal hilus in the Van cat. Aksoy *et al.* (2004) showed in their study that the arteria renalis dextra was separated to the dorsal and ventral branches 1- 1.14 cm far from the hilus, the left one gave rise to the dorsal and ventral branches 1.3-1.7 cm in the Tuj sheep. Aksoy *et al.* (2004) demonstrated that length of the dorsal branch before giving the first arteria interlobaris was 0.72 cm, length of the ventral branch 0.75 cm, and length of the arteria renalis from its origination to the hilus of the kidney was 2.34 cm in the Tuj sheep. Ozudogru and Ozdemir (2005) reported that the

dorsal and ventral branches of the arteria renalis dextra are 2.5-3.5 cm, the dorsal and ventral branches of the arteria renalis sinistra are 3.5-4 cm; 1.9-2 cm in the right dorsal branches, 1.5-1.6 cm in the right ventral branches, 1.8-2.1 cm in the left dorsal branches, and 1.6-1.7 cm in the left ventral branches away from the hilus in wolf. Sajjarengpong and Adirektaworn (2006) determined that the lengths of arteria renalis dextra and sinistra from the aorta abdominalis to kidney in male and female dogs were 4.01 and 3.66 cm as well as 3.98 and cm 3.56 cm respectively. Ozdemir et al. (2009) reported that the arteria renalis dextra had dorsal and ventral branches after a distance of 2-2.5 cm from the hilus and 2.2-2.7 cm from the arteria renalis sinistra in the Kangal dog.

In this study, arteria renalis dextra was 1.46 cm from the hilus and the arteria renalis sinistra was 1.19 cm away from the dorsal and ventral branches. Arteria renalis dextra was 2.65 cm and the arteria renalis sinistra was 2.09 cm away from the hilus. The mean distance between the origins of the arteria renalis dextra et sinistra was 5.56 mm. As a result, arterial vascularization of red fox kidneys was examined and similarities and differences with other animal species were determined.

References

- Aksoy G, Ozudogru Z, 2003: A macroscopical investigation on the intrarenal segmentation of the renal arteries in the Van Cat. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 9, 9-13.
- Aksoy G, Kurtul I, Ozcan S, Aslan K, Ozudogru Z, 2004: Intrarenal arteries and their patterns in the Tuj sheep. *Vet Med Czech*, 49(2), 57-60.
- Aslan K, 1995: Macroanatomic investigations on the intrarenal segmentation of the renal artery in Mongrel Dog. *Vet Bil Derg*, 11(2), 149-154.
- Atalar O, Yilmaz S, 2004: Macroanatomical investigation of the renal arteries in the porcupines (*Hystrix cristata*). *Firat University Journal of Health Sciences*, 18, 51-53.
- Bordei P, Sapte E, Iliescu D, 2004: Double renal arteries orijinating from the aorta. *Surg and Radiol Anat*, 26(6), 474-479.
- Brudnicki W, Jablonski R, Skoczylas B, 1986: The cases of multiple renal arteries in racoon (*Nyctereutes procyonoides* Gray). *Zeszyty Naukowe Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy Zootechnika*, 140, 25-28.
- Brudnicki W, Jablonski R, Skoczylas B, Wiland C, 1996: Przypadek wielokrotnych tetnic nerkowych (*aa. renales*) u lisa srebrzystego (*Vulpes vulpes*). *Zeszyty Naukowe Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy Zootechnika*, 204, 53-62.
- Christensen GC, 1952: Circulation of blood through the canine kidney. *Am J Vet Res*, 13, 236-245.
- Christie BA, 1980: Collateral arterial blood supply to the normal and ischemic canine kidney. *Am J Vet Res*, 41(9), 1519-1525.
- Evans HE, Christensen GC, 1993: Urogenital Systems. In: Miller's Anatomy of the Dog. 3 rd ed. HE Evans (ed). W.B. Saunders Company. Philadelphia, 494-500.
- Fuller PM, Huelke DF, 1973: Kidney vascular supply in the rat, cat and dog. *Acta Anat*, 84(4), 516-22.
- Goscicka D, Tomasiak E, 1979: Extent of vascularization by the two branches of the renal artery in the brown bear (*Ursus arctos*). *Anat and Embryol*, 157(2), 227-229.
- Hadziselimovic H, Cus M, 1975: Blood vessels and excretory apparatus of the kidney in some wild animals. *Acta Anat*, 91(1), 71-82.
- Horacek MJ, Earle AM, 1987: The renal vascular system of the monkey: A gross anatomical description. *J Anat*, 153, 123-137.
- Jain RK, Singh Y, 1987: Vascularisation of kidneys in bovine calves. *Indian Vet J*, 64, 1059-1062.
- Kurtul I, Dursun N, Ozcan S, 2002: Relation of vascularization of the kidney and the adrenal gland of German Shepherd Dogs. *Istanbul Univ, Vet Fak Derg*, 28(1), 65-71.
- Marques-Sampaio BPS, Pereira-Sampaio MA, Henry RW, Favorito LA, Sampaio FJ, 2007: Dog kidney: Anatomical relationships between intrarenal arteries and kidney collecting system. *Anat Rec*, 290, 1097-1022.
- Maros TN, Maros TG, Racz L, Scherfer S, Tordai Z, 1984: A new conception concerning the angioarchitectural organization of the canine kidney. *Anat Anz*, 155(1-5), 203-207.
- Mazensky D, Flesarova S, 2017: Arrangement of renal arteries in guinea pig. *Anat Rec*, 300(3), 556-559.
- Nerantsiz C, Antonakis E, Avgoustakis D, 1984: A new corrosion casting technique. *Anat Rec*, 191, 321-325.
- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, 1981: The anatomy of the domestic Animals. Vol.3. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg,
- Nowicki W, 2005: Comparison of biometric characters of aorta branches in farm and wild fox (*Vulpes vulpes* L.). *Folia Biol*, 53, 35-38.
- Ozdemir D, Ozudogru Z, Malkoc I, 2009: Intrarenal segmentation of the renal arteries in the Kangal Dog. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15(1), 41-44.
- Ozudogru Z, Ozdemir D, 2005: Intrarenal arterial patterns in the wolf (*Canis lupis*). *Vet Med Czech*, 50(9), 411-414.
- Ozudogru Z, Ozdemir D, Balkaya H, 2017: Arterial vascularization of kidneys in the hasak sheep. *Firat University, Journal of Health Sciences*, 31(3), 169-172.
- Pereira-Sampaio MA, Favorito LA, Sampaio FJ, 2004: Pig Kidney: Anatomical relationships between the internal arteries and the kidney collecting system. Applied study for urological research and surgical training. *J Urol*, 172, 2077-2981.

- Pollak R, Prusak BF, Mozes MF, 1986: Anatomic abnormalities of cadaver kidneys procured for Purpose of transplantation. *Am J Surg*, 52, 233-235.
- Reis RH, Tepe P, 1956: Variations in the patern of renal vessels and their relation to the type of posterior vena cava in the dog (*Canis familiaris*). *Am J Anat*, 99, 1-5.
- Sajjarengpong K, Adirektaworn A, 2006: The variations and patterns of renal arteries in dogs. *Thai J Vet Med*, 36(1), 39-45.
- Sampaio FJ, Passos MA, 1992: Renal arteries: Anatomic study for surgical and radiological practise. *Surg and Radiol Anat*, 14, 113-117.
- Shively MJ, 1978: Origin and branching of renal arteries in the dog. *J Am Vet Med Assoc*, 173, 986-989.
- Sindel M, Ucar Y, Ozkan O, 1990: Renal arterial system of the domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): Corrosion cast study. *J Anat Soc India*, 39, 31-40.
- Singh AP, Singh GR, Sharma DN, Nigam JM, Bhargava AK, 1982: Arteriographic anatomy of the abdominal aorta in the goat, dog, pig and rabbit. *Vet Radiol*, 23(6), 279-181.
- Smith BJ, 1999: Canine Anatomy. Lippincott Williams. Philadelphia, pp. 441-446.
- Tompset DH, 1970: Anatomical Techniques. 2nd ed. E. And S. Livingstone, Edinburg and London.
- Ulutas I, Yurtseven M, Aycan K, 1987: Anomalies of number and origin of the renal artery. *Ege J Med*, 26, 11-16.
- Wiland C, Knasiecka V, 1970: Przypadki wielokrotnych tetnic nerkowych u norki i lisa niebieskiego. *Rocz WSR w Poznaniu*, 49, 107-111.
- Wiland C, Indykiewicz P, 1999: Multiple renal arteries (Aa. Renales) in mink and dog. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 2, 1-4.
- Wiland C, Kubica J, Zawadzinska B, 1996: The multiple renal arteries in the silver fox (*Vulpes vulpes L.*). *Zeszyty Naukowe Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy Zootechnika*, 28, 35-40.

***Corrospoding Author:** Derviş Özdemir
Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine,
Atatürk University, Erzurum/TURKEY
E-mail: dozdemir2544@hotmail.com

Akrep Antivenomunun İmmunassay Yöntem Üzerindeki İnterferans Etkisinin Deneysel Araştırılması

Ataman GÖNEL

Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 12.05.2018

Kabul Tarihi: 19.11.2018

Özet: Skorpionizmde özgün tedavi yöntemi antivenom kullanımıdır. Antivenomların klinik olarak alerjik reaksiyonlara yol açtığı bilirse de antikor özelliğinden dolayı immunassay ölçüm yöntemlerinde oluşturabileceği interferans etkisi bilinmemektedir. İmmunassay metotlar hormon, kardiyak markır, tümör markırı ve pek çok büyük molekülü parametrenin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Birçok çalışmada farklı antikorların neden olduğu interferans gösterilmiş fakat aynı durumun antivenomlar tarafından da olabileceği gösterilmemiştir. Bu çalışmanın amacı akrep antivenomunun immunassay yöntemde interferans oluşturma potansiyelinin deneysel olarak araştırılmasıdır. Bu çalışmada akrep antivenomunun 23 adet immunassay test üzerindeki interferans etkileri incelendi. Çalışma sonucunda serbest T3 seviyesi yüksek titre antivenomda %13.09'luk bir sapma gösterdi. Fertilitate testlerinden progesteron seviyesi düşük titrede %10.58 oranında, testosteron seviyesi %14.57 oranında negatif interferansa uğramıştır. Parathormon seviyelerinde düşük ve yüksek titre antivenom maruziyetinde %11-16 arasında negatif interferans gözlenmiştir. Kütle kreatin kinaz MB testi %7.35-21.58 oranında negatif interferansa, troponin I testi %3-8.9 oranında pozitif interferansa uğramıştır. Özellikle kardiyak testlerin yanlış negatif bulunması kardiyak komplikasyonların atlanmasına neden olacağından hayati öneme sahiptir. Tümör markırları içinde en çok negatif interferansa maruz kalan test %28.65-28.9 oranı ile kanser antijeni 19-9 oldu. Çoğu klinisyen tarafından bilinmeyen interferans etki immunassay testlerde hatalı ölçüme neden olabilecek birer risk faktörüdür. Tedavi sırasında oluşabilecek bu tür durumlarla karşılaşmamak için hastane bilgi yönetim sistemleri ile klinisyenler önceden uyarılabilir. İnterferansın neden olduğu hatalı test sonuçları malpraktislerle karşılaşma riskini arttırmaktadır. Sonuç olarak klinisyenler immunassay tekniklerden daha iyi yöntemler bulunana kadar laboratuvar testlerini değerlendirirken interferansa karşı dikkatli olmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Skorpionizm, Antivenom, İnterferans, İmmunassay.

Experimental Investigation of Interference Effect of Scorpion Antivenom on Immunoassay Method

Abstract: The original treatment of scorpionism is intravenous antivenom infusion. It is known that antivenom causes clinically allergic reactions, however potential interference effect of scorpion antivenom is unknown. The aim of present study was to investigate the potential of antivenom interference in immunoassay methods. In this study, 50 uL and 100 uL scorpion antivenom was added to 23 immunoassay tests used for measuring T3, progesterone, testosterone, parathormone, creatin kinase, cancer antigen and troponin-I concentrations. The free T3 level showed a deviation of 13.09% in high titer antivenom. Progesterone levels were low in the fertility test at 10.58% and testosterone level was 14.57% at the low level. Rate of free T3 deviation was 13.09% in high titer of antivenom. In fertility tests, it was observed that levels of progesterone and testosterone decreased between 10.58-14.57% in low titre antivenom exposure. Negative interference was observed between 11-16% in low and high titre antivenom at parathormone levels. Mass creatine kinase MB test exposed 7.35-21.58% negative interference and troponin-I test introduced positive interference. Especially, the false negative results of cardiac test have a vital proposition because it will cause cardiac complications to be skipped. The most negative interference was observed for Cancer Antigen 19-9 concentration with a rate of 28.65-28.9%. For all immunoassay measurements, every antibody is a risk factor that cause false negative or positive test result. Therefore, clinicians should be careful to confirm diagnostic laboratory tests until better methods than immunoassay techniques are found.

Keywords: Scorpionism, Antivenom, Interference, Immunoassay.

Giriş

Skorpionizm dünyanın bazı bölgelerinde yaygındır ve gerçek bir halk sağlığı problemidir. Multiorgan disfonksiyonuna neden olarak ölüme sonuçlanabilmektedir (Khattabi ve ark., 2011). Bu tür vakalarda tek tedavi seçeneği antivenom kullanımıdır (Theakston ve ark., 2003). Elde edilen antivenomun antidotal fraksiyonu, tam IgG, Fab veya F (ab) 2'dir. (Gutiérrez ve ark., 2003).

Skorpionizm maruziyetinde intravenöz antivenom uygulanması ile sistemik belirtiler 6-24 saat içinde kaybolmasına rağmen, multiorgan disfonksiyonu açısından takip gereklidir (Valikhanfard-Zanjani ve ark., 2016). Venom organlara zarar verdiği gibi antivenomlar da alerjik ve anafaktik reaksiyonlara neden olabilmektedir. Antivenom tedavi sonrası organ fonksiyonlarının monitörizasyonunda

diagnostik ve prognostik olarak önemli olan laboratuvar parametrelerinin ne kadar interfere olduğu hakkında yeterince veri bulunmamaktadır. İmmunassay yöntemin kullanıldığı analizlerde interferans pek çok klinisyen tarafından farkında olunmayan hatta bilinmeyen ciddi bir sorundur (Ismail ve ark., 2002). İnterferans, “örnekte bulunan bir maddenin, analit için genellikle konsantrasyon veya aktivite olarak ifade edilen, sonucun doğru değerini değiştiren etkisi” olarak tanımlanmaktadır (Thompson ve ark., 2008). İmmunassay metotun kullanıldığı kitler, kompleks biyolojik reaktifleri (özellikle immunglobulinler) içerdiklerinden dolayı ölçüm sırasında başka kompleks moleküllerle interferansın farklı türlerine hassasiyet göstermektedirler. İmmunglobulinler, immunassay metotun reaktiflerinde enzim işaretli immunglobulinler ile yarışarak veya immunkompleks oluşturarak test sonuçlarında yanlış pozitiflik veya yanlış negatiflik oluşturabilir (García-González ve ark., 2016; Sturgeon ve ark., 2011). İnterferans bu şekilde doğru test sonucunu gizleyerek gereksiz klinik araştırmalara ve hasta için uygunsuz tedaviye yol açabilir. İmmunoglobulin içerikli ilaçların parenteral uygulanmasından sonra analit ölçümü yapıldığında immunassay metotlar kullanılıyorsa interferansın mümkün olabileceği düşünülerek hastaya yaklaşılmalıdır. Bu çalışmanın odak noktası immunglobulin içerikli akrep antivenomunun kemilüminesans akrodinyum ester tekniğinin kullanıldığı immunassay yönteminde oluşturduğu interferansın deneysel olarak araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Deneysel olarak dizayn edilen çalışmada 5 cc seviye 3 hormon kontrol solüsyonu (BİORAD lot no: 40323, Irvine, CA) ve troponin I için kardiyak markır kontrol solüsyonu (BİORAD cardiac markers plus controls lot:23662, Irvine, CA) kullanıldı. Liyofilize kontrol solüsyonu 5 cc grade 1 distile su ile sulandırıldı ve 1 saat oda sıcaklığında bekletilerek rotator ile homojenize edildi. Daha sonra dilüsyonel etkiyi ortadan kaldırmak için 1 cc kontrol solüsyonuna 50 uL distile su eklendi ve ADVIA Centaur XP (Siemens, Washington, DC) hormon otoanalizöründe 23 adet test [TSH (Tiroid Stimüle Edici Hormon), FT3 (Serbest T3), FT4 (Serbest T4), Ferritin, Folat, B12 (Vitamin B12), FSH (Folikül Stimüle Edici Hormon), LH (Lüteinizan Hormon), PRG (Progesteron), E2 (Estradiol), HCG (Human Koryonik Gonadotropin), Testosteron, PSA (Prostat Spesifik Antijen), Free PSA (Free Prostat Spesifik Antijen), Kortizol, PTH (Parathormon), Kütle CK-MB

(Kütle Kreatin Kinaz MB), Troponin I, CA15-3 (Kanser Antijeni 15-3), CA 19-9 (Kanser Antijeni 19-9), AFP (Alfa Feto Protein), CA125 (Kanser Antijeni 125), CEA (Karsinoembriyonik Antijen)] kemilüminesans akrodinyum ester yöntemi kullanılarak hormon otoanalizöründe 3 kere çalışıldı. İnterferansı gözlemek için ilk sulandırılan kontrol solüsyonundan 1 cc ayrı bir godaye alınarak üzerine 50 uL akrep antivenomu (THSK, serial number: AK-20B) eklendi. 37°C de 30 dakika inkübe edildikten sonra aynı parametrelerin tekrar çalışılması sağlandı. Aynı işlemler bu kez 100 uL distile su ve 100 uL antivenom eklenerek tekrarlandı. Rastgele hataların önüne geçebilmek için yapılan tekrarlı çalışmadan sonra, ortalama (mean) ve standart sapma (SD) değerleri ayrı ayrı hesaplandı. 50 uL ve 100 uL distile su eklenerek elde edilen hormon test sonuçları, aynı miktar antivenom eklenerek elde edilen ortalama sonuçlar arasındaki fark hesaplanarak yüzde sapma miktarları tespit edildi. “Hedef değerden sapma miktarının yüzde ifadesi olarak tanımlanan” BİAS değerleri SPSS v20 programı ile hesaplanarak, Şekil 1 ve Tablo 1’de gösterildi. Herhangi bir canlıya girişimsel işlem içermeyen deneysel modelimiz etik kurul onayı gerektirmemektedir. BİAS formülündeki c1 ifadesi distile su eklenmiş kontrol solüsyonunun konsantrasyonunu, c2 ifadesi antivenom eklenmiş kontrol solüsyonunun konsantrasyonunu ifade etmektedir.

$$BİAS (\%) = \frac{c2 - c1}{c1} \times 100$$

Bulgular

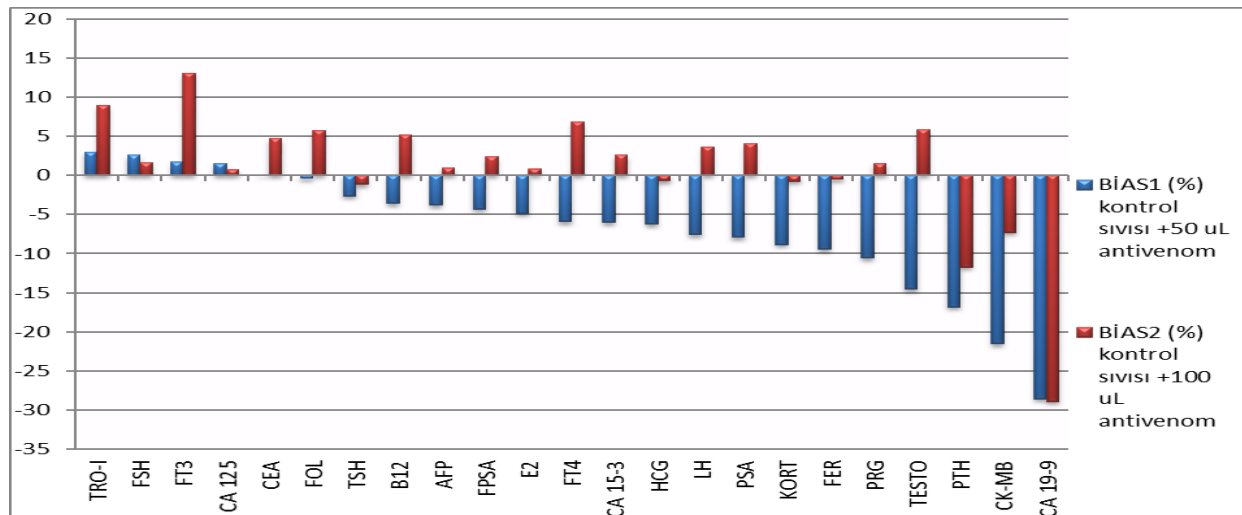
Çalışma sonucu TSH, Ferritin, HCG, Kortizol, PTH, Kütle CK-MB, CA 19-9 testleri düşük ve yüksek konsantrasyon antivenom maruziyetinde negatif interferans gösterdi. Bütün testler içinde en fazla negatif interferans tümör markırı olan CA 19-9 testinde %28.6-28.95 oranlarında meydana geldi. Sırasıyla kütle CK-MB %7.35-21.58, PTH %11.78-16.85 arasında diğer testlerden daha fazla negatif interferansa uğrayan testler oldu. HCG, Ferritin ve TSH testlerinin negatif interferansa uğrama yüzdeleri %0.53-9.51 arasında değişen oranlarda gerçekleşti. Pozitif interferansa uğrayan testlerden FT3 en fazla sapma (%1.69-13.09) gösteren test oldu. Pozitif interferansa uğrayan diğer testlerin (FSH, CEA, CA 125, Troponin I) sapma miktarı %0.03-8.9 arasındaydı. FT4, Folat, Vitamin B12, LH, PRG, E2, Testosteron, PSA, Free PSA, CA15-3, AFP testleri düşük konsantrasyon antivenom maruziyetinde

%0.4-14.57 oranında negatif interferans, yüksek konsantrasyon antivenom maruziyetinde %0.81-

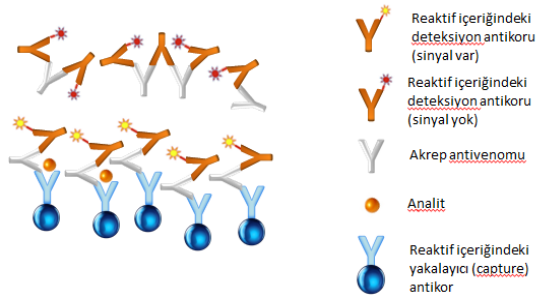
6.78 oranında daha düşük düzey pozitif interferans gösterdi (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol solüsyonuna eklenen antivenom miktarlarına göre testlerin interferansa maruziyet miktarlarının % BİAS olarak ifadesi. (NI: Negatif Interferans, PI: Pozitif Interferans, DTNI: Düşük Titrede Negatif Interferans, YTPI: Yüksek Titrede Pozitif Interferans).

No	TEST	Kontrol solüsyonu + 50uL distile su (mean±SD)	Kontrol solüsyonu + 50uL antivenom (mean±SD)	BİAS1 (%)	Kontrol solüsyonu + 100uL distile su (mean±SD)	Kontrol solüsyonu + 100uL antivenom (mean±SD)	BİAS2 (%)	Açıklama
1	Tiroid Stimule Edici Hormon (TSH)	41.37±0.78	40.27±0.80	-2.65	36.82±0.88	36.38±1.13	-1.18	NI
2	Serbest T3 (FT3)	9.85±0.58	10.02±0.63	+1.69	8.84±0.62	10±0.73	+13.09	PI
3	Serbest T4 (FT4)	2.91±0.06	2.74±0.06	-5.95	2.57±0.09	2.74±0.16	+6.78	DTNI,YTPI
4	Ferritin (FER)	268.9±4.03	243.33±4.04	-9.51	240.32±6.6	239.03±11.28	-0.53	NI
5	Folat (FOL)	10.87±0.67	10.82±0.37	-0.40	9.72±0.617	10.28±0.64	+5.68	DTNI,YTPI
6	Vitamin B12	715.7±4.35	689.8±1.99	-3.62	639.48±11.85	672.37±18.86	+5.14	DTNI,YTPI
7	Folikül Stimule Edici Hormon	57.05±0.83	58.52±0.91	+2.59	50.7±1.3	51.54±1.4	+1.64	PI
8	Lüteinizan hormon(LH)	54.69±1.25	50.53±1.95	-7.59	49.06±1.18	50.85±1.42	+3.64	DTNI,YTPI
9	Progesteron (PRG)	17.9±0.66	16±0.4	-10.58	15.87±0.79	16.11±0.44	+1.54	DTNI,YTPI
10	Estradiol (E2)	711.68±2.23	676.77±4.72	-4.91	635.82±8.39	641.01±21.77	+0.81	DTNI,YTPI
11	Human Koryonik Gonadotropin	171.83±1.53	161.1±3.42	-6.25	153.59±3.38	152.47±7.59	-0.72	NI
12	Testosteron	705±4.92	602.29±3.16	-14.57	629.78±8.63	666.9±23.49	+5.89	DTNI,YTPI
13	Prostat Spesifik Antijen (PSA)	14.03±0.7	12.91±0.46	-7.96	12.9±0.96	13.43±0.6	+4.03	DTNI,YTPI
14	Serbest Prostat Spesifik Antijen	8.35±0.15	7.99±0.27	-4.31	7.45±0.19	7.62±0.19	+2.35	DTNI,YTPI
15	Kortizol (KORT)	39.13±0.6	35.66±1.34	-8.86	34.73±0.92	34.45±1.34	-0.80	NI
16	Parathormon (PTH)	408.77±1.53	339.9±2.88	-16.85	365.06±5.64	322.03±8.27	-11.78	NI
17	Kütle Kreatin Kinaz MB (Kütle CK-MB)	0.46±0.04	0.36±0.005	-21.58	0.41±0.031	0.38±0.01	-7.35	NI
18	Troponin I (TRO-I)	2.87±0.16	2.90±0.19	+3.0	2.80±0.13	3.05±0.18	+8.9	PI
19	Kanser antijeni 19-9 (CA 19-9)	11.74±0.29	8.38±0.21	-28.60	10.45±0.36	7.42±0.22	-28.95	NI
20	Kanser antijeni 125 (CA 125)	6.57±0.25	6.66±0.15	+1.52	5.82±0.23	5.87±0.2	+0.78	PI
21	Kanser antijeni 15-3 (CA 15-3)	9.83±0.37	9.23±0.35	-6.07	8.77±0.42	9±0.23	+2.62	DTNI,YTPI
22	Alfa Feto Protein (AFP)	208.37±3.07	200.43±1.75	-3.81	187.21±4.20	189.06±6.5	+0.98	DTNI,YTPI
23	Karsinoembriyonik Antijen (CEA)	33.84±1.23	33.85±0.18	+0.03	30.41±1.38	31.85±0.87	+4.70	PI



Şekil 1. 50uL ve 100 uL eklenen antivenom miktarlarına göre testlerin hedef değerden sapma (BİAS) yüzdeleri. (TRO-I: Troponin-I, FSH: Folikül uyarıcı hormon, FT3: Serbest T3, CA 125: Kanser antijeni 125, CEA: Kanrinoembriyonik antijen, FOL: Folat, TSH: Tiroid uyarıcı hormon, B12: Vitamin B12, AFP: Alfa fetoprotein, FPSA: Serbest prostat spesifik antijen, E2: Estradiol, FT4: Serbest T4, CA 15-3: Kanser antijeni 15-3, HCG: Human koryonik gonadotropin, LH: Lüteinizan hormon, PSA: Prostat spesifik antijen, KORT: Kortizol, FER: Ferritin, PRG: Progesteron, TESTO: Testosteron, PTH: Parathormon, CK-MB: Kütle kreatin kinaz MB, CA 19-9: Kanser antijeni 19-9).



Şekil 2. İmmunassay metotta akrep antivenomu interferansına örnek. Antivenom hem yakalayıcı (capture) hem de deteksiyon antikorlarını bağlayabilir. Oluşan immunkompleks ile ortamda analit olmasa dahi deteksiyon antikorunda oluşan sinyal pozitif interferansa neden olur. Ortamdaki akrep antivenomu deteksiyon antikorunu fazla miktarda bağlarsa analit ortamda olsa dahi sinyal oluşmaz ve negatif interferansa neden olur.

Tartışma ve Sonuç

Akrep antivenomları skorpionizm vakalarında acilen kullanılması gereken immunglobulin içerikli antiserumlardır. Antivenomlar ekzojen kaynaklı immunglobulinlerin neden olduğu immün reaksiyonlara yol açabilirler (De Rezende ve ark., 1995). Vücuda enjekte edildikten sonra venom antijeninin yanında başka antijenlere de afinite gösterebilirler. İmmunassay yöntemle çalışılan testlerde kit içeriğindeki işaretli antikorlarla etkileşime girerek hatalı ölçümlere neden olma potansiyeline sahip olan antivenomlar, skorpionizm maruziyetinde organ disfonksiyon takibinde kullanılacak testlerin sonuçlarını interfere edebilirler. İmmunassay metotlar çoğunlukla büyük moleküllü hormonlar, vitaminler ve tümör markörlerinin kan düzeyi ölçümünde kullanılırlar (Aydın, 2015; Taylor ve ark., 2015). Rutinde kullanılan birçok immunassay ölçüm tekniği bulunmaktadır (Wild, 2013). İmmunassay metotun kullanıldığı kompleks biyolojik reaktifler immunglobulin içerdiklerinden dolayı ölçüm sırasında başka kompleks moleküllerle interferansın farklı türlerine maruziyet göstermektedirler (Rauch ve ark., 2005). İmmunglobulinler immunassay metotun reaktiflerinde enzim işaretli immunglobulinler ile yarışarak veya immunkompleks oluşturarak serumda bulunan analitlerin hatalı düşük veya yüksek ölçülmesine neden olurlar (Şekil 2). Ortamda bulunan antivenom antikorlarının oluşturacağı immunkompleks yapının sinyal oluşturması durumunda pozitif interferans, sinyal oluşumunun engellenerek yanlış düşük sonuç oluşması durumunda negatif interferans meydana

gelir. İnterferans yanlış tanı ve tedaviye yol açabilir (García-González ve ark., 2016).

İnterferansların oluşturduğu hatalı ölçümlere ilgili çeşitli vaka bildirimleri yapılmıştır. Kemilüminesans immünassay (CLIA) ve elektrokemilüminesans immünassay (ECLIA) metodu kullanılarak yapılan bir çalışmada tekrarlanan ölçümlerde klinik ile uyumsuz olarak yüksek TSH, ACTH, FSH, PTH, IGF-1, prolaktin, insan koryonik gonadotropin ve kalsitonin düzeylerinin kandaki heterofil antikorlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir (Gulbahar ve ark., 2015). TSH ve gonadotropinler için yapılan bir çalışmada, 5310 hastanın 28'inden alınan örneklerde immunglobulin kaynaklı interferans bulunmuştur (Ismail ve ark., 2002). 10 ülkede 66 laboratuvarında gerçekleştirilen geniş tabanlı başka bir araştırmada, hastalardan alınan numunelerin sonuçları incelenmiş ve 3445 sonuçtan %8.7'sinin yanlış olduğu tespit edilmiştir. Yanlış ölçüm nedeni IgG içerikli otoimmün antikorların meydana getirdiği interferans olarak gösterilmiştir (Marks, 2002). IgG antikorları gibi IgA, IgM veya nadiren IgE de interferans oluşturabilir (Chatenoud ve ark., 1986; Frödin ve ark., 1992; McCarthy ve ark., 1988). Septisemisi olan hastalarda yapılan bir çalışmada kandaki IgM antikorlarının oluşturduğu interferans ile immünassay metotla çalışılan kardiyak troponin I, tirotropin, hCG, alfa-fetoprotein ve CA-125 testlerinde artmış yalancı pozitiflik ile karşılaşmıştır (Covinsky ve ark., 2000).

Birçok antikor üzerinde yapılan interferans çalışmalarına rağmen daha çok IgG içerikli olan akrep antivenomlarının immünassay ölçüm tekniğinin kullanıldığı testlere olan etkisi araştırılmamıştır. Çalışmamızda kemilüminesans akridinyum ester yöntemi ile ölçümü yapılan 23 farklı testin (TSH, FT3, FT4, Ferritin, Folat, B12, FSH, LH, PRG, E2, HCG, Testosteron, PSA, Free PSA, Kortizol, PTH, kütle CK-MB, Troponin I, CA 19-9, CA 125, CA 15-3, AFP, CEA) antivenom titresinden sapma miktarları gözlemlenmiştir. Rutinde sıkça kullanılan TSH düzeyleri akrep antivenomundan minimal düzeyde (%1.8-2.65) etkilenmiştir. TSH testinin bu yöntem ile ölçüm hassasiyetinin artırıldığı başka bir çalışmada da gösterilmiştir (Natrajan ve ark., 2010). Tiroid fonksiyon testlerinden FT4'deki sapma da minimal düzeyde olmuştur. Fakat FT3 seviyesi yüksek titre antivenomda %13.09'luk bir sapma göstermiştir. Testler arasında farklılık gösterebilse de klinisyenler genellikle laboratuvar testlerinin \pm %10 hata payı olabileceğini öngörerek tanı ve tedaviye yaklaşırlar (Ayyıldız, 2016; Çelebiler ve ark., 2011). FT3 bu oranın üzerinde olsa da TSH ve FT4'deki sapma düzeyleri düşük seviyede kalmıştır. Tiroid fonksiyon

bozukluğunda klinisyenler için primer önemli olan testler TSH ve FT4'dür. FT3'deki sapma oluştuğunda, FT4 ve TSH konsantrasyonları ile korele olmadığında klinisyenler tarafından hatalı ölçüm olarak tahmin edilebilmektedir. Fertilitite testlerinden progesteron seviyesi düşük titrede %10.58 oranında, testosteron seviyesi %14.57 oranında negatif interferansa uğramıştır. Bu tür bir ölçüm hatasında fertilizasyon tarama testleri yapılan hastada yanlış progesteron seviyesi klinisyeni progesteron yetmezliğine bağlı infertiliteye, erkeklerde yanlış düşük testosteron seviyesi, hormonal yetmezliğe bağlı infertiliteye yönlendirecektir. Hormon testlerinden *in vitro* şartlarda anstabil olarak bilinen parathormon (PTH) seviyeleri düşük ve yüksek titre antivenom maruziyetinde %11-16 arasında negatif interferans göstermiştir. Bu düzeydeki bir sapma sınır değer PTH yüksekliği yaşayan hiperparatirodizmde hastalığın atlanmasına ve komplikasyonların kronikleşmesine neden olabilir. CLIA immunassay tekniğinin kullanıldığı başka bir çalışmada, IgG sınıfından olan romatoid faktörden (RF) kaynaklı pozitif interferans, PTH düzeylerinin yanlış yüksek ölçülmesine neden olmuştur. RF'nin serumdan uzaklaştırılması ile PTH sonuçlarının düzeldiği gözlemlenmiştir (Cavalier ve ark., 2008). Çalışmamızda kütle CK-MB testinde %7.35-21.58 oranında negatif interferans gerçekleşmiştir. Özellikle skorpionizm maruziyetinde kardiyak testlerin yanlış negatif bulunması kardiyak komplikasyonların atlanmasına neden olacağından hayati öneme sahiptir. Kütle CK-MB'nin troponin I ile birlikte değerlendirilmesi faydalı olacaktır. Göğüs ağrısı olan hastalarda belli saat aralıklarında tekrar kütle CK-MB ölçümü yapılarak, testin yükselme eğilimine göre hastanın durum değerlendirilmesi yapılır. Akrep antivenomu kandan elimine edilinceye kadar interferans devam edeceğinden hasta kötüleşse bile tekrarlı ölçümlerde yanlış düşük sonuçlar elde edilme ihtimali yüksektir. Troponin I parametresi %3-8.9 oranında pozitif interferansa uğramıştır. Kütle CK-MB'nin negatif interferansa, troponin I düzeyinin pozitif interferansa uğraması kardiyak komplikasyonun atlanmaması açısından avantaj gibi görünse de, yeterince yükselmemiş troponin I düzeyi olduğunda akut kardiyak komplikasyonların atlanma ihtimali söz konusu olacaktır. Anti-troponin antikorları ve hemolizli numunelerin interferanslarına bağlı olarak yanlış negatif troponin sonuçları bildirilmiş vakalar bulunmaktadır (Bais, 2010; Eriksson ve ark., 2005). Hemolizin troponin I seviyelerini negatif interfere ettiği bilinmektedir. Hemolizin de eklendiği bir interferans durumunda kardiyak komplikasyonu gösterecek herhangi bir laboratuvar kanıtı

olmayacaktır. Kardiyak patolojiyi gösteren testlerin yanlış ölçümü her zaman mortalite riskini arttırma potansiyeline sahiptir. Çalışmamızda tümör markırları için de en çok negatif interferansa maruz kalan test %28.65-28.9 oranı ile CA 19-9 oldu. 2006 yılında CA 19-9'un immunassay metot ile ölçümünde kandaki romatoid faktörden etkilendiği gösterilmiştir (Berth ve ark., 2006). Heterofil antikorların total PSA testinde pozitif interferansa neden olduğu bildirilmiştir (Morgan ve ark., 2001). Çalışmamızda ise total PSA testinde antikor yoğunluğuna göre düşük konsantrasyon antivenom varlığında %7.96 oranında negatif interferans, yüksek konsantrasyon antivenom varlığında %4.03 oranında pozitif interferans meydana geldi. Antikor yoğunluğuna göre bazen hem pozitif hem de negatif interferansın oluşması, immunkompleks veya yoğun antikor varlığının oluşturduğu çengel etkisine (hook effect) bağlı olabilir. Bu tür tedavi amaçlı kullanılan antikorların kandan eliminasyon süreleri interferansın görülme süresini doğrudan etkileyecektir. Acil müdahale edilmesi gereken skorpionizm vakalarında elbette tümör markırı testi yüksekliği önemsiz olabilir. Fakat homeostazisi gösteren takip parametrelerinin negatif interferansla hatalı ölçülmesi hayati risk oluşturacaktır.

IgG bağlayan antikor olan heterofil anti-cisimciklerin (HAMA) ve RF gibi doğal antikorların hatalı sonuçlara yol açtığı birçok çalışmada gösterilmesine rağmen, aşı, intravenöz immunglobulin gibi terapötik olarak kullanılan antikor içerikli preparatların, hangi testi ne kadar interfere ettiği yeterince araştırılmamıştır (Krahn ve ark., 1999; Marks, 2002). Asemptomatik gidebilen birçok otoimmün hastalıkta kanda yükselen antikor seviyelerinin immunassay testleri interfere ederek, başka hastalıkları ne kadar gizlediğine dair yeterince bilgiye sahip değiliz. Doğru test sonuçlarını gizleyen interferans faktörleri malpraktislerle karşılaşma riskini arttırmaktadır. Deneysel olarak kullandığımız akrep antivenomu interferans oluşturan antikorlardan sadece bir tanesidir. Eksojen veya endojen kaynaklı tüm antikorlar immunassay testlerde bu potansiyele sahip birer risk faktörüdür. Bununla birlikte, birçok klinisyenin farkında olmadığı ve gerçekleşme zamanı öngörülemeden interferansın tespit edilmesi, tekrarlı ölçümlerle de mümkün değildir. Preklinik uzmanlar bu tür etkileri bilseler dahi, hastalara uygulanan tedavi verilerine sahip olmadıklarından interferansı önceden tahmin etmeleri zordur.

Sonuç olarak hastaya ait interferansa neden olacak risk faktörleri (ilaç ve hastalık gibi) preklinik uzmanların onay ekranlarında gösterilecek

interferansa maruz kalmış şüpheli sonuçlar uyarı notu tarzında sonuç bilgi ekranında gösterilebilir. İnvitro diagnostik test üreticisi şirketler tarafından ekzojen ve endojen antikorlardan etkilenmeyen teknikler geliştirilene kadar, klinisyenlerin bu tür hatalı sonuçlara karşı farkındalığının artırılması, yanlış tanı ve tedavinin önlenmesi açısından hayati öneme sahiptir.

Kaynaklar

- Aydin S, 2015: A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*, 72, 4-15.
- Bais R, 2010: The effect of sample hemolysis on cardiac troponin I and T assays. *Clin Chem*, 56, 1357-59.
- Berth M, Bosmans E, Everaert J, Dierick J, Schiettecatte J, Anckaert E, Delanghe J, 2006: Rheumatoid factor interference in the determination of carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9). *Clin Chem and Lab Med (CCLM)*, 44, 1137-39.
- Cavalier E, Carlisi A, Chapelle JP, Delanaye P, 2008: False positive PTH results: an easy strategy to test and detect analytical interferences in routine practice. *Clinica Chimica Acta*, 387, 150-52.
- Chatenoud L, Baudrihay MF, Chkoff N, Kreis H, Goldstein G, Bach JF, 1986: Restriction of the human in vivo immune response against the mouse monoclonal antibody OKT3. *The Journal of Immunology*, 137, 830-38.
- Covinsky M, Laterza O, Pfeifer JD, Farkas-Szallasi T, Scott MG, 2000: An IgM λ antibody to Escherichia coli produces false-positive results in multiple immunometric assays. *Clin Chem*, 46, 1157-61.
- De Rezende, Alves N, Dias MB, Campolina D, Chavez-Olortegui C, Diniz CR, Santos Amaral CF, 1995: Efficacy of antivenom therapy for neutralizing circulating venom antigens in patients stung by Tityus serrulatus scorpions. *Am J Trop Med Hyg*, 52, 277-80.
- Eriksson S, Halenius H, Pulkki K, Hellman J, Pettersson K, 2005: Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies. *Clin Chem*, 51, 839-47.
- Frödin JE, Lefvert AK, Mellstedt H, 1992: The clinical significance of HAMA in patients treated with mouse monoclonal antibodies. *Cell biophysics*, 21, 153-65.
- García-González E, Aramendía M, Álvarez-Ballano D, Trincado P, Rello L, 2016: Serum sample containing endogenous antibodies interfering with multiple hormone immunoassays. *Laboratory strategies to detect interference*. *Pract Lab Med*, 4, 1-10.
- Gulbahar O, Degertekin CK, Akturk M, Yalcin MM, Kalan I, Atikeler GF, Altinova AE, Yetkin I, Arslan M, Toruner F, 2015: A case with immunoassay interferences in the measurement of multiple hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100, 2147-53.
- Gutiérrez JM, León G, Lomonte B, 2003: Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of immunoglobulin therapy for envenomation. *Clin Pharmacokinet*, 42, 721-41.
- Ismail AAA, Walker PL, Barth JH, Lewandowski KC, Jones R, Burr WA, 2002: Wrong biochemistry results: two case reports and observational study in 5310 patients on potentially misleading thyroid-stimulating hormone and gonadotropin immunoassay results. *Clin Chem*, 48, 2023-29.
- Ismail AAA, Walker PL, Cawood ML, Barth JH, 2002: Interference in immunoassay is an underestimated problem. *Ann Clin Biochem*, 39, 366-73.
- Khattabi A, Soulaymani-Bencheikh R, Achour S, Salmi LR, 2011: Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus development. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 105, 364-69.
- Krahn J, Parry DM, Leroux M, Dalton J, 1999: High percentage of false positive cardiac troponin I results in patients with rheumatoid factor. *Clin Biochem*, 32, 477-80.
- Marks, Vincent, 2002: False-positive immunoassay results: a multicenter survey of erroneous immunoassay results from assays of 74 analytes in 10 donors from 66 laboratories in seven countries. *Clin Chem*, 48, 2008-16.
- McCarthy RC, Ryan FJ, McKenzie CM, 1988: Interference in immunoenzymometric assays caused by IgM anti-mouse IgG antibodies. *Arch Pathol Lab Med*, 112, 901-07.
- Natrajan A, Sharpe D, Costello J, Jiang Q, 2010: Enhanced immunoassay sensitivity using chemiluminescent acridinium esters with increased light output. *Anal Biochem*, 406, 204-13.
- Rauch P, Zellmer A, Dankbar N, Specht C, Sperling D, 2005: Assayoptimierung: Störeffekte bei

- Immunoassays erkennen und vermeiden. *Laborwelt*, 4, 33-39.
- Sturgeon CM, Viljoen A, 2011: Analytical error and interference in immunoassay: minimizing risk. *Ann Clin Biochem*, 48, 418-32.
- Taylor AE , Keevil B, Huhtaniemi IT, 2015: Mass spectrometry and immunoassay: how to measure steroid hormones today and tomorrow. *Eur J Endocrinol*, 173, D1-D12.
- Theakston RDG, Warrell DA, Griffiths E, 2003: Report of a WHO workshop on the standardization and control of antivenoms. *Toxicon*, 41, 541-57.
- Valikhanfard-Zanjani E, Mirakabadi AZ, Oryan S, Goodarzi HR, Rajabi M, 2016: Specific Antivenom Ability in Neutralizing Hepatic and Renal Changes 24 Hours after *Latrodectus dahli* Envenomation. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 10(2), 238-245.
- Thompson M, Ellison SLR, 2008: A review of interference effects and their correction in chemical analysis with special reference to uncertainty. *Accred Qual Assur*, 10, 82–97.
- * Yazışma Adresi:** Ataman GÖNEL
Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
E-mail: atamangonel@gmail.com

Serological Investigation of Equine Viral Arteritis Infection in Donkeys and Horses in the Eastern Anatolia Region

Sibel GÜR^{1*}, Metin Gürçay², Bünyamin İrehan³, Turhan Turan⁴

¹Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey.

²Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Bingöl University, Bingöl, Turkey.

³Virology Laboratory, Elazığ, Veterinary Control Institute, Elazığ, Turkey.

⁴Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Cumhuriyet University, Sivas, Turkey.

Geliş Tarihi: 18.05.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Abstract: In this study, equine viral arteritis (EVA) infection was serologically investigated in adult horses (n=193) and donkeys (n=227) in five different localizations in Elazığ and Tunceli provinces, Eastern Anatolia Region. As result of indirect ELISA, positivity in horses was 15% (29/193) in total, ranged from 6.5% and 24.3%. The average value for donkeys was 8.3% (19/227), the rates varied between 2.4% and 14.2%. The mean age of the sampled horses and donkeys was 7.4 and 13.2, respectively, while the mean age of the seropositives was 7.1 and 11.8. Statistical analysis showed no correlation in the donkeys between sex and infection exposure, but there was a significant correlation in gender in horses. This is the first report on EVA in the studied provinces. Considering focused animal population and sampling criteria, determining of positivity in all the studied localizations shows that the infection has been potential for the spread in the future.

Keywords: Donkey, East Anatolia, Equine viral arteritis, Horse, Turkey.

Doğu Anadolu Bölgesinde At ve Eşeklerde Equine Viral Arteritis Enfeksiyonunun Serolojik Olarak

Araştırılması

Özet: Bu çalışmada Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki Elazığ ve Tunceli illerinde 5 farklı lokalizasyonda yetişkin ve klinik olarak normal olan atlarda (n=193) ve eşeklerde (n=227), equine viral arterit (EVA) enfeksiyonu serolojik olarak araştırılmıştır. İndirekt ELISA sonucuna göre atlarda %6.5 ile %24.3 arasında değişen oranlarda pozitiflik bulundu, toplamda ise 193 örnekten 29'unda (%15) seropozitiflik tespit edildi. Eşekler için ortalama değer %8.3 (19/227) olarak bulunmuş olup, oranların %2.4 ile %14.2 arasında değiştiği görüldü. At ve eşeklerin yaş ortalamaları sırasıyla 7.4 ve 13.2'dir, pozitiflerin ise yaş ortalamaları 7.1 ve 11.8'dir. İstatistik analizinde cinsiyete ve enfeksiyona maruz kalma arasında eşeklerde fark yoktu, fakat aygırlarda anlamlı bir bağlantı olduğu belirlendi. Bu çalışma, örneklenen illerde EVA ile ilgili ilk araştırmadır. Hedef alınan hayvan popülasyonu ve örnekleme kriterleri göz önüne alındığında, çalışılan tüm yerlerde pozitifliğin tespit edilmiş olması, gelecekte enfeksiyonun yayılma potansiyelinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: At, Eşek, Doğu Anadolu, Equine viral arteritis, Türkiye.

Introduction

Equine Viral Arteritis (EVA) usually causes asymptomatic disease, severe clinical disorders also occur during outbreaks. Main hosts are horses, donkeys, mules and zebras, (Paweska and Barnard, 1993; Paweska et al., 1997; Balasuriya, 2014), alpacas are also reactive to the virus (Weber et al., 2006). All equine species thought to be susceptible to the infection (Balasuriya, 2014; Paweska et al., 1997).

Equine Arteritis Virus (EAV) is classified in family *Arteriviridae*, in order of *Nidovirales* (Snijder and Meulenberg, 1998; Cavanagh, 1999). Agent is an enveloped, single stranded, positive sense RNA virus. EAV has one serotype, but small variations in the field isolates result with prognostic diversity (Murphy et al., 1992; Stadejek et al., 1999, 2006).

The agent can transmit through respiratory and venereal tracts. As a general feature of the infection, asymptomatic carrier status seen in about 30 to 60% of stallions for as long as 6-7 years (Timoney et al., 1986, 1987). The duration of virus spread in mare is limited with only to acute phase (Timoney and McCollum, 1985). On this account, only semen and stallions that were tested and negativity proved ones allowed to do international trade (Metcalf, 2001). Mortality can be seen in foals with digestive and respiratory system disorders (Del Piero et al., 1997). Deaths are rare in adults, but reproductive system problems are common. Despite its widespread distribution, occasionally emerging epidemics characterized by abortion storms and deaths in young animals (Eichhorn et al.,

1995; Holyoak et al., 2008; Timoney and McCollum, 1988).

After first identification in the US in 1953, EVA was well investigated in horses (Doll et al., 1957). Generally, up to 20% seropositivity have been detected in various countries. The highest value (73%) reported in Australia (Huntington et al., 1990). Despite the low antibody (Ab) rate in the United Kingdom, infection continues to be a problem (Newton et al., 1999), as in many other countries (Pronost et al., 2010). Infection rates increase with age and seropositivity is higher in males (Rola et al., 2011). The pathogenetic features of the infection have been well described only in horses (Del Piero et al., 1997; Campos et al., 2014; Timoney et al., 1986; Vairo et al., 2014). The first serological evidence in the donkey was determined in the samples collected from South Africa between 1989 and 1992 by Paweska and Barnard (1993). The susceptibility of donkeys has been described by many researchers (McCollum et al., 1995; Paweska et al., 1995; Ramina et al., 1999; Stadejek et al., 2006). Experimental studies and field investigations showed that the pathogenic features of the infection were not exactly the same, but were almost identical to those in horses (McCollum et al., 1995; Paweska et al., 1996, 1997). Current serological data are limited comparing horses. Paweska and Barnard (1993) found 17% positivity in 734 donkeys in South Africa and reported 30% rate in some localization. Serological studies in Turkey carried out mainly in horses and reported proportions are usually less than 10% (Hasan, 2008; Kirmizigül et al., 2007, 2009; Un et al., 2014; Yildirim et al., 2008; Yilmaz et al., 1996). Slightly higher rates were reported in a few studies; 10.8% (22/204) (Acar et al., 2016), 14.3% (9/63) (Turan et al., 2007) and 16% (57/346) (Marenzoni et al., 2013). Bulut et al. (2012) have reported the highest value as 23.4% (89/380) so far, which was determined in the Central Anatolia.

The aim of this study was to investigate EAV infection serologically in donkey and horses, to determine and compare the presence and rates of infections in these species, and to obtain the first data in Elazig and Tunceli provinces.

Materials and Methods

Sampled animals: Blood serum samples were collected between March 2009 and August 2010 from the small private farms in the rural areas of Elazig and Tunceli provinces. Total of 91 horses and 131 donkeys sampled from Elazig province; Central villages, Palu and Maden districts. From Tunceli, a total of 102 horse and 96 donkey samples were collected from the Pertek and Hozat districts. A

total of 193 horses and 227 donkeys were sampled at five locations (Table 1). Depending on the preferred breeding pattern, nearly all the donkeys were female (92.5%, 210/227). The gender of the horses (n=193) was almost equal (99 females and 94 male). The ages of horses were between 1 and 16 years old. There was only one foal in two-month-old (Figure 1).

The sampled donkey's age was ranged from 2 to 30, there was only one 4-month old donkey. (Figure 2). The mean age of the donkeys was 13.2 and that of the horses was 7.1. The number of horses and donkeys sampled in this study was less than 3 in each farm. Dual species breeding was never been found on the same farm.

During sampling, age, sex and clinical examination findings of the animals were noted. All animals were clinically normal. Detailed health record does not obtain but according to the anamnesis, some young foals were told to have experienced clinical disorders but abort cases were very rare. Blood samples were drawn from Vena Jugularis into vacutainer tubes containing silicone, transferred to the laboratory at cold chain. The blood samples were centrifuged at 3000xg for 10 minutes. Subsequently, serum fractions separated and then stored at -20°C until testing.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA): An indirect ELISA (ID Vet, France) was preferred for EAV-specific antibody controls due to its high sensitivity and specificity (Kondo et al., 1998). The sera samples were tested according to the manufacturer's instructions.

Results

ELISA results: EAV specific antibodies were detected in all studied locations and in both species. At horses, values ranged from 6.5% to 24.3%. It was found that, the highest value was found in Maden/Elazig (24.3%), but the average proportions in Elazig (14.3%, 13/91) and Tunceli (15.7%, 16/102) was close to each other. Out of 193 horses, 29 (15%) were seropositive for EVA infection.

Comparing horse, lower rates were determined in donkeys. The lowest value was detected at central Elazig (2.4%), the mean value of this province was 5.3% (7/131). In the Tunceli province, 11.1% and 14.3% rates were detected in the two districts, with an average of 12.5% (12/96). The mean seropositivity of positive donkey was 8.3% (19/227) (Table 1). According to the sex distribution of Ab positivity, no significant difference was observed in horses (f-16.1%/m-13.9%) and donkeys (f-8.5%/m-5.8%) (Table 2).

Table 1. The location and number of the sampled horses and donkeys and EVA test results.

No	Localisation	Horse			Donkey		
		Sample no	(Ab+)	(%)	Sample no	(Ab+)	(%)
1	Elazig/Center	31	2	6.5	41	1	2.4
2	Elazig/Palu	23	2	8.7	44	4	9.1
3	Elazig/Maden	37	9	24.3	46	2	4.3
4	Tunceli/Pertek	34	6	17.6	54	6	11.1
5	Tunceli/Hozat	68	10	14.7	42	6	14.3
	Total	193	29	15	227	19	8.4

Table 2. Distribution of EAV Ab positivity by sex in horse and donkey.

Sex	Horse			Donkey		
	Sample no	(Ab+)	(%)	Sample no	(Ab+)	(%)
Female	99	16	16.1	210	18	8.5
Male	94	13	13.9	17	1	5.8
Total	193	29	15	227	19	8.4

The ages of the all sampled horses ranged from 1 to 16 years. Most of them were between 5 and 8 years old (average 7.4). Mean age of Ab positives was 7.1 years (Figure 1).

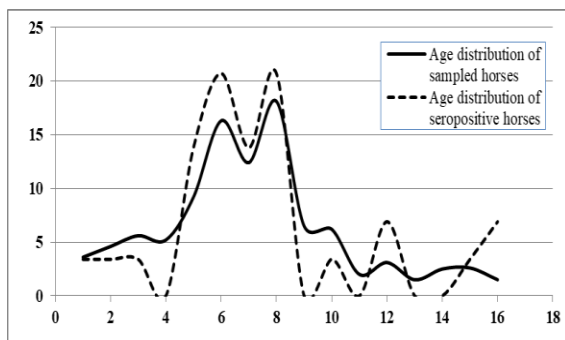


Figure 1: Age distribution of all horses and EVA positives (%).

The sampled donkeys were between four months old and 30 years of age. The majority of donkeys were between 10 and 15 years old. The mean age of all sampled donkeys was 13.2 while ab positives was 11.8. (Figure 2).

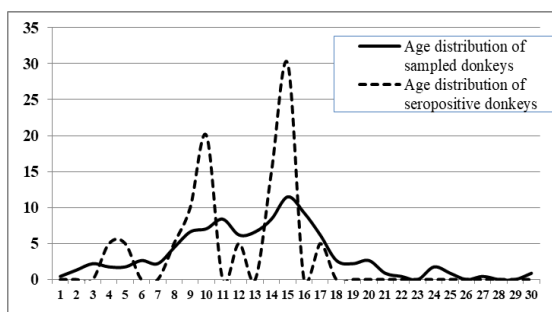


Figure 2: Age distribution of all donkeys and EVA seropositives (%).

Statistical analysis: According to chi-square analysis; there was no statistically significant difference between sex and exposure to infection in donkeys ($P>0.05$). However, correlation between sex and viral exposure was detected in horses, seropositivity rate was higher in stallion ($P<0.05$).

Discussion

In this study, blood samples were collected from small private family enterprises in five counties at two provinces to determine the spread of EVA in rural areas. According to the test results, the rates are almost equal in both horses and donkeys in two localisations, Palu/Elazig (8.7-9.1%) and Hozat/Tunceli (14.7-14.3%). The rates were slightly higher in horses raised in the central district of Elazig (6.5-2.4%) and Tunceli/Pertek (17.6-11.1%). The biggest inconsistency was detected in the Maden district of Elazig, the ratios were 24.3% at horses and 4.3% at donkeys (Table 1). The incidence observed in this study in horses (15%) was similar or slightly higher than previous reports in the near regions (Hasan 2008; Kirmizigul et al., 2007; Yildirim et al., 2008; Yilmaz et al., 1996). However, the data on donkeys (8.3%) was lower than that reported by Yildirim et al. (2008) (14.47%) in Kars province. According to age distribution, seropositive horses were generally between 5 and 8 years old (av. 7.1), and donkeys were 10 and 15 years old (mean 11.8). Positivity was found to be in accordance with age distribution. Infection was seen most frequently in horses between 4 and 9 and between 6 and 16 in donkeys. The gender of the sampled horses was very close, and there was no significant difference in the sex of the positives (13.9% male-16.1% female). The distribution of

positivity by sex was 5.8% (1/17) for male donkeys and 8.5% (18/210) for female donkeys. These data suggested that gender of donkeys did not associate with seropositivity for EAV.

Studies conducted in Turkey have mostly focused in Marmara, Eastern Anatolia and Central Anatolia regions. The seropositivity reported in the Northeastern Anatolia has ranged from 5% to 9.5% (Kirmizigül et al., 2007; Yılmaz et al., 1996). In addition, 400 horse and 76 donkey samples were negative at the same region (Kirmizigül et al., 2009). Gur et al., (2015) determined an incidence of 11.3% (14/124) in Van. Un et al. (2014) have reported a seropositivity of 8.4% (32/379) in Sanliurfa province. Serologic investigations in the Marmara region were almost similar; 7.5% (Hasan, 2008), 14.3% (9/63) (Turan et al., 2007), 16% (57/346) (Marenzoni et al., 2013). There were a few study carried out in Central Anatolia; Acar et al. have reported a seropositivity of 10.8% (22/204) while Bulut et al. (2012) have detected the peak value of 23.4%. Viral antigen was isolated from horses with respiratory system disorders and the isolates showed close relation to the virulent strain Bucyrus of the North American origin (Ataseven et al., 2013). Except for Iceland and Japan (Kondo et al., 1998), infection has spread worldwide (Timoney and McCollum, 1988). EAV occasionally causes an outbreak characterized with abortion and newborn deaths (Newton et al., 1999; Pronost et al., 2010). Various incidences have been reported in different countries around the world; 55.1% (Rola et al., 2011) in Poland, 15% in Mongolia (Pagamjaw et al., 2011) to 73% in Australia (Huntington et al., 1990).

In the light of the current literature, the pathogenesis of the infection appears to be the same in the studied species. However, severity of the disease differs depending on the variant viruses (Del Piero et al., 1997; Eichhorn et al., 1995; McCollum et al., 1995; Murphy et al., 1992). Ramina et al. (1999), identified the virus in semen of both donkey and horses in Italy. In an experimental infection with KY-84 strain, moderate and severe clinical findings have observed in horses while mild prognosis in donkeys (McCollum et al., 1995). Paweska et al. (1995) isolated the agent in semen of an antibody positive donkey stallion in South Africa. Stadejek et al. (2006) determined a genetically new EAV genotype from naturally infected donkeys and found 60 to 70% of the nucleotide identity of the reference virus. In another study, researchers suggested that the new type evolved from original South African asinine strain via propagation in different host species, especially draw attention at the possible role of donkeys (Paweska et al., 1995). Recently, a new European has isolate (O8P178, EU-1 clade) was reported. Disorders were limited to

respiratory and alimentary systems (Vairo et al., 2014). Generally, data on pathogenetic characteristics are less in donkey than in horses.

Serological research reports give there are up to 20% positivity in Standard-bred horses and donkeys in many parts of the world. The infection appears to increase in general in the world (Holoak et al., 2008; Huntington et al., 1990; Pagamjaw et al., 2011; Rola et al., 2011). From time to time, the infection turns out to be serious outbreaks. The studies in our country show that approximately one in every 10 animals was exposed to the virus, but the clinical status of the infection is unknown due to the absence of detailed health records. Since the economic prospects of ordinary horse and donkey breeding at as family-type, small farm in rural areas was accepted as insignificant, preventive health practices are not being carried out and adequate attention to diagnosis and treatment is not carefully shown to these animals. Horses and donkeys are still indispensable instruments of sustainable rural agriculture. Breeding purposes are different; standard-bred are used for transportation, as a pet, a companion and pack animal. Donkeys are also more multifunctional animals. They are quite preferential by many aspects like low breeding costs, mood temperament and tough structure under field conditions. However, due to the increase in agricultural mechanization, the need for standard-bred horses and donkeys has been reducing. The number of horses, donkeys and mules has decreased by 36.4%, 48.6% and 43.9% respectively in the last decade in Turkey. According to TUIK 2017 data; there are 120.000 horse, 152.000 donkey and 38.000 mule. The reduction is likely to continue.

The first detection of the EVA infection was in 1996 in Turkey (Yılmaz et al., 1996). There is no data on previous history due to the lack of retrospective studies. The main advantage of the studied population in this study is a considerably low viral transmission possibility by no co-breeding of sensitive species in any of the studied farms. In addition, the donkeys are mostly located in mountainous areas; this fact can explain lower infection rates. Nevertheless, it was saw that the both species exposed to the virus in all studied districts. The first data was obtained on EVA in these provinces. Even though, the determined rates are consistent with previous studies, it was higher than expected considering the sampled population profile. When time distribution of the serological data from all over the Turkey is considered, it appears that there has been a slight increase in the last decade, and it has potential to widespread in the upcoming years, and standard-bred horses and donkeys may create a risk for pure racehorses. It is

necessary to determine the actual profile of the infection by conducting virus isolation and countrywide surveillance as a preliminary basis for the implementation of preventive practices.

References

- Acar DB, Gur S, Gurcay M, Ozenc E, 2016: A serologic investigation for equine viral arteritis and equine infectious anemia virus infections in horses in Afyonkarahisar, Ankara and Eskişehir provinces, Turkey. *Kocatepe Vet J*, 9, 159-164.
- Ataseven VS, Oguzoglu TC, Karapinar Z, Bilge-Dagalp S, 2013: Partial sequence of the ORF1b gene fragment of equine arteritis viruses detected in Turkey and phylogenetic analysis. *Revue Med Vet*, 164, 67-71.
- Balasuriya UB, 2014: Equine viral arteritis. *Vet Clin North Am Pract*, 30, 543-560.
- Bulut O, Yavru S, Yapici O, Kale M, Avci O, 2012: The serological investigation of equine viral arteritis infection in Central Anatolia of Turkey. *J Anim Vet Adv*, 11, 924-926.
- Campos JR, Breheny P, Araujo RR, Troedsson MH, Squires EL, Timoney PJ, Balasuriya UB, 2014: Semen quality of stallions challenged with the Kentucky 84 strain of equine arteritis virus. *Theriogenology*, 82, 1068-1079.
- Cavanagh D, 1999: Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch Virol*, 142, 629-633.
- Del Piero F, Wilkins PA, Lopez JW, Glaser AL, Dubovi EJ, Schlafer DH, Lein DH, 1997: Equine arteritis virus in newborn foals: clinical, pathological, serological, microbiological and immunohistochemical observations. *Equine Vet J*, 29, 178-185.
- Doll ER, Knappenbergerand RE, Bryans JT, 1957: An outbreak of abortion caused by the equine arteritis virus. *Cornell Vet*, 47, 69-75.
- Eichhorn W, Heilmann M, Kaaden OR, 1995: Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. *Zentralbl Veterinarmed B*, 42, 573-576.
- Gur S, Cabalar M, Kaya A, Gurcay M, 2015: Van ilinde equine viral arteritis enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Kocatepe Vet J*, 8, 36-40.
- Hasan S, 2008: Investigations on the frequency and diagnosis of equine arteritis virus (EAV) infection in horses by virus isolation, molecular and serological techniques in the Marmara region. PhD thesis, Istanbul University Health Science Institute, Istanbul.
- Holyoak GR, Balasuriya UBR, Broaddus CC, Timoney PJ, 2008: Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology*, 70, 403-414.
- Huntington PJ, Forman AJ, Ellis PM, 1990: The occurrence of equine arteritis virus in Australia. *Aust Vet J*, 67, 432-435.
- Kirmizigul AH, Yildirim Y, Gokce E, Ataseven VS, 2009: Serologic evaluation of the equine infectious anaemia in Kars and Ardahan-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 77-80.
- Kirmizigul AH, Yildirim Y, Gokce E, 2007: Kars ve Ardahan yoresindeki atlarda Equine Viral Arteritis enfeksiyonunun seroprevalansinin belirlenmesi. *Kars Univ Vet Fak Derg*, 13, 171-175.
- Kondo T, Fukunaga Y, Sekiguchi K, Sugiura T, Imagawa H, 1998: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for serological survey of equine arteritis virus in race horses. *J Vet Med Sci*, 60, 1043-1045.
- Marenzoni ML, Cuteri V, De Parri F, Danzetta ML, Yilmaz Z, Yaramis CP, Kennerman E, Or ME, Marchi S, Casciari C, De Mia GM, Valente C, Costarelli S, 2013: A pilot study on the epidemiological status of equine infectious anaemia, equine viral arteritis, glanders, and dourine in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 37, 76-80.
- McCullum WH, Timoney PJ, Tengelsen LA, 1995: Clinical, virological and serological responses of donkeys to intranasal inoculation with the KY-84 strain of equine arteritis virus. *J Comp Pathol*, 112, 207-211.
- Metcalfe ES, 2001: The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Anim Reprod Sci*, 68, 229-237.
- Murphy TW, McCullum WH, Timoney PJ, Klingeborn BW, Hyllseth B, Golnik W, Erasmus B, 1992: Genomic variability among globally distributed isolates of equine arteritis virus. *Vet Microbiol*, 32, 101-115.
- Newton JR, Wood JL, Castillo-Olivares FJ, Mumford JA, 1999: Serological surveillance of equine viral arteritis in the United Kingdom since the outbreak in 1993. *Vet Rec*, 145, 511-516.
- Pagamjav O, Kobayashi K, Murakami H, Tabata Y, Miura Y, Boldbaatar B, Sentsui H, 2011: Serological survey of equine viral diseases. *Microbiol Immunol*, 55, 289-292.
- Paweska JT, Aitchison H, Chirnside ED, Barnard BJ, 1996: Transmission of the South African asinine strain of equine arteritis virus (EAV) among horses and between donkeys and horses. *Onderstepoort J Vet Res*, 63, 189-196.
- Paweska JT, Barnard BJH, 1993: Serological evidence of equine arteritis virus in donkeys in South Africa. *Onderstepoort J Vet Res*, 60, 155-158.
- Paweska JT, Binns MM, Woods PS, Chirnside ED, 1997: A survey for antibodies to equine virus in donkeys, mules and zebra using virus neutralisation (VN) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Equine Vet J*, 29, 40-43.
- Paweska JT, Volkmann DH, Barnard BJH, Chirnside ED, 1995: Sexual and In-contact of Asinine strain of equine arteritis virus among donkeys. *J Clin Microbiol*, 33, 3296-3299.
- Pronost S, Pitel PH, Miszczak F, Legrand L, Marcillaud-Pitel C, Hamon M, Tapprest J, Balasuriya UBR, Freymuth F, Fortier G, 2010: Description of the first recorded major occurrence of equine viral arteritis in France. *Equine Vet J*, 42, 713-720.
- Ramina A, Dalla Valle L, De Mas S, Tisato E, Zuin A, Renier M, Cuteri V, Valente C, Cancellotti FM, 1999: Detection of equine arteritis virus in semen by reverse transcriptase polymerase chain reaction-ELISA. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 22, 187-197.

- Rola J, Larska M, Rola JG, Bélak S, Autorino GL, 2011: Epizotiology and phylogeny of equine arteritis virus in hucul horses. *Vet Microbiol*, 148, 402-407.
- Snijder EJ, Meulenbergg JJ, 1998: The molecular biology of arteriviruses. *J Gen Virol*, 79, 961-979.
- Stadejek T, Bjorklung H, Bascunana CR, Caibatti IM, Scicluna MT, Amaddeo D, McCollum WH, Autorino GL, Timoney TJ, Paton DJ, Klingeborn B, Belak S, 1999: Genetic diversity of equine arteritis virus. *J Gen Virol*, 80, 691-699.
- Stadejek T, Mittelholzer CH, Oleksiewicz MB, Paweska J, Bélak S, 2006: Highly diverse type of equine arteritis virus (EAV) from the semen of the South African donkey. *Acta Vet Hung*, 54, 263-270.
- Timoney PJ, McCollum WH, 1985: The epidemiology of equine arteritis virus. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 31, 545-551.
- Timoney PJ, McCollum WH, 1988: Equine viral arteritis-epidemiology and control. *J Equine Vet Sci*, 8, 54-59.
- Timoney PJ, McCollum WH, Murphy TW, Roberts AW, Willard JG, 1987: The carrier state in equine arteritis virus infection in the stallion with specific emphasis on the venereal mode of virus transmission. *J Reprod Fert Suppl*, 35, 95-102.
- Timoney PJ, McCollum WH, Roberts AW, 1986: Detection of the carrier state in stallions persistently infected with equine arteritis virus. *Proc Am Assoc Equine Pract*, 32, 57-65.
- Turan N, Ekici H, Yilmaz H, Kondo T, Hasoksuz M, Sato I, Tuchiya K, Fukunaga Y, 2007: Detection of antibodies to equine arteritis virus in horse sera using recombinant chimaeric N/GL protein. *Vet Rec*, 161, 352-354.
- Un H, Ozgunluk I, Cabalar M, 2014: Sanliurfa ilinde equine viral arteritis enfeksiyonunun serolojik arastılması. In: XI. National Veterinary Microbiology Congress, Antalya, Turkey, pp. 308-309.
- Vairo S, Saey V, Bombardi C, Ducatelle R, Nauwynck H, 2014: The recent European isolate (08P178) of equine arteritis virus causes inflammation but not arteritis in experimentally infected ponies. *J Comp Pathol*, 151, 238-243.
- Weber H, Beckmann K, Haas L, 2006: Case report: equine arteritis virus (EAV) as the cause of abortion in alpacas? *DTW*, 113, 162-163.
- Yildirim Y, Kırmızıgül AH, Tan MT, Gökçe E, Irmak K, 2008: Seroprevalence of Equine Viral Arteritis in donkeys in Kars district, Turkey. *J Anim Vet Adv*, 7, 1110-1112.
- Yilmaz H, Ozgur NY, Ilgaz A, 1996: Serological investigation on the equine viral arteritis. In: 1st international Veterinary Microbiology Congress, Istanbul-Turkey.

***Corresponding Author:** Sibel GÜR

Department of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey.
E-mail: sibelgur@aku.edu.tr

DeneySEL Diyabetik Ratlarda Ardiç (*Juniperus communis* L.) Yağının Nefropati Üzerine Etkileri

Turan YAMAN^{1*}, Ahmet Ufuk KÖMÜROĞLU²

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

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Van, Türkiye.

Geliş Tarihi: 21.05.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Özet: Hiperglisemi aracılı oksidatif stres diyabetik nefropatinin (DN) patogeneğinde önemli bir rol oynar. Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik ratlarda ardiç (Juniper berry; JB) yağının renoprotektif etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, 40 adet erkek Wistar albino rat rastgele seçilerek; kontrol, diyabetes mellitus (DM), DM+akarboz, DM+ardiç yağı ve ardiç yağı olmak üzere beş gruba ayrıldı. DeneySEL diyabet, tek dozluk (55 mg/kg, periton içi [i.p]) STZ enjeksiyonu ile oluşturuldu. DM+ardiç ve ardiç grubu ratların yemlerine 50 ml/kg JB yağı katılarak verildi. 28 günlük deneme süresi sonunda ratlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı. Böbrek dokusunda histopatolojik değişiklikler, immunohistokimyasal olarak caspase-3 (Kaspaz-3) ekspresyonu, biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA) ve glutasyon (GSH) konsantrasyonları ve katalaz aktiviteleri çalışıldı. Serumda ise üre ve kreatinin düzeyleri incelendi. DM grubu ratlarda, histopatolojik olarak tubulus epitel hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz, glomerular yapıda bozulma gözlemlenirken, immunohistokimyasal olarak tubul epitel hücrelerinde caspase-3 immun reaktivitesi yüksek saptandı. Biyokimyasal olarak DM grubu ratların böbrek dokusunda, MDA konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ve GSH konsantrasyonu ve katalaz aktivitesi anlamlı olarak düşük bulundu. Ayrıca DM grubunda serum üre ve kreatinin konsantrasyonları kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu. DM+ardiç grubu ratlarda ise, ardiç tedavisi sonucu histopatolojik değişikliklerin düzeldiği, caspase-3 immun reaktivitesinin azaldığı ve biyokimyasal parametrelerin iyileştiği tespit edildi. Sonuç olarak, ardiç yağının deneySEL diyabetik ratlarda böbreği koruyucu etkileri olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Ardiç yağı, Diyabetik nefropati, Caspase-3, Rat.

Effects of *Juniperus communis* L. Oil on Nephropathy in Experimental Diabetic Rats

Abstract: Hyperglycaemia-mediated oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of diabetic nephropathy. The present study investigated the renoprotective effect of Juniper (Juniper berry; JB) oil in rats with streptozotocin (STZ)-induced diabetes. For this, 40 male Wistar albino rats were divided into five groups, namely, control, diabetes mellitus (DM), DM+acarbose, DM + JB oil and JB oil groups. Experimental diabetes was established by injecting the rats with a single dose (55 mg/kg) of STZ intraperitoneally. The rats in the DM+ardiç oil and ardiç oil groups received 50 ml JB oil/kg diet. After 28 days, the rats were sacrificed and their blood and tissue samples were obtained. Histopathological changes, caspase-3 immunoexpression, malondialdehyde MDA and glutathione (GSH) concentration and catalase activities in the kidney tissues of the rats were examined. Moreover, serum urea and creatinine levels were examined. Histopathologically, the rats in the DM group showed degeneration and necrosis of tubular epithelial cells and destruction of glomerular structures. Immunohistochemically, these rats showed increased caspase-3 immunoreactivity in the tubular epithelial cells. Biochemically, MDA concentration was significantly higher in the kidney tissue of the rats in the DM group than that of the rats in the control group. GSH concentration and catalase activities were significantly lower in the kidney tissue of the rats in the DM group than that of the rats in the control group. Moreover, serum urea and creatinine levels were significantly higher in the rats in the DM group than those in the control group. The rats in the DM + JB oil group showed an improvement in STZ-induced histopathological changes. Moreover, these rats showed decreased caspase-3 immunoexpression in the kidney tissue and improved biochemical parameters. Thus, these results indicate that JB oil exerts protective effects in the kidneys of diabetic rats.

Keywords: Juniper oil, Diabetic nephropathy, Caspase-3, Rat.

Giriş

Diyabetes mellitus (DM); insülin sekresyonu, aktivasyonu veya her ikisindeki defekt sonucu şekillenen hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir bozukluktur (Huang ve ark., 2005). DM'nin patogeneğinde önemli rol oynayan kronik hiperglisemi (Kikkawa ve ark., 2003), reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine neden olur (Subash-

Babu ve ark., 2014). Artan serbest radikaller antioksidant savunma bileşenlerini tüketerek hücreSEL fonksiyonların bozulmasına ve membranlarda oksidatif hasara yol açtığı ve lipid peroksidasyonuna yatkınlığı arttırabildiği belirtilmiştir (Larkins ve Dunlop, 1992). Diyabetik nefropati (DN), son dönem böbrek yetmezliğinin

önemli bir nedeni olup (Li ve ark., 2009), DM'un en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biridir (Kikkawa ve ark., 2003). Tip 1 diyabetli hastaların yaklaşık %25-35'i (Rossing ve ark., 1995) ve tip II diyabetli hastaların %5 ile 10'unda (Lewis, 1999) DN gelişmektedir. DN'nin gelişmesinde ve ilerlemesinde hiperglisemi aracılı hemodinamik ve metabolik anormallikler ve oksidatif stresin rol oynadığı belirtilmiştir (Tan ve ark., 2007).

ROS, renin-angiotensin sistemi (RAS) aktivasyonu ve diyabetteki renal hücre apoptozisi arasındaki bağlantıyı kuvvetle göstermektedir (Bhatti ve ark., 2005; Brezniceanu ve ark., 2008). ROS, mezangiyal ve tubuler hücreler ile podositlerde apoptoze neden olmaktadır (Brezniceanu ve ark., 2008; Ha ve Lee, 2000; Winiarska ve ark., 2009). Farklı kaspazlar, özellikle caspase-3 ve -9, proksimal tubuler epitel hücrelerinin yüksek glukoz ile indüklenen apoptozunda önemli bir rol oynamaktadır (Allen ve ark., 2003). Bu nedenle, hem glisemik kontrol hem de antioksidant potansiyele sahip bir ajanın, diyabetik böbrek hasarına karşı koruyucu olarak düşünülebileceği belirtilmiştir (Das ve Sil, 2012; Manna ve ark., 2008; Palsamy ve Subramanian, 2011).

Polifenolik bileşiklerin, STZ ile uyarılan diyabetik ratlarda oksidatif strese bağlı diyabetik komplikasyonların tedavisi ve önlenmesinde potansiyel birer antioksidant olduğu ve nefropatiye karşı koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir (Craven ve ark., 1997; Palsamy ve Subramanian, 2011). Juniperus (ardıç); *Cupressaceae* familyasından olup, ağaç, ağaççık veya çalı şeklinde monoik veya dioik bir bitkidir (Benson, 1962). Juniper berry; *J.Communis*'un meyvesi olup, bileşenleri üzerine yapılan araştırmalarda polifenoller, polifenol esterleri ve monoteren hidrokarbonları izole edilmiştir (Ochacka ve ark., 1996; Shahidi ve ark., 1992). Ardıç meyvesi yağında yüksek konsantrasyonda bulunan α -pinene, p-cymene ve β -pinene gibi bileşenlerin, geniş bir farmakolojik etkinlik yelpazesine sahip olduğu belirtilmiştir (Filipowicz ve ark., 2003).

Sunulan bu çalışmada, STZ ile indüklenen diyabetik ratlarda ardıç yağının nefropati üzerine koruyucu etkinliği histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırıldı.

Materyal ve Metot

Deney hayvanları: Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen 2-3 aylık yaşta 40 adet erkek rat (Wistar

albino) kullanıldı. Ratların bakımı, 12 saatlik ideal aydınlık ve 12 saatlik ideal karanlık ortamında, uygun sıcaklıkta, rat bakımı için tasarlanmış polipropilen özel kafeslerde yapıldı ve ad libitum olarak yem ve musluk suyu verildi.

Bitki materyali ve yeme katılması: Bitki materyali olarak ticari olarak elde edilen ardıç meyvesi (Juniper Berry) yağı kullanıldı. Ardıç yağı ratların yemlerine 50 ml/kg oranında katılarak verildi (Yeşilbağ ve ark., 2014).

Streptozotosin ile diyabet modeli: Diyabet oluşturmak amacıyla sodyum sitrat tamponu (0.1 M. pH: 4.5) içinde hazırlanan streptozotosin (STZ) 55 mg/kg tek doz (Banerjee ve ark., 2013) olarak bir gece aç bırakılan ratlara sağlıklı kontrol grubu hariç intraperitoneal olarak uygulandı. Diyabet oluşturulmayan gruplara ise sitrat tamponu aynı miktarda ratlara intraperitoneal enjekte edildi. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örnekleri Accu-Check Active kan glikoz monitörü ile değerlendirilerek ratların açlık kan şekerleri ölçüldü. 200 mg/dl üzerinde olanlar diyabet kabul edilerek deneye alındı. STZ uygulamasına bağlı olarak pankreastan yoğun insülin salgılanarak öldürücü hipoglisemi gelişmesi olasılığı vardır. Bunu önlemek için ratlara STZ uygulanmasından hemen sonra tek seferlik olmak üzere içme suyu olarak %10'luk dekstroz çözeltisi verildi. Ayrıca diyabet durumlarının kontrolü amaçlı 7., 14., 21. ve 28. günlerde de tokluk kan glukoz değerleri için ölçümler yapıldı.

Deney protokolü: Her bir grupta 8 deney hayvanı olacak şekilde aşağıdaki gibi 5 gruba ayrıldı. Çalışma 28 gün boyunca devam ettirildi.

1. Kontrol grubu: Bu gruptaki ratlar normal su ve standart pelet yem ile beslendi.
2. Ardıç yağı grubu (ardıç): Bu gruptaki ratlar 50 ml/kg oranında ardıç yağı katılmış pelet yem ile beslendi.
3. Diyabetik grup (DM): Bu gruptaki ratlara tek doz STZ (55 mg/kg bw i.p) uygulandı ve standart pelet yem ile beslendi.
4. Diyabet+ardıç yağı grubu (DM+ardıç): Bu grup ratlara tek doz STZ (55 mg/kg bw i.p) uygulanmasından 3 gün sonra (ratların kan glukoz değerleri 200 mg/dL olacak şekilde) yemlerine 50 ml/kg oranında ardıç yağı katılmış pelet yem ile beslendi.
5. Diyabet+ ilaç kontrol grubu (DM+akarboz): Bu grup ratlara tek doz STZ (55 mg/kg bw i.p) uygulanmasından 3 gün sonra (ratların kan glukoz değerleri 200 mg/dL olacak şekilde) intragastrik

yolla 20 mg/kg akarboz (Glucobay, Bayer) günde bir defa uygulandı.

Histopatolojik inceleme: 28 günlük deneme süresi sonunda, ötenazi sonrası ratların nekropsileri yapılarak alınan böbrek doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonuna konuldu. Doku örnekleri tespit edildikten sonra rutin takip yapılarak paraffin bloklara gömüldü ve mikrotomla (Leica RM 2135) 4µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H.E.) ile boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-R12) incelendi. Histopatolojik olarak glomeruluslarda konjesyon, glomerular atrofi, tubulus dejenerasyonu ya da nekrozu gibi diyabetik nefropatide olduğu bildirilen bulgular incelendi (Yaman ve ark., 2017). Histopatolojik bulgular, lezyonun şiddetine göre semikantitatif olarak; (-): lezyon yok; (+): hafif; (++) orta; (+++): şiddetli şeklinde değerlendirildi.

İmmunohistokimyasal inceleme: Caspase-3 ekspresyonu streptavidin-peroksidase metoduna (ABC) göre caspase-3 ticari antikoruyla streptavidin/biotin immunoperoxidaz kit (Histostain-Plus Bulk Kit; Zymed, South San Francisco, CA, USA) kullanılarak boyandı. Hazırlanan kesitler adezivli lamlar üzerine alındıktan sonra, ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler PBS (phosphate buffer solution) ile yıkandıktan sonra %3'lük H₂O₂ de 20 dakika tutularak endojen peroksidaz inaktive edildi. Antijen retrieval solüsyonuna (sitrata buffer) konulup üzeri kapatıldıktan sonra 20 dakika süreyle ikişer kez ısıya tabi tutuldu. Fırından çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Dokular yeniden PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika protein bloking (nonimmun serum) ile bloke edildi. Her bir doku caspase-3 (ThermoFisher Scientific, USA; 1/100 sulandırma) poliklonal antikoruna damlatılıp +4°C de bir gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Kesitler PBS ile yıkanıp biotinize sekonder antikor ile oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 20 dakika bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra diaminobenzidine (DAB) damlatılıp 1-2 dakika bekletildi. Daha sonra tüm dokular Mayer's hematoksilende 1-2 dk bekletilip musluk suyunda yıkandı. Tekrar alkol ve ksilen serilerinden geçirilen kesitler entellan kullanılarak kapatıldı. Boyama işlemini doğrulamak için negatif kontroller kullanıldı; Bu slaytlar primer antikorlar yerine PBS ile reaksiyona sokuldu. Kesitler ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-R12) incelendi ve fotoğraflandı.

Biyokimyasal incelemeler: Nekropsi sırasında biyokimya testleri için gerekli olan kan enjektörler yardımıyla hayvanların kalbinden alınarak biyokimya tüplerine aktarıldı. Alınan kan 4000 RPM'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Bu serumlar çalışma gününe kadar -80°C de saklandı. Çalışma günü serumlar oda ısısında bekletilerek erimeleri sağlandı. Daha sonra bu serumlardan üre, kreatinin, magnezyum, fosfor, klor, potasyum, sodyum, demir ve demir bağlama kapasitesi Abbott marka ticari kitler kullanılarak architect ci16200 model otoanalizörde çalışıldı.

Böbrek dokusunda oksidan ve antioksidanların ölçümü: Rat böbrekleri fosfat tamponunda (0.1 mol/L, pH=7.4) homojenize edildi. Örnekler 20 dakika 10000 rpm de santrifüj edildi ve süpernatant çalışma gününe kadar -80°C de saklandı. Çalışma günü böbrek dokusundan katalaz aktivitesi (Lartillot ve ark., 1988), GSH (Beutler ve ark., 1963) ve MDA (Ledwozyw ve ark., 1986) konsantrasyonları spektrometrik olarak ölçüldü.

İstatistiksel analiz: Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılarak ANOVA ile yapıldı. Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılmasında SPSS (23.00, Chicago, IL) kullanıldı. P<0.05 istatistik olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Histopatolojik bulgular: Kontrol ve ardıç grubu ratların böbrek kesitlerinin incelemesinde normal histolojik yapı gözlemlendi (Şekil 1-A). DM grubu ratların böbreklerinde ise özellikle glomerulus ve tubuluslarda histopatolojik değişiklikler gözlemlendi. Bazı glomeruluslarda konjesyon, mezengiyal hücrelerde dejenerasyon, nekroz ve glomerular atrofi mevcuttu. Bu değişikliklerin gözlemlendiği glomeruluslarda glomeruler yumak ile Bowman kapsülü arasındaki boşluğun genişlemiş olduğu görüldü. Bazı glomeruluslarda ise sklerozis tespit edildi. Tubulus epitel hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz, tubuler dilatasyon, intraluminal döküntüler tespit edildi. Ayrıca kortekste dejenerasyon olmuş tubuller ve glomeruller arasında yer yer yangısal hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 1-B). DM+akarboz grubu ratların böbreklerinde bu bulguların önemli oranda azaldığı belirlendi (Şekil 1-C). DM+ardıç grubundaki ratların böbreklerinde, DM grubunda şekillenen bulguların önemli oranda azaldığı, tubulus epitel hücrelerindeki dejenerasyon

ve nekrozların önemsenmeyecek düzeyde olduğu tespit edildi. Özellikle glomeruluslardaki değişikliklerin büyük ölçüde oluşmadığı görüldü (Şekil 1-D).

İmmunohistokimyasal bulgular: Kontrol ve ardıç grubu ratların böbreklerinde caspase-3 immün ekspresyonu gözlenmedi (Şekil 1-A). DM grubu ratların kesitlerinde özellikle kortekste immün-pozitif reaksiyonların olduğu gözlemlendi. Caspase-3 ekspresyonu ağırlıklı olarak proksimal ve konvalent tubulus epitel hücrelerinde mevcuttu.

Glomerulusların ise bazı etkilenen kısımlarında mezengiyal hücrelerde, podositlerde ve Bowman kapsülünde reaksiyon tespit edildi. Medullar bölgede ise bazı hücrelerde sporadik olarak immün-reaktivite izlendi (Şekil 2-B). DM+akarboz grubu ratların böbrek kesitlerinde caspase-3 immün ekspresyonunun azaldığı gözlemlendi (Şekil 3-C). Ardıç yağı ile tedavi edilen grupta caspase-3 immün ekspresyonunun sadece bazı distal ve proksimal tubul epitel hücrelerinde olduğu gözlemlenirken, glomeruluslarda ise tek tük hücrede reaksiyon tespit edildi (Şekil 2-D).

Tablo 1. Böbrek dokusunda MDA, GSH konsantrasyonları ve katalaz aktivitesi.

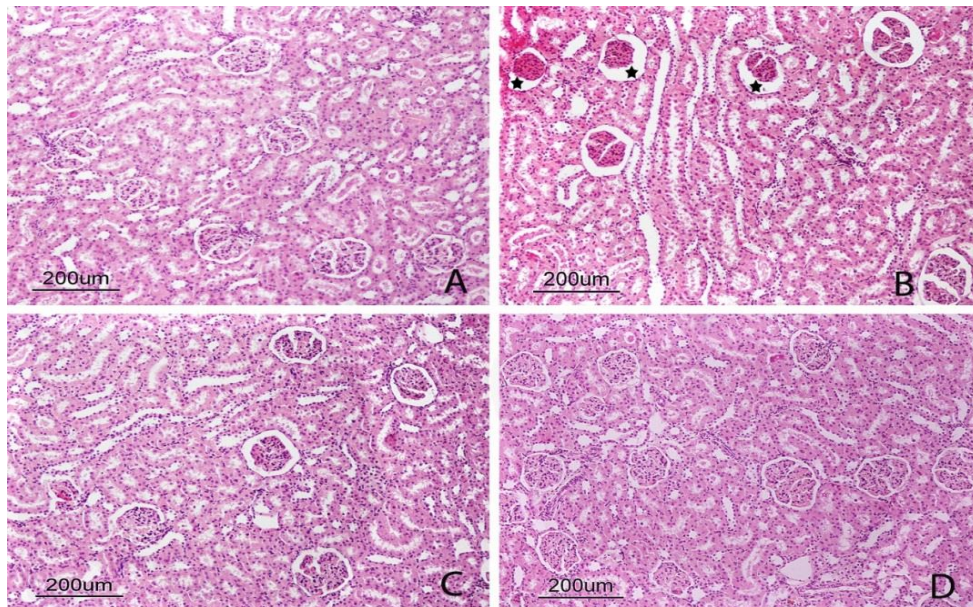
	Kontrol	DM	Ardıç yağı	DM + Ardıç	DM + akarboz
MDA (nmol/gr doku)	0.338±0.0351 ^a	0.391±0.0331 ^b	0.354±0.037 ^{a,b}	0.329±0.043 ^a	0.331±0.014 ^a
GSH (umol/gr protein)	0.027±0.004 ^a	0.016±0.011 ^b	0.031±0.008 ^a	0.028±0.005 ^a	0.035±0.001 ^a
CAT (U/gr doku)	0.779±0.093 ^a	0.701±0.034 ^b	0.758±0.060 ^{a,b}	0.711±0.036 ^{a,b}	0.725±0.028 ^{a,b}

Sonuçlar ortalaması±standart hata olarak verildi. Her satırdaki farklı harfler istatistik anlamlılığı ifade etmektedir (P<0.05). CAT: katalaz; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutasyon.

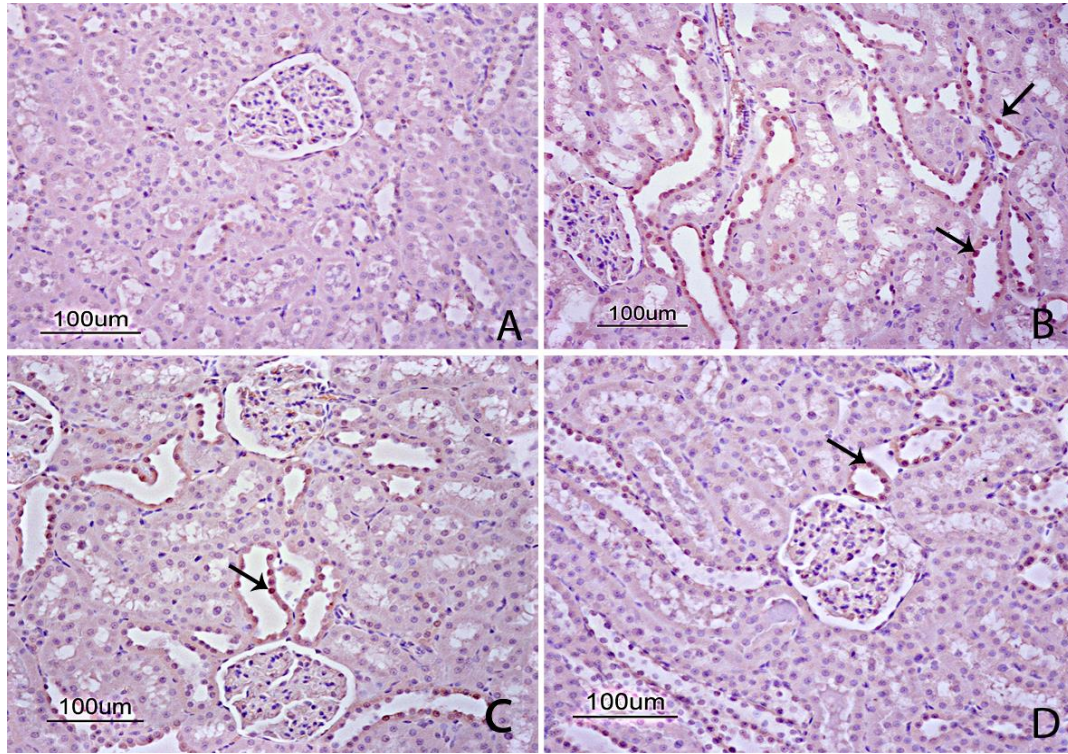
Tablo 2. Deney gruplarındaki biyokimyasal parametreler.

	Kontrol	DM	Ardıç yağı	DM + Ardıç	DM + akarboz
Üre (mg/dl)	54.75±5.37 ^a	99.57±10.54 ^b	47.57±5.38 ^a	54.95±13.95 ^a	53.00±8.15 ^a
Kreatinin (mg/dl)	0.52±0.11 ^{a,b}	0.74±0.05 ^d	0.48±0.02 ^a	0.60±0.07 ^{b,c}	0.65±0.09 ^{c,d}
UIBC (g/dl)	273.66±9.87 ^a	249.42±27.38 ^a	291.66±49.34 ^a	306.5±68.29 ^a	261.6±54.47 ^a
Fe (ug/dl)	240.00±20.18 ^{a,b}	161.00±28.84 ^c	267.83±28.18 ^b	218.57±41.16 ^a	250.50±28.57 ^{a,b}
Mg (mg/dl)	2.77±0.44 ^a	3.26±0.37 ^a	2.98±0.31 ^a	2.86±0.44 ^a	3.54±0.77 ^a
Fosfor (mg/dl)	9.83±0.80 ^a	7.35±0.55 ^b	8.10±1.13 ^b	7.17±1.50 ^b	8.78±1.71 ^{a,b}
Klor (mmol/L)	101.25±4.03 ^{a,c}	95.14±4.05 ^b	103.28±1.70 ^c	97.00±4.54 ^{a,b}	101.00±5.14 ^{a,b}
Potasyum (mmol/L)	5.90±2.56 ^{a,b,c}	5.67±0.97 ^b	4.60±0.50 ^c	5.74±0.72 ^{a,b}	5.56±1.01 ^{a,b}
Sodyum (mmol/L)	145.50±5.25 ^a	137.42±3.25 ^b	145.28±5.31 ^a	137.85±4.48 ^b	143.60±3.20 ^a

Sonuçlar ortalaması±standart hata olarak verildi. Her satırdaki farklı harfler istatistik anlamlılığı ifade etmektedir (P<0.05).



Şekil 1. A) Kontrol grubu; Böbreğin normal histolojik görünümü. B) DM grubu; glomeruluslarda atrofi ve glomerüler boşlukta genişleme (yıldızlar). C) DM + akarboz grubu; glomeruluslarda atrofi. D) DM + ardıç grubu; glomerulusların normal yapısı izlenmekte. H & E X10.



Şekil 2. A) Kontrol grubu; caspase-3 immun-ekspresyonu gözlenmemekte. B) DM grubu; tubul epitelinde caspase-3 immun-ekspresyonları izlenmekte (oklar). C) DM + akarboz grubu; tubul epitel hücrelerinde caspase-3 immun-ekspresyonu izlenmekte (ok). D) DM + ardıç grubu; az sayıda tubul epitelinde caspase-3 immun-ekspresyonu izlenmekte (ok). ABC teknik (anti-caspase-3).

Biyokimyasal bulgular: STZ uygulanan DM gurubu ratların böbrek dokusunda MDA seviyesi kontrolden anlamlı olarak yüksek bulundu. STZ ile birlikte ardıç yağı verilen grupta MDA seviyesi DM grubundan anlamlı olarak düşüktü. DM gurubu ratların böbrek dokusunda GSH konsantasyonu ve katalaz aktivitesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük bulundu. STZ ile birlikte ardıç yağı verilen DM + ardıç grubunda GSH konsantasyonu anlamlı olarak yüksek bulunurken, katalaz aktivitesindeki yükselme anlamlı değildi (Tablo 1).

Diyabet (DM) grubunda serum üre ve kreatinin seviyesi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksekti. DM + ardıç grubunda serum üre ve kreatinin seviyesi DM grubundan anlamlı olarak düşük bulundu. DM grubunda demir, sodyum ve klor konsantasyonları kontrol grubundan anlamlı olarak düşük saptandı (Tablo 1).

Tartışma ve Sonuç

Diyabetik nefropatinin (DN) gelişmesinde ve ilerlemesinde hiperglisemi aracılı oksidatif stres önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, hipergliseminin antioksidan savunma sisteminin azalmasına neden olarak reaktif serbest radikallerin üretimini arttırdığı ve oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir (Matough ve ark., 2012; Sellamuthu ve ark., 2013). Bundan dolayı glisemik kontrol,

DN'nin tedavisinde oksidatif stresin azaltılması için odak hedef olmaya devam etmektedir (Palsamy ve Subramanian, 2011). Hipergliseminin zararlı etkilerine karşı korumada ve aynı zamanda glukoz metabolizması üzerindeki olumlu etkilerden dolayı diyabet tedavisinde antioksidant aktiviteye sahip bitkiler ile bu bitkilerden elde edilen bazı etken maddelerin diyabetik koşulları düzeltebileceği ön görülmüştür (Nicolle ve ark., 2011). Sunulan bu çalışmada, ardıç yağının STZ ile indüklenen DN'de hipergliseminin neden olduğu oksidatif strese karşı renoprotektif potansiyeli araştırılmıştır. STZ uygulaması dolaylı olarak serbest radikal üretimini ortaya çıkaran lipid peroksidasyonda bir artmayla sonuçlanmaktadır (Lalenti ve ark., 1993). Serbest radikallerin etkisi sonucu MDA düzeyinde artış meydana gelir. Artan MDA düzeyi oksidatif membran hasarının önemli bir göstergesidir (Freeman ve Crapo, 1981). STZ uygulanmış ratların böbrek dokusunda MDA seviyesinin arttığı belirtilmiştir (Madhuri ve Naik, 2017). Sunulan bu çalışmada, STZ uygulanmış rat böbrek dokusunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MDA seviyesi anlamlı olarak yüksek bulundu. Ardıç yağı uygulaması sonucu DM+ardıç grubu ratların böbrek dokusunda MDA düzeyleri, diabetik grupla karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalma meydana geldiği görüldü. Bu sonuçlar, ardıç yağının serbest radikalleri azaltarak lipid peroksidasyonunu

baskıladığını ve böbreklerde membran lipidlerini oksidatif hasara karşı koruduğunu göstermektedir.

Diyabetik nefropatide, değişen derecelerde olmakla birlikte, hem glomerüler hem de tubulointerstisyel hasar meydana gelmektedir (Fioretto ve ark., 1998). Glomerulopati, glomerulus bazal membranlarda kalınlaşma, glomerüler epitel hücreleri (podosit) kaybı, glomerulosklerozis (Dalla ve ark., 2001; Forbes ve ark., 2008), glomerular atrofi ve Bowman boşluğunda genişleme (Mauer ve ark., 1984) ile karakterizedir. Tubuluslarda ise tubuler dilatasyon ve atrofi (de Haan ve ark., 2005), epitel hücrelerinde dejenerasyon ve nekroz (Uyar ve ark., 2017; Yaman ve ark., 2017) bildirilen histopatolojik bulgulardır. Sunulan bu çalışmada DM grubu ratlarda benzer sonuçların gözlenmesi, ratların DN'den dolayı muzdarip olduğunu gösterdi (Liu ve ark., 2008). Bununla birlikte, ardıç yağı ile tedavi sonucunda DM+ardıç grubunda glomerüler atrofi, glomeruloskleroz ve tubulointerstisyel hasarı önemli ölçüde azaldığı görüldü. Reaktif oksijen türlerindeki artışın renal hücre apoptozisine neden olarak DN'yi indükleyebileceği belirtilmiştir (Wagener ve ark., 2009). Renal proksimal tubuler hücrelerin, STZ ile indüklenen diyabetik farelerde (Haan ve ark., 2005), ratlarda (Kelly ve ark., 2004; Kumar ve ark., 2004) ve diyabetik hastalarda (Kumar ve ark., 2004) apoptozis sergiledikleri bildirilmiştir. Caspase'ların, apoptozisin indüksiyonunda ve DN'de merkezi bir rol oynadıkları vurgulanmıştır (Wagener ve ark., 2009). Sunulan bu çalışmada, DM grubu ratlarda, tubulus epitel hücrelerinde görülen caspase-3 ekspresyonunun, ardıç yağı ile tedavi edilen grupta önemli derecede azaldığı görüldü. Yapılan çalışmalar, antioksidanların ve sitoprotektif proteinlerin, renal hücrelerin ROS ile indüklenen apoptozuna ve diyabetik nefropatinin gelişmesine karşı koyabildiğini göstermiştir (Das ve Sil, 2012; Wagener ve ark., 2009). Bunun muhtemel nedeninin bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin, serbest radikallere karşı süpürücü etkisi olduğu ve güçlü antioksidan role sahip oldukları bildirilmiştir (Sakulnarmrat ve Konczak 2012; Yaman ve ark., 2016).

Nefropati, diyabetle ilişkili mikrovasküler komplikasyonlardan biridir (Reutens, 2013). STZ'nin indüklediği diyabetik ratlarda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum üre ve kreatin seviyesinde artma ve osmotik diürez ve ekstraselüler sıvı volümünde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Madhuri ve Naik, 2017; Sheela ve ark., 2013). Sunulan bu çalışmada, diyabetik ratlarda artan üre ve kreatin seviyelerinin tedavi grubunda anlamlı şekilde azalması, ardıç yağının diyabete bağlı gelişen mikrovasküler komplikasyonları azaltarak nefropatiye karşı koruyucu etkinlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Kimyasal olarak indüklenen toksisiteye karşı en önemli koruyucu biyomolekül

olan GSH, GPx'in varlığında hidrojen peroksidin indirgenmesine aracılık eder (Rajarajeswari ve Pari; 2011). Diyabetik ratlarda GSH seviyesinde gözlenen azalma oksidatif stresten dolayı GSH kullanımındaki artmayı gösterir (Dormandy, 1980). Sunulan çalışmada, daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak STZ uygulanmış rat böbrek dokusunda GSH konsantrasyonunun anlamlı olarak azaldığı bulundu. GSH konsantrasyonundaki azalmanın diyabetik komplikasyonların gelişmesinde rol oynayabileceği belirtilmiştir (Lee ve ark., 2000; Obrosova ve ark., 2003). Diyabetik ratlara ardıç yağı uygulaması, GSH seviyesinin diyabetik grupla karşılaştırıldığında anlamlı olarak yükselmesine sebep olmuştur. GSH seviyesinde bu artma diyabetik ratlarda oksidatif stresin azalmasından sorumlu olan faktörlerden biri olabilir.

Ardıç tedavi grubu ile DM+akarboz grubunun histopatolojik ve immunohistokimyasal sonuçları arasında anlamlı bir farklılık mevcut değildi. Tablo 1'de görüldüğü gibi MDA ve GSH konsantrasyonları ile katalaz aktivitesi değerleri arasında anlamlı farklılık oluşmadığı belirlendi. Tablo 2'de ise iki grubun değerleri karşılaştırıldığında, bazı parametrelerin yakın olduğu gözülürken bazılarının ise farklı olduğu tespit edildi. Dolayısıyla, ardıç yağının tek başına tedavi alternatifi olarak değil, belki ilaçlara yardımcı olarak kullanılabilceği düşünülebilir.

Sonuç olarak, STZ ile oluşturulan deneysel diyabetik nefropati modelinde histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal bulgular doğrultusunda, ardıç yağının antioksidan özelliği sayesinde böbrek dokusunu koruyucu etkileri olduğu gösterildi.

Kaynaklar

- Allen DA, Harwood SM, Varagunam M, Raftery MJ, Yaqoob MM, 2003: High glucose-induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. *FASEB J*, 17(8), 908-910.
- Benson L, 1962: Plant taxonomy, methods and principles. Ronald Press. New York, NY.
- Beutler E, Duron O, Kelly BM, 1963: Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61, 882-890.
- Bhatti F, Mankhey RW, Asico L, Quinn MT, Welch WJ, Maric C, 2005: Mechanisms of antioxidant and prooxidant effects of α -lipoic acid in the diabetic and non-diabetic kidney. *Kidney Int*, 67(4), 1371-1380.
- Brezniceanu ML, Liu F, Wei CC, Chénier I, Godin N, Zhang SL, Filep JG, Ingelfinger JR, Craven PA, DeRubertis FR, Kagan VE, Melhem M, Studer RK, 1997: Effects of supplementation with vitamin C or E on albuminuria, glomerular TGF- β , and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 8, 1405-1414.

- Dalla VM, Saller A, Mauer M, Fioretto P, 2001: Role of mesangial expansion in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *J Nephrol*, 14(4), 51–57.
- Das J, Sil PC, 2012: Taurine ameliorates alloxan-induced diabetic renal injury, oxidative stress-related signaling pathways and apoptosis in rats. *Amino acids*, 43(4), 1509-1523.
- de Haan JB, Stefanovic N, Nikolic-Paterson D, Scurr LL, Croft KD, Mori TA, Hertzog P, Kola I, Atkins RC, Tesch GH, 2005: Kidney expression of glutathione peroxidase-1 is not protective against streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289, 544-551.
- Dormandy TL, 1980: Free radical reactions in biological systems. *Ann R Coll Surg Engl*, 62, 188-194.
- Dunlop M, 2000: Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 77, 3-S12.
- Filipowicz N, Kamiński M, Kurlenda J, Asztemborska M, Ochocka JR, 2003: Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytother Res*, 17(3), 227-231.
- Fioretto P, Stehouwer CD, Mauer M, Chiesura-Corona M, Brocco E, Carraro A, Bortoloso E, van Hinsbergh VW, Crepaldi G, Nosadini R, 1998: Heterogeneous nature of microalbuminuria in NIDDM: studies of endothelial function and renal structure. *Diabetologia*, 41(2), 233–236.
- Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME, 2008: Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*, 57, 1446–1454.
- Freeman BA, Crapo JD, 1981: Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lung and lung mitochondria. *J Biol Chem*, 256, 10986-10992.
- Ha H, Lee HB, 2000: Reactive oxygen species as glucose signaling molecules in mesangial cells cultured under high glucose. *Kidney Int*, 58(Suppl. 77), 19-25.
- Harris DC, 2001: Tubulointerstitial renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 10, 303–313.
- Huang THW, Peng G, Kota BP, Li GQ, Yamahara J, Roufogalis BD, Li Y, 2005: Anti-diabetic action of Punica granatum flower extract: activation of PPAR- α and identification of an active component. *Toxicol Appl Pharmacol*, 207, 160–169.
- Kelly DJ, Stein-Oakley A, Zhang Y, Wassef L, Maguire J, Koji T, Thomson N, Wilkinson-Berka JL, Gilbert RE, 2004: Fas-induced apoptosis is a feature of progressive diabetic nephropathy in transgenic (mRen-2)⁷ rats: attenuation with renin-angiotensin blockade. *Nephrology (Carlton)*, 9, 7-13.
- Kikkawa R, Koya D, Haneda M, 2003: Progression of diabetic nephropathy. *Am. J. Kidney Dis*, 41(3), 19–21.
- Kumar D, Robertson S, Burns KD, 2004: Evidence of apoptosis in human diabetic kidney. *Mol Cell Biochem*, 259, 67-70.
- Lalenti S, Moncada M, Rosa D, 1993: Modulation of adjuvant arthritis by endogenous nitric oxide. *Brit J Pharmacol*, 110, 701- 706.
- Larkins RG, Dunlop ME, 1992: The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 35, 499–504.
- Lartillot S, Kedziora P, Athias A, 1988: Purification and characterization of a new fungal catalase. *Prep Biochem*, 18(3), 241-246.
- Ledwozyw A, Michalak J, Stepień A, Kadziółka A, 1986: The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clin Chim Acta*, 155(3), 275- 83.
- Lee YM, Kim H, Hong EK, Kang BH, Kim SJ 2000: Water extract of 1:1 mixture of Phellodendron cortex and Aralia cortex has inhibitory effects on oxidative stress in kidney of diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 73, 429–36.
- Lewis JB, 1999: Diabetic nephropathy in patients with type II diabetes. *Geriatr Nephrol Urol*, 9(3), 167–175.
- Li J, Qu X, Bertram JF, 2009: Endothelial-myofibroblast transition contributes to the early development of diabetic renal interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Am J Pathol*, 175(4), 1380-1388.
- Liu G, Sun Y, Li Z, Song T, Wang H, Zhang Y, Ge Z, 2008: Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress involved in diabetic kidney disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 370(4), 651-656.
- Madhuri K, Naik PR, 2017: Modulatory effect of garcinol in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. *Arch Physiol Biochem*, 123(5), 322-329.
- Manna P, Sinha M, Sil PC, 2008: Amelioration of cadmium-induced cardiac impairment by taurine. *Chem Biol Interact*, 174, 88-97.
- Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J, 2012: The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 12(1), 5.
- Mauer SM, Steffes MW, Ellis EN, Sutherland DE, Brown DM, Goetz FC, 1984: Structural-functional relationships in diabetic nephropathy. *J Clin Invest*, 74, 1143-1155.
- Motshakeri M, Ebrahimi M, Goh YM, Othman HH, Hair-Bejo M, Mohamed S, 2014: Effects of brown seaweed (Sargassum polycystum) extracts on kidney, liver, and pancreas of type 2 diabetic rat model. *J Evid Based Complementary Altern Med*. Article ID 379407.
- Nicolle E, Souard F, Faure P, Boumendjel A, 2011: Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure activity relationship. *Curr Med Chem*, 18(17), 2661-2672.
- Obrosova IG, Fathallah L, Liu E, Nourooz-Zadeh J, 2003: Early oxidative stress in diabetic kidney: effect of DL- α -lipoic acid. *Free Radic Biol Med*, 34, 186-95.
- Ochacka Jr, Asztemborska M, Zook, Dr, Sybilska D, Perez G, Ossicini L, 1996: Enantiomers of monoterpenic hydrocarbons in essential oil from Juniperus communis. *Phytochemistry*, 44, 869-873.
- Palsamy P, Subramanian S, 2011: Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta*, 1812, 719-731.
- Rajarajeswari N, Pari L, 2011: Antioxidant role of coumarin on streptozotocin-nicotinamide-induced

- type 2 diabetic rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 25, 355-361.
- Reutens AT, 2013: Epidemiology of diabetic kidney disease. *Med Clin North Am*, 97, 1-18.
- Rossing P, Rossing K, Jacobsen P, Parving HH, 1995: Unchanged incidence of diabetic nephropathy in IDDM patients. *Diabetes*, 44(7), 739-743
- Sakulnarmrat K, Konczak I, 2012: Composition of native Australian herbs polyphenolic-rich fractions and in vitro inhibitory activities against key enzymes relevant to metabolic syndrome. *Food Chem*, 134(2), 1011-1019.
- Sellamuthu PS, Arulselvan P, Muniappan BP, Fakurazi S, Kandasamy M, 2013: Mangiferin from *Salacia chinensis* prevents oxidative stress and protects pancreatic β -cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food*, 16(8), 719-727.
- Shahidi F, Wanasundara PK, Wanasundara PD, 1992: Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 32, 67-103.
- Sheela N, Jose MA, Sathyamurthy D, Kumar BN, 2013: Effect of silymarin on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic nephropathy in rats. *Iran J Kidney Dis*, 7, 117-123.
- Subash-Babu P, Alshatwi AA, Ignacimuthu S, 2014: Beneficial antioxidative and antiperoxidative effect of cinnamaldehyde protect streptozotocin-induced pancreatic beta-cells damage in wistar rats. *Biomol Ther (Seoul)*, 22(1), 47-54.
- Tan AL, Forbes JM, Cooper ME, 2007: AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol*, 27(2), 130-143.
- Uyar A, Yaman T, Keles OF, Alkan EE, Celik I, Yener Z, 2017: Protective effects of *Bryonia multiflora* extract on pancreatic beta cells, liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats: histopathological and immunohistochemical investigations. *Indian J Pharm Educ Res*, 51(3), Suppl:S403-11.
- Wagener FADTG, Dekker D, Berden JH, Scharstuhl A, Van der Vlag J, 2009: The role of reactive oxygen species in apoptosis of the diabetic kidney. *Apoptosis*, 14(12), 1451-1458.
- Winiarska K, Szymanski K, Gorniak P, Dudziak M, Bryla J, 2009: Hypoglycaemic, antioxidative and nephroprotective effects of taurine in alloxan diabetic rabbits. *Biochimie*, 91, 261-270.
- Yaman T, Uyar A, Celik I, Alkan EE, Keles OF, Yener Z, 2017: Histopathological and immunohistochemical study of antidiabetic effects of *Heracleum persicum* extract in experimentally diabetic rats. *IJPER*, 51(3), 450-457.
- Yaman T, Yener Z, Celik I, 2016: Histopathological and biochemical investigations of protective role of honey in rats with experimental aflatoxicosis. *BMC Complement Altern Med*, 16(1), 232.
- Yeşilbağ D, Cengiz SS, Cetin I, Meral Y, Biricik H, 2014: Influence of juniper (*Juniperus communis*) oil on growth performance and meat quality as a natural antioxidant in quail diets. *Br Poult Sci*, 55(4), 495-500.

*Yazışma Adresi: Turan YAMAN

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

E-mail: turanyaman@yyu.edu.tr

Şanlıurfa Doğal Barınak Besiciliğinde Zeolit Mineralinin Hayvan Refahı Üzerine Etkisi

Gürbüz AKSOY¹, Mehmet AVCI^{2*}, Halil Selçuk BİRİCİK³, Oktay KAPLAN⁴, Muğdat YERTÜRK⁵

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye.

⁴Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

⁵Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

Geliş Tarihi: 07.06.2018

Kabul Tarihi: 25.11.2018

Özet: Sunulan çalışmada; Şanlıurfa yöresinde yaygın bir şekilde yapılan doğal barınak/mağara besiciliğinde hayvan refahının iyileştirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda; Şanlıurfa yöresi mağara hayvancılığında yeme katılan ve altlık olarak kullanılan Zeolit mineralinin kan serumu ve rumen parametreleri, hayvanların canlı ağırlıkları ve ahır havası üzerine etkisi araştırıldı. Çalışma; mağara şartlarında sığır besiciliği yapılan işletmelerde yürütüldü. Her birinde 40-50 baş kültür melezi ve 1-1.5 yaşları arasında sağlıklı erkek besi sığırları bulunan, 40 mağara kullanıldı. Bu mağaralar; her bir grupta 10 adet mağara olacak şekilde toplam 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubunda, yemlerine zeolit katılmadı, altlık olarak zeolit kullanılmadı. Grup 1'de altlık olarak zeolit kullanıldı, yemlerine zeolit katılmadı. Grup 2'de, yem katkısı olarak %2 zeolit içeren rasyon uygulandı, altlık olarak zeolit kullanılmadı. Grup 3'te ise hem %2 zeolit içeren rasyon uygulandı, hem de altlık olarak zeolit kullanıldı. Her gruptan 10 hayvan olmak üzere, toplam 40 hayvanda kan serumu biyokimyasal analizleri (total protein, üre, kolesterol, trigliserit, NEFA (Esterleşmemiş yağ asitleri), Ca, P, Mg, Na, K), rumen sıvısı analizleri (uçucu yağ asitleri, amonyak, pH) ve ahır amonyak gazı ölçümleri yapıldı. Deneme ortası ve sonunda rumen sıvısı amonyak düzeyi Grup 2 ve 3'te, rumen pH'sı ise Grup 3'te belirgin derecede düştü. Deneme ortası ve sonunda Grup 2'de serum kolesterol ve fosfor, Grup 3'te ise serum potasyum düzeyinde azalma gözlemlendi. Mağara ortamı amonyak gazı değerleri açısından Grup 1 ve 3'te, Kontrol ve Grup 2'ye göre azalma görüldü. Böylece, Grup 1 ve 3'te ahır kokusu önemli derecede azaldı (P<0.01). Sonuç olarak, besi sığırlarında yem katkı maddesi ve altlık olarak kullanılan zeolit'in incelenen hematolojik ve biyokimyasal parametreler açısından önemli düzeyde bir değişiklik yapmadığı; hayvanların sağlığı, canlı ağırlıkları, ahır havası ve kokusuna olumlu etki yaparak hayvan refahına katkısı olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Zeolit, Mağarada sığır besisi, Hayvan refahı.

Effect of Zeolite Mineral on Animal Welfare in Natural Shelters, Sanliurfa Region

Abstract: In this study; it has been aimed to improve animal welfare in cattle feeding performed in Sanliurfa caves. In this scope; effect of zeolite used as feed additive and base on air climate in the caves, on some blood and ruminal fluid parameters and some cattle diseases were investigated. 40 caves with similar environments were included into the study. Caves contained 40-50 healthy male crossbred beef cattle between the ages of 1-1.5. These caves divided into four groups each containing 10 caves. In control group (n=10), zeolite was not used as feed additive or base. In group 1 (n=10), zeolite was used as base, but not as additive. In group 2 (n=10), a ration added with 2% zeolite, was used and no zeolite was used for base. In group 3 zeolite was used as both feed additive and base. Blood serum biochemical analyses (total NEFA, total protein, urea, cholesterol, trigliseride, Ca, P, Mg, Na, K) and ruminal fluid composition (fatty acids, ammonia, pH) and barn ammonia gas levels were measured. Ruminal ammonia levels decreased in groups 2 and 3 at mid trial and post experimental period. Ruminal pH also decreased in group 3. Decreases of serum cholesterol and phosphorus in Group 2; potassium levels in group 3 were observed. With regard to concentrations of ammonia levels in the air, decreases were determined in Group 1 and 3 when compared with Control and Group 2. Thus barn smell significantly decreased in Groups 1 and 3. As a result, zeolite as feed additive and base had not significant effect on hematological and biochemical parameters of beef cattle. Furthermore, it had positive contribution to animal welfare and health as well as body weights by positively affecting the air quality in the barn

Keywords: Zeolite, Cattle feeding in cave, Animal welfare.

Giriş

Şanlıurfa'da doğal barınaklardaki besicilik, daha çok il merkezine yakın dağlık alanda yer alan mağaralarda yapılmaktadır. Mağaraların yazın serin, kışın sıcak olması; doğal bir barınak arz

etmesi, ahır-tesis maliyeti gerektirmemesi bu tip besiciliği çekici kılmaktadır. Mağara tipi barınaklarda genellikle, 1-1.5 yaşındaki kültür melezi ve/veya yerli erkek danalar, yetiştirme

olanakları ve besi performansına bağlı olarak 6-12 aylık periyotlar halinde besiyeye alınmaktadır. Besi periyodu sonunda kesim ağırlığına ulaşan hayvanlar iç piyasaya satılmaktadır.

Mağaralar; 100 ila 5 bin hayvan alabilecek kapasiteye sahiptirler. Boyu 3-11 metreye varan baca delikleri açılarak havalandırma sağlanmıştır. İçme suyu, mağaranın dibinde veya önünde açılmış kuyulardan temin edilmektedir. Mağaralarda hayvancılıkla uğraşan insanlarda ahır kokusu, şark çıbanı problemi çıkmakta, uzun süre mağarada kalan hayvanlarda ise amonyak gazı başta olmak üzere irrite edici ahır gazlarına ve zeminin kirliliği ve nemli oluşuna bağlı olarak solunum, sindirim, göz ve ayak hastalıkları görülebilmektedir. Araştırmada kullanılan zeolit minerali alkali ve toprak alkali metallerin kristal yapıya sahip sulu alüminyum silikatları olarak tanımlanmakta, yapısında K, Na, Al, Si, Fe, Mg, P ve Ca gibi elementleri içermekte, sıvı ve gaz moleküllerini, bünyesindeki boşluklara kolayca alabilmektedir (Azman ve ark., 1999; Demirel ve ark., 2010). Dünyada zeolit rezervi olarak en çok bulunan ve teknolojik özellikleri en iyi olan zeolit minerali klinoptilolittir. Klinoptilolit, lifsi olmayan mineral yapısı, zararlı elementler içermemesi ve kalitesinin yüksekliğiyle organik hayvancılıkta yem katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Türkiye, 45.8 milyar ton zeolit rezervi ile dünyada ön sıralarda bulunmaktadır (Çelebi ve Kaya, 2012; Demirel ve ark., 2010). Zeolit mineralinin büyükbaş hayvanlarda ahır kokusu, altlık kalitesi ve ortamın nem durumuna etkisi üzerine bir çalışma bulunmamakla beraber, kanatlı kümes hayvanlarında altlık kalitesini artırdığı, dışkının kuru olmasını sağladığı, kümes amonyak oranını azaltarak kümes havasının temiz olmasını sağladığı bildirilmektedir (Akşit ve ark., 2000; Altan ve ark., 1998; Çelebi ve Kaya, 2012; Demirel ve ark., 2010; Mumpton, 1999; Suchy ve ark., 2006). Yemlerle alınan zeolit, rumende oluşan amonyağı bağladığı, iyon değiştirici özelliği nedeniyle kontrollü olarak ortama bıraktığı, bu sayede rumen mikroorganizmalarının devamlı ve kontrollü bir şekilde çoğaldığı ve böylece hayvanlar için çok önemli olan bakteriyel protein oluştuğu; amonyum toksikasyonunu önlediği, rumen pH'sı ve gastrointestinal salgıları tamponlama kapasitesini ayarladığı, canlı ağırlık ve besi performansını olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir (Balevi ve ark., 1998; Çolpan ve ark., 1995; Demirel ve ark., 2010; Filya ve ark., 1999; Nestorov ve ark., 1985; Toker ve Köknaroglu, 2004; Varel ve ark., 1987).

Yine çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda yemlerine zeolit katılan hayvanlarda kan ve rumen sıvısı metabolitleri üzerine zeolit her hangi bir zararlı etkisine rastlanmamıştır (Filya ve ark., 1999; Grabherr H, 2010; Ural ve Erdoğan, 2016). Bu çalışmada; Şanlıurfa yöresinde yaygın bir şekilde yapılan doğal barınak/mağara besiciliğinde hayvan refahının iyileştirilmesi amaçlanarak, Şanlıurfa yöresi mağara besiciliğinde yeme katılan ve altlık olarak kullanılan Zeolit mineralinin mağara havasına, kan serumu ve rumen sıvısı metabolitleri ile bazı sığır hastalıkları ve canlı ağırlık üzerine etkisi araştırıldı.

Materyal ve Metot

Çalışma; mağara şartlarında sığır besiciliği yapılan işletmelerde yürütüldü. Her birinde 40-50 baş sığır bulunan 40 mağarada 1-1.5 yaşları arasında kültür melezi erkek besi sığırları kullanıldı. Bu mağaralar; her bir grupta 10 adet mağara olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubu mağaralarda, yem katkısı veya altlık olarak zeolit kullanılmadı. Grup 1'de zeolit altlık olarak kullanılırken yemlerine katılmadı. Grup 2' de, yem katkısı olarak %2 zeolit içeren rasyon uygulandı, altlık olarak kullanılmadı. Grup 3'de ise hem %2 zeolit içeren rasyon uygulandı, hem de altlık olarak kullanıldı. Altlık olarak hayvan başına günlük 0.50 kg zeolit serpidi. Araştırmada kullanılan kaba ve konsantre yemlerin besin madde analizleri yapılarak rasyon hazırlandı. Rasyonlar, günlük iki öğün halinde ad libitum olarak verildi. Rasyonun bileşimi ve besin madde içerikleri, Tablo 1'de sunulmuştur. Hayvanlar, denemenin başında paraziter invazyonlara karşı ilaçlandı. Hayvanların önünde sürekli su bulunduruldu. Deneme, 3 ay olarak planlandı. Deneme öncesi ve sonrasında her grupta rastgele yöntemle seçilen 30'ar hayvanda canlı ağırlıklar tespit edildi.

Ahır ortamı amonyak düzeyi gaz ölçüm cihazı (Industrial scientific) ile ölçüldü. Nem oranları, TESTO marka rutubet ve sıcaklık ölçüm cihazıyla tespit edildi. Metan gazı ölçümleri, metan gazı ölçüm cihazı (Industrial scientific) ile çalışmanın son iki ayında gerçekleştirilmiştir. Deneme öncesi, ortası (45. gün) ve sonunda (90. gün), her gruptan 10 sağlıklı hayvan olmak üzere, toplam 40 hayvanda rumen sıvısı analizleri (total uçucu yağ asitleri, asetik asit, propiyonik asit, butirik asit, asetik asit/propiyonik asit oranı; amonyak, pH) ve kan serumu biyokimyasal analizleri (total protein, üre, kolesterol, trigliserit, NEFA, Ca, P, Mg, Na, K) yapıldı. Numuneler sabah yemlemesinden 3 saat sonra alındı.

Biyokimyasal analizler için, V. jugularisten yaklaşık 10 ml kan alındı. 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve analizleri yapılmak üzere derin dondurucuda -20°C'de saklandı. Kan serumunda total protein, üre, kolesterol, trigliserit, Ca, Mg, P, Na, K analizleri Cobas Integra 800 (Roche) otoanalizörü ile ölçüldü. Serum NEFA (esterleşmemiş uçucu yağ asidi) ise ticari kit (Wako) kullanılarak spektrofotometrede enzimatik kolorimetrik yöntemle tayin edildi. Rumen sıvısı sonda yardımıyla alındı. Bekletilmeden, rumen pH'sı ölçüldü. Rumen uçucu yağ asitleri gaz kromatografi cihazında kapiller kolon kullanılarak ölçüldü. Rumen amonyak miktarı ticari kitler kullanılarak Cobas Integra 800 (Roche) otoanalizörde belirlendi. Amonyak azotu (NH₃-N) tayini için rumen sıvısı, şu işlemlerden geçirildi: Rumen sıvıları çift katlı tülbentten süzülerek kaba partiküllerden uzaklaştırıldı ve 20 ml rumen sıvısı üzerine konsantre H₂SO₄ (%96'lık) den 4-5 damla (300-400 µl) damlatılarak karıştırıldı. 1-2 saat bekletildikten sonra, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek, kaba partiküller uzaklaştırıldı.

Uçucu yağ asidi (asetik, bütirik ve propiyonik asit) tayini için iki paralel 10 ml rumen sıvısı 4000 devirde 15 dk santrifüje edilerek kaba partiküllerin

dibe çökmesi sağlandıktan sonra, iki paralel olan rumen sıvılarının üst kısımlarından 5'er ml alınarak birleştirildi ve üzerlerine 0.5 ml formik asit, 1.5 ml metafosforik asit eklenerek tekrar 4000 devirde 15 dakika santrifüj edildi. Sıvının üst kısmından 3'er ml'lik iki paralel tüpe aktararak analizleri yapılmak üzere derin dondurucuda -20°C'de saklandı. Deneme süresince; solunum, sindirim, ayak ve göz hastalıkları açısından, her grupta genel muayene yapılarak klinik olarak hastalık durumları belirlendi.

İstatistiksel analizler; SPSS paket programında GLM (General Linear Model) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Deneme öncesi, ortası (45. gün) ve sonuna (90. gün) ait rumen sıvısı analizleri (total uçucu yağ asitleri, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit, asetik asit/propiyonik asit oranı; amonyak, pH) ve kan serumu biyokimyasal analizleri (total protein, üre, kolesterol, trigliserit, NEFA, Ca, P, Mg, Na, K) sonuçları, Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir. Buna göre; deneme ortası ve sonunda rumen amonyak düzeyi Grup 2 ve 3'de, rumen pH'sı ise Grup 3'te düştü (P<0.05).

Tablo 1. Kontrol ve Zeolit katkılı gruplarda (grup 2 ve 3) kullanılan rasyon ve besin madde Kompozisyonları.

Ham Madde %	Kontrol	Zeolit
Buğday Samanı	26,00	23,00
Arpa	11,50	11,50
Buğday	11,50	11,50
Burçak	11,50	11,50
Mısır	11,50	11,50
Mürdümük	11,50	11,50
Pamuk Tohumu Küspesi	14,45	15,45
Kireçtaşı	1,40	1,40
Tuz	0,40	0,40
Min Vit	0,25	0,25
Zeolit	-	2
Besin Madde Kompozisyonu	Kontrol	Zeolit
Rasyon Kuru Madde Oranı, %	89,09	89,32
Ham Protein, % KM	15,22	15,55
ME, Mcal/kg KM	2,42	2,40
Ca, % KM	0,66	0,65
P, % KM	0,36	0,37
NDF, % KM	36,91	34,84

Mağara ortamı amonyak düzeyleri, Tablo 4'de gösterilmiştir. Buna göre, mağara ortamı amonyak gazı değerleri açısından deneme öncesinde gruplar arasında fark bulunmadı. Denemenin 15., 30., 45. ve 90. günleri itibarıyla, özellikle Grup 1 ve 3'te, Kontrol ve Grup 2'ye göre P<0.01 düzeyinde fark belirlendi. Böylece, Grup 1 ve 3'te ahır kokusu önemli derecede azaldı.

Mağaralarda metan (LEL; düşük salınım limiti: 0-2), sıcaklık (20-23°C) ve rutubet (%65-70) sonuçları çok dar sınırlar arasında değişim gösterdi.

Bu parametrelerde, gruplar arasında bir fark bulunmadı. Tüm gruplarda deneme başlangıcında mağara ortamındaki yoğun amonyak tahrişine bağlı olarak; Kontrol grubunda 44, Grup 1'de 55, Grup 2'de 48, Grup 3'de ise 62 hayvanda hafif ya da orta derecede öksürük semptomu gözlemlendi. Denemenin sonunda Kontrol grubunda 29 (%34.09 iyileşme), Grup 1'de 26 (%52.72 iyileşme), Grup 2'de 27 (%43.75 iyileşme), Grup 3'de ise 30 (%66.12 iyileşme) sığırdaki öksürük semptomu saptandı (P<0.01). Deneme süresince Kontrol grubunda 9,

Grup 1'de ise 6 hayvanda primer timpani şekillendi. Grup 2 ve 3'de bu hastalığa rastlanmadı. Denemenin sonuna doğru Kontrol grubunda 2, Grup 1'de 2 olmak üzere toplam 4 sığırdaki ishal vakasına

rastlandı. Deneme süresince hayvanların genel sağlığını belirgin olarak etkileyecek şekilde ayak ve göz hastalıklarına rastlanmadı.

Tablo 2. Zeolit mineralinin rumen parametreleri üzerine etkisi (x±Sx).

Parametreler		Deneme öncesi	45. gün	90. gün	P
Total UYA mmol/l	Kontrol	72.76±1.85	71.30±1.87	72.88±1.42	---
	Grup 1	73.39±1.41	72.64±1.21	72.20±1.47	---
	Grup 2	71.21±1.74	71.36±1.54	73.17±1.00	---
	Grup 3	72.94±1.44	73.10±1.50	73.50±1.23	---
	P	---	---	---	---
Asetik asit mmol/l	Kontrol	53.76±1.85	53.30±1.87	53.88±1.42	---
	Grup 1	54.39±1.41	54.64±1.21	53.20±1.47	---
	Grup 2	52.21±1.74	51.57±1.64	54.17±0.89	---
	Grup 3	53.94±1.44	53.50±1.38	50.57±1.51	---
	P	---	---	---	---
Propiyonik asit mmol/l	Kontrol	30.92±1.58	31.13±1.66	30.54±0.93	---
	Grup 1	30.21±1.31	29.77±1.04	30.87±0.99	---
	Grup 2	32.02±1.41	32.52±1.06	30.82±0.65	---
	Grup 3	30.88±1.44	30.97±1.09	33.81±1.11	---
	P	---	---	---	---
Bütirik asit mmol/l	Kontrol	10.77±0.47	11.08±0.34	10.75±0.44	---
	Grup 1	10.71±0.42	10.99±0.27	10.80±0.44	---
	Grup 2	11.16±0.46	11.08±0.42	10.45±0.35	---
	Grup 3	10.36±0.40	10.76±0.41	10.79±0.35	---
	P	---	---	---	---
Asetik/Propiyonik	Kontrol	1.80±0.14	1.78±0.15	1.79±0.09	---
	Grup 1	1.84±0.11	1.87±0.10	1.75±0.09	---
	Grup 2	1.68±0.12	1.61±0.10	1.77±0.06	---
	Grup 3	1.80±0.13	1.76±0.11	1.52±0.09	---
	P	---	---	---	---
Rumen Amonyak Azotu (NH ₃ -N) mg/100ml	Kontrol	16.61±0.92	15.76±0.85	15.50±0.65	---
	Grup 1	16.96±0.86	15.60±0.73	15.34±0.50	---
	Grup 2	16.21±0.67 ^A	14.26±0.75 ^B	14.21±0.54 ^B	P<0.05
	Grup 3	16.15±0.44 ^A	14.87±0.71 ^B	14.80±0.52 ^B	P<0.05
	P	---	---	---	---
pH	Kontrol	6.30±0.06	6.29±0.13	6.35±0.13	---
	Grup 1	6.38±0.11	6.28±0.08	6.30±0.10	---
	Grup 2	6.25±0.09	6.13±0.07	6.11±0.10	---
	Grup 3	6.32±0.09 ^A	6.08±0.07 ^B	6.04±0.05 ^B	P<0.05
	P	---	---	---	---

---: Önemsiz

Her grupta 30'ar hayvanda, canlı ağırlıklar ölçüldü. Buna göre; başlangıç canlı ağırlık ortalamaları sırasıyla Kontrol, Grup 1, 2 ve 3'te 206.7±2.75; 212.4±3.53; 202.0±4.34; 209.1±3.89 iken, 90. gün sonunda 288.8±2.23; 295.5±3.23; 290.1±3.29; 298.7±4.65 değerlerine ulaştı (P>0.05). İstatistiksel olarak fark görülmesi de Grup 3'de sayısal olarak canlı ağırlık artışı gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Zeolitin amonyağa olan afinitesi sonucunda rumende amonyak miktarı düşmektedir (Çolpan ve ark., 1995; Demirel ve ark., 2010; Filya ve ark., 1999; Minato, 1968). Çalışmada zeolit mineralinin, Grup 2 ve 3'de rumen sıvısı amonyak miktarını düşürdüğü (P<0.05) tespit edildi (Tablo 2). Bu tabloda Grup 3'de görülen rumen pH'sındaki düşüşlerin de amonyak miktarındaki azalmaya bağlı olabileceği

söylenbilir (Rosenberger, 1970). Grup 2 ve 3'de istatistiki önem olmasa da deneme ortası ve sonunda deneme öncesine göre rumen sıvısı total uçucu yağ asitlerinde literatür verilerine (Filya ve ark., 1999) paralel olarak artış gözlenmiştir (Tablo 2). Deneme ortası ve sonunda Grup 2'de serum kolesterol ve fosfor, Grup 3'de ise serum potasyum düzeyinde azalma (P<0.05) gözlemlendi (Tablo 3).

Sığırlarda serum kolesterol konsantrasyonu ile karaciğer yağ konsantrasyonu arasında ters bir orantı bulunmaktadır. Karaciğer yağlanmasında serum kolesterol düzeyi düşmektedir (Başoğlu ve Sevinç, 2004). Entansif hayvancılıkta karaciğer yağlanması problemi söz konusudur. Bu durum kan kolesterol seviyesinin azalmasının bir nedeni olabilir. Literatürde zeolitin safra asidi tuzlarını sindirim kanalının yüzeyinde adsorbe ettiği, bu nedenle kan serumu kolesterol düzeyinin düştüğü de belirtilmektedir (Prvulovic ve ark., 2007). Bu

gruplarda serum trigliserit seviyelerinde artış olmaması karaciğerde önemli derecede bir hasarın olmadığını göstermektedir. Literatür verilerine uygun olarak kan serumu fosfor miktarındaki azalma zeolit mineralinin fosforun kullanılmasını azaltması ve plazma inorganik fosfatı baskılamasıyla açıklanabilir (Rabon ve ark., 1991; Roland ve ark., 1990; Thilsing-Hansen ve ark., 2002). Fosfor düzeyindeki azalma, barsaklardaki muhtemel bir emilme problemine bağlı olabileceği gibi, dolaşımda yüksek seviyedeki paratiroid hormonuyla da ilişkili olabilir. Çünkü bu hormonun yüksek düzeyleri

böbreklerden fosfor atılımında artışa neden olabilmektedir (Thilsing-Hansen ve ark., 2002). Potasyum düzeyi, deneme başlangıcına göre deneme ortasında Grup 3'te azalmasına rağmen (P<0.05) tüm gruplarda elde edilen değerler normal fizyolojik sınırlar içerisindeydi. Çünkü potasyum düzeyindeki artışlara bağlı olarak hiperkalemi gelişmekte ve sonuçta kalp bozuklukları, kas hastalıkları, asit-baz ve elektrolit dengesi bozuklukları ortaya çıkabilmektedir (Weldon ve ark., 1992).

Tablo 3. Zeolit mineralinin kan serumu biyokimyasal parametreler üzerine etkisi (x±Sx).

Parametreler		Deneme öncesi	45. gün	90. gün	P
NEFA mmol/l	Kontrol	0.56±0.02	0.57±0.02	0.56±0.02	---
	Grup 1	0.55±0.02	0.54±0.02	0.51±0.02	---
	Grup 2	0.54±0.02	0.53±0.03	0.53±0.03	---
	Grup 3	0.54±0.02	0.54±0.04	0.53±0.04	---
	P	---	---	---	---
T Prot g/dl	Kontrol	7.40±0.19	7.41±0.20	7.50±0.16	---
	Grup 1	7.81±0.12	7.74±0.13	7.79±0.12	---
	Grup 2	7.76±0.15	7.79±0.12	7.77±0.13	---
	Grup 3	7.70±0.20	7.71±0.20	7.73±0.18	---
	P	---	---	---	---
Üre mg/dl	Kontrol	29.90±3.33	29.50±2.90	28.30±2.48	---
	Grup 1	28.70±2.23	28.80±1.82	27.50±1.61	---
	Grup 2	28.60±2.97	28.80±2.38	28.60±2.24	---
	Grup 3	29.00±2.25	29.30±1.62	29.40±2.91	---
	P	---	---	---	---
Kolesterol mg/dl	Kontrol	157.20±7.24	153.50±6.24	152.10±6.14	---
	Grup 1	152.30±11.06	150.60±8.50	151.50±7.75	---
	Grup 2	161.20±11.43 ^A	156.10±10.13 ^B	153.10±9.16 ^B	P<0.05
	Grup 3	170.10±12.16	165.90±11.82	165.90±11.83	---
	P	---	---	---	---
Trigliserit mg/dl	Kontrol	13.53±0.84	13.13±0.73	12.93±0.53	---
	Grup 1	12.62±0.97	12.41±0.85	12.08±0.80	---
	Grup 2	14.53±1.09	14.12±1.04	13.59±0.91	---
	Grup 3	13.77±1.24	13.18±1.22	13.36±1.01	---
	P	---	---	---	---
Ca mg/dl	Kontrol	10.39±0.18	10.22±0.18	10.31±0.15	---
	Grup 1	10.38±0.23	10.33±0.26	10.44±0.23	---
	Grup 2	10.66±0.16	10.67±0.20	10.78±0.16	---
	Grup 3	10.66±0.26	10.87±0.20	10.99±0.21	---
	P	---	---	---	---
P mg/dl	Kontrol	6.63±0.39	6.67±0.32	6.63±0.31	---
	Grup 1	6.96±0.25	6.90±0.25	6.85±0.21	---
	Grup 2	6.92±0.23 ^A	6.72±0.20 ^B	6.55±0.17 ^C	P<0.05
	Grup 3	6.62±0.29	6.47±0.19	6.55±0.22	---
	P	---	---	---	---
Mg mg/dl	Kontrol	2.61±0.12	2.59±0.12	2.57±0.11	---
	Grup 1	2.57±0.10	2.50±0.09	2.47±0.10	---
	Grup 2	2.62±0.07	2.59±0.10	2.54±0.75	---
	Grup 3	2.75±0.11	2.68±0.09	2.61±0.10	---
	P	---	---	---	---
Na mmol/l	Kontrol	143.70±1.65	142.10±1.90	144.10±2.13	---
	Grup 1	148.10±1.97	147.60±2.50	146.30±2.73	---
	Grup 2	147.60±1.54	148.30±1.90	147.90±2.19	---
	Grup 3	147.90±1.73	146.90±1.97	144.40±1.99	---
	P	---	---	---	---
K mmol/l	Kontrol	4.35±0.10	4.46±0.11	4.40±0.14	---
	Grup 1	4.57±0.09	4.49±0.11	4.50±0.13	---
	Grup 2	4.71±0.98	4.63±0.13	4.65±0.13	---
	Grup 3	4.94±0.15 ^A	4.82±0.16 ^B	4.78±0.14 ^B	P<0.05
	P	---	---	---	---

---: Önemsiz

Tablo 4. Zeolit mineralinin doğal barınak ortamı amonyak gazı düzeyine (ppm) etkisi (x±Sx).

Gruplar	Başlangıç	15. gün	30. gün	45. gün	90. gün	P
Kontrol	16.50±6.64	19.30 ± 5.72 ^a	20.90 ± 6.85 ^a	20.30 ± 6.48 ^a	18.10±5.75 ^a	---
Grup 1	21.50 ± 6.49 ^A	9.40 ± 1.96 ^{bb}	8.90 ± 3.38 ^{bb}	11.40 ± 3.89 ^{bcB}	10.05±3.25 ^{bb}	P<0.01
Grup 2	15.50 ± 5.36	15.90 ± 5.30 ^a	20.50 ± 6.75 ^a	15.90 ± 3.07 ^{ab}	16.48±3.15 ^a	---
Grup 3	21.40 ± 6.65 ^A	5.90 ± 2.77 ^{bb}	6.30 ± 2.00 ^{bb}	6.70 ± 3.33 ^{cB}	8.20±4.10 ^{bb}	P<0.01
P	P>0.05	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.01	

---: Önemsiz

Çalışmada kan serumu NEFA, üre, total protein, Na, Ca ve Mg konsantrasyonları ve rumen sıvısı total uçucu yağ asitleri (asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit) referans değerleri (Borchardt, 2010; Rosenberger, 1990) aralığında bulunmuş olup zeolit olumsuz bir etkisine rastlanmamıştır. Zeolit amonyum iyonları ve amonyağa karşı spesifik bir afinitesi bulunmaktadır (Demirel ve ark., 2010; Minato, 1968). Çalışmada özellikle zeolit altlık olarak kullanıldığı gruplarda (Grup 1 ve 3) barınağın amonyak gazı seviyesi önemli ölçüde (P<0.01) azalmıştır (Tablo 4). Domuzlarda yapılan bir çalışmada, %2 oranında yem katkı maddesi olarak kullanılan zeolit, ortamın amonyak düzeyini %33 düzeyinde azaltmıştır (Milic ve ark., 2005). Çalışmada zeolit mineraline bağlı olarak ahır ortamı amonyak düzeyinin azalmasının sığır besiciliğinde pratiğe katkısı olacaktır.

Günümüzde yapılan entansif hayvancılık, çeşitli gazlar ve kötü koku yayılmasıyla çevreye olumsuz etki yapmaktadır. Bu kapsamda en önemli hava kirleticilerden birisi amonyaktır. Diğerleri ise; metan, karbon dioksit, hidrojen sülfür, nitroz oksit ve 130 dan fazla sayıda eseri miktardaki gazlardır (Milic ve ark., 2005). Araştırmadaki besi işletmelerinin sahipleri, zeolit mağara ortamının kokusunu azalttığını ve bu minerali işletmelerinde kullandıkları için memnun olduklarını ifade etmişlerdir. Ahır ortamında amonyak oluşması, hayvanların sağlığını da etkilemektedir. Amonyak direk olarak solunum mukozasını irrite ederek öksürüğe ve akciğer kapasitesinin azalmasına yol açar (Milic ve ark., 2005). Çalışmada, zeolit hem yem katkısı hem de altlık olarak kullanıldığı Grup 3'de ortamın amonyak miktarının diğer gruplardan daha fazla düşmesi klinik semptomların azalmasıyla paralellik göstermektedir. Metan gazı ölçümü için ise gaz odası kurularak, yeme katılan ya da altlık olarak kullanılan zeolit etkisinin deneysel çalışmalarla ortaya konulmasının yararlı olacağı kanısındayız. Denemenin sonuna doğru Kontrol grubunda 2, Grup 1'de 2 olmak üzere toplam 4 sığırda ishal vakasına rastlandı. Bu vakalarda zeolit (günde 500 gr. ağız yoluyla, 3 kez) tedavi amacıyla kullanıldı ve bütün vakalarda tam iyileşme sağlandı. Zeolit mineralinin sığır ishallerinde etkinliğini araştırılan daha kapsamlı çalışmalara gereksinim

duyulmaktadır. Çolpan ve ark. (1995), yaptıkları çalışmada, konsantre yeme %1.5 oranında katılan zeolit sığırlarda besi performansı üzerine etkisini incelemiş, zeolit verilen deneme grubunun kontrol grubuna göre yemi daha iyi değerlendirdiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda da benzer olarak yeme %2 oranında katılan zeolit besi performansını olumlu yönde etkilediği, dolayısıyla besi sığırlarında zeolit kullanımının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, besi sığırlarında yem katkı maddesi ve altlık olarak kullanılan zeolit incelenen rumen, rumen sıvısı ve kan serumu parametrelerinde önemli düzeyde bir değişiklik yapmadığı; hayvanların sağlığı, canlı ağırlıkları, ahır havası ve kokusuna olumlu etki yaparak hayvan refahına katkı sağladığı belirlenmiştir.

Teşekkür

TAGEM tarafından 07/AR-GE/10 proje numarası ve "Şanlıurfa Doğal Barınak Besiciliğinde Zeolit Mineralinin Hayvan Refahı Üzerine Etkisi" ismiyle desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Akşit M, Bozkurt M, Alçiçek A, 2000: Farklı formda yemlerle beslenen etlik piliçlerde altlığa değişik düzeylerde zeolit ilavesinin performans ve altlık özellikleri üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*, 41, 84-90.
- Altan A, Altan Ö, Alçiçek A, Nalbant M, Akbaş Y, 1998: Tavukçulukta doğal zeolit kullanımı, 1. altlığa zeolit ilavesinin etlik piliç performansı, altlık nemi ve amonyak konsantrasyonu üzerine etkileri. *Ege Üniv Ziraat Fak Derg*, 35, 1-3.
- Azman MA, Umucalılar HD, Arat E, Akın I, 1999: Süt ineklerinde verim performansı, rumen parametreleri ve sindirilebilirlik üzerine zeolit etkisi. *Vet Bil Derg*, 15(2), 105-109.
- Balevi T, Coşkun B, Kurtoğlu V, Umucalılar HD, 1998: Etlik piliç rasyonlarına katılan zeolit büyüme performansı ile altlığın ıslaklığı azot amonyak ve fosfor düzeyi üzerine etkisi. *Vet Bil Derg*, 14, 33-38.
- Başoğlu A, Sevinç M, 2004: Evcil hayvanlarda metabolik ve endokrin hastalıklar. Pozitif Matbaacılık, Konya.
- Borchardt S, 2010: Untersuchungen zum Einsatz der NEFA und der BHB zur Stoffwechselüberwachung von Transitzühen unter besonderer Berücksichtigung von gepoolten Serumproben. Inaugural-Dissertation, Berlin.

- Çelebi Ş, Kaya A, 2012: Yumurta tavuğu ve broyler yemlerinde zeolit kullanımı. *Hayvansal Üretim*, 53(2), 40-48.
- Çolpan İ, Tuncer ŞD, Önel A, Yıldız G, 1995: Limozin x jersey (f1) melezi tosunlarda zeolitin besi performansı ve karkas özelliklerine etkisi. *Lalahan Araş Enst Derg*, 35(3-4), 26-43.
- Demirel DŞ, Demirel R, Doran İ, 2010: Doğal Zeolitlerin Hayvancılıkta Kullanım Olanakları. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 14(2), 13-20.
- Filya İ, Karabulut A, Ak İ, Akgündüz V, 1999: Entansif kuzu besisinde zeolit kullanılmasının kuzuların besi performansı ile bazı kan ve rumen sıvısı metabolitleri üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*, 39-40, 39-48
- Grabherr H, 2010: Einfluss von Zeolith A auf die Futteraufnahme, den Mineralstoff- und Energiestoffwechsel im peripartalen Zeitraum sowie auf die Nährstoffverdaulichkeit bei Milchkühen. Inaugural-Dissertation. Leipzig.
- Milic D, Tofant A, Vucemilo M, Venglovsky J, Ondrasovicova O, 2005: The performance of natural zeolite as a feed additive in reducing aerial ammonia and slurry ammonium ion concentration in the pig farm nursery. *Folia Veterinaria*, 49, 23-25.
- Minato H, 1968: Characteristics and uses of natural zeolites, *Koatsugasu*. 5, 536-547.
- Mumpton, FA, 1999: La Roca Magica: Uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96(7), 3463-3470.
- Nestorov N, Yankov B, Lazarov V N, 1985: Effect of the amount of zeolite in diets with urea on the digestibility of nutrients and nitrogen balance in fattening young bulls. *Nutrition Abstract and Reviews*, 55(7), 389.
- Prvulovic D, Jovanovic-Galovic A, Stanic B, Popovic M, Grubor-Lajsic G, 2007: Effects of a clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 159-164.
- Rabon HW, Roland DA, Bryant M, Barnes DG, Laurent SM, 1991: Influence of sodium zeolite with and without puliet-sized limestone or oyster shell on eggshel on quality. *Poultry Science*, 69, 1943-1947.
- Roland DA, Rabon HW, Frost TJ, 1990: Response of commercial leghorn to sodium aluminosilicate when fed different levels and sources of available phosphorus. *Poultry Science*, 69, 2157-2164.
- Rosenberger G, 1970: Krankheiten des Rindes. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Rosenberger G, 1990: Die klinische Untersuchung des Rindes. 3. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- Suchý P, Straková E, Večerek V, Klouda Z, Kráčmarová E, 2006: The effect of a clinoptilolite-based feed supplement on the performance of broiler chickens. *Czech Journal of Animal Science*, 51(4), 168-173.
- Thilising - Hansen T, Jorgensen RJ, Enemark JMD, Larsen T, 2002: The effect of zeolite supplementation in the dry period on periparturient calcium, phosphorus, and magnesium homeostasis. *J Dairy Sci*, 85, 1855-1862.
- Toker TM, Köknaröğlü H, 2004: Zeolitin ve besi başı ağırlığının isviçre esmeri danaların feedlot performansı üzerine etkileri. 4. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi. Isparta, 405-40.
- Ural DA, Erdoğan H, 2016: Siyah alaca ineklerde rasyona %3 ve %4 clinoptilolite takviyesinin aminotransferaz enzim düzeyleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 11(3), 319-326.
- Varel VH, Robinson IM and Pond WG, 1987: Effect of dietary copper sulfate, Aureo SP250, or clinoptilolite on ureolytic bacteria found in the pig large intestine. *Applied and Experimental Microbiology*, 53, 2009-2012.
- Weldon AD, Moise NS, Rebhun WC, 1992: Hyperkalemic atrial standstill in neonatal calf diarrhea, *J Vet Intern Med*, 6, 294-7.

***Yazışma Adresi:** Mehmet AVCI

Harran Üniversitesi, Eyyübiye Kampüsü, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD, Şanlıurfa, Türkiye.
E-mail: mavci@harran.edu.tr

Ağrı İlinde Sığırlarda Ayak Hastalıkları Prevalansının Belirlenmesi

Selvinaz YAKAN

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Eleşkirt Celal Oruç Hayvansal Üretim Yüksek Okulu, Hayvan Sağlığı Anabilim Dalı, Ağrı, Türkiye.

Geliş Tarihi: 20.06.2018

Kabul Tarihi: 03.12.2018

Özet: Bu çalışma; Ağrı ilinde sığırlarda görülen ayak hastalıklarının prevalansının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Araştırma farklı ırk, yaş ve cinsiyette toplam 1486 sığır üzerinde yürütüldü. Araştırmadaki hayvanların ırklara göre dağılımı %34.66 (515 olgu)'sı Montofon, %30.96 (460 olgu)'sı Simental, %24.02 (357 olgu)'si yerli ırk, %10.36 (154 olgu)'sı melez sığırlardı. Olguların cinsiyete göre dağılımı ise %84.45 (1255 olgu)'i dişi, %15.55 (231 olgu)'i erkekti. 1486 sığırdan 280 sığırdan ayak hastalığı tespit edildi. Tespit edilen hastalıkların %29.45 (48 olgu)'i interdigital dermatitis, %23.31 (38 olgu)'i digital dermatitis, %16.57 (27 olgu)'si interdigital hiperplazi, %15.95 (26 olgu)'i ökçe çürüğü, %6.75 (11 olgu)'i tırnak çatlağı, %3.68 (6 olgu)'i interdigital flegmon, %2.45 (4 olgu)'i taban ülseri ve %1.84 (3 olgu)'ü beyaz çizgi hastalığı oluşturdu. Hastalık tespit edilen olguların %54.29 (152 olgu)'unda tırnak deformasyonu ile birlikte lezyon görülürken %3.92 (11 olgu)'sinde sadece lezyon, %41.79 (117 olgu)'un da sadece tırnak deformasyonu saptandı. Topallık %2.14 oranında sağ ön ayakta, %4.29 oranında sol ön ayak, %47.86 oranında sağ arka ayak, %45.71 oranında sol arka ayakta görülmüştür. Arka ayaklardaki lezyonların daha çok lateral (%55.73), ön ayakta ise daha çok medial tırnaklarda (%61.11) yerleştiği saptanmıştır. Bu araştırmanın sonuçlarına göre 2016-2017 yılları arasında Ağrı ilinde sığırlarda ayak hastalıklarının yıllık prevalansı %18.84 olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ayak hastalıkları, Prevalans, Sığır, Ağrı ili.

Determination of Prevalence of Foot Diseases in the Cattle in Ağrı Province

Abstract: This study was conducted to determine the prevalence of foot diseases in cattle in Ağrı province. The study was carried out on a total of 1486 cattle of different breeds, ages and genders. Distribution of animals according to breeds were 34.66% (515 cases) Brown Swiss, 30.96% (460 cases) Simmental, 24.02% (357 cases) indigenous breed and 10.36% (154 cases) crossbreeds. Distribution of the cases among genders were 84.45% (1255 cases) females and 15.55% (231 cases) males. Foot diseases were found in 280 of 1486 cattle. Among the diseases determined were interdigital dermatitis in 29.45% (48 cases), digital dermatitis in 23.31% (38 cases), interdigital hyperplasia in 16.57% (27 cases), bruised sole in 15.95% (26 cases), fissured ungulae in 6.75% (11 cases), interdigital phlegmon in 3.68% (6 cases), sole ulcer in 2.45% (4 cases) and white line diseases in 1.84% (3 cases). In 11 cases (3.92%) only lesions were observed while in 117 cases (41.79%) only hoof deformities were determined. In 152 cases (54.29%) both lesions and hoof deformities, were determined. Lameness were observed 2.14% in the right forefoot, 4.29% in the left forefoot, 47.86% in the right hind foot and 45.71% in the left hind foot. The lesions were found to be located more frequently in the lateral hoof of the hind foot (55.73%) and in the medial hoof of the front foot (61.11%). According to the results of this research, the annual prevalence of foot diseases in cattle in Ağrı province was determined as 18.84% between 2016-2017.

Keywords: Foot disease, Prevalence, Cattle, Ağrı province.

Giriş

Sığır yetiştiriciliğinde karşılaşılan en önemli sağlık sorunlarından biride ayak hastalıklarıdır (Baran ve Kamiloğlu, 1997; Canpolat ve Bulut, 2003; Yalçın ve ark., 2010; Yavru ve ark., 1992; Yayla ve ark., 2012). Özellikle kültür ırkı sığır yetiştiriciliğinin yaygınlaşması ile ülkemizde ayak hastalıklarının giderek arttığı ve önemli ekonomik kayıplara yol açtığı rapor edilmektedir (Alkan ve ark., 1993; Antepioğlu ve ark., 1992; Atasoy, 2003; İstek ve Durgun, 2004; Sağlıyan ve Ünsaldı, 2002; Yaylak, 2008). Ayak hastalıklarından kaynaklanan finansal kayıplar; laktasyon süresi ve süt veriminin azalması, canlı ağırlık artışında azalma, kilo kaybı, döl veriminin düşmesi, tedavi giderleri ve üretimden

erken çıkarma olarak sıralanmaktadır (Görgül ve ark., 2002; Kamiloğlu, 2014; Keskin ve Durmuş, 2016; Özcan ve Pamuk, 2009; Özsoy ve Yücel, 1991; Yaylak, 2008). Ayak lezyonlarının görülme oranı sığırın ırkı, yetiştirme şekli, iklim ve coğrafi bölgelere göre değişiklikler göstermektedir (Canpolat ve ark., 2005; Güzel ve Erden, 2000; Ormancı ve Belge, 2001; Özcan ve Pamuk, 2009; Şındak ve ark., 2003). Genetik yatkınlık, yapı bozuklukları, mevsim, çevresel faktörler, yaş, laktasyon, hatalı besleme ve tırnak bozuklukları gibi nedenler ayak hastalıkları insidansı üzerine etkili olmaktadır (Alkan ve ark., 1993; Elma ve Kumandaş, 2015; Han ve ark., 2017; Özsoy ve Yücel, 1991; Yalçın ve ark., 2010). Ayak

hastalıklarının prevalansı ile ilgili yapılan çalışmaların bölgede bulunan hastalıkların tespit edilmesi, bu hastalıkların sebepleri ve tedaviye yaklaşım şeklinin belirlenmesi ile veteriner hekim ve yetiştiricilere kolaylık sağlayacağı bildirilmektedir (Çeçen ve Görgül, 2007; Şındak ve ark., 2003; Yayla ve ark., 2012).

Bu çalışmada Ağrı ilinde sığırlarda görülen ayak hastalıkları prevalansının belirlenmesi ile koruyucu önlemler ve sağaltım yönünden yetiştiricilerin bilinçlendirilerek ekonomik kayıpların en aza indirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma; 2016-2017 yılları arasında Ağrı ilindeki ahır ve çiftliklerde ayak hastalıkları yönünden muayenesi yapılan farklı ırk, yaş, cinsiyet ve ağırlıkta 1486 sığır üzerinde yapıldı.

Araştırma süresince öncelikle ahır ve barınaklar kontrol edilerek tespit edilen eksiklikler hayvan sahiplerine bildirildi. İşletmelerde yapılan incelemelerde önce hayvanların ırkı, yaşı, cinsiyeti, bakım, beslenme ve ayakların anatomik yapısı incelenerek kayıtları tutuldu. Kayıtları tutulan ve ayak hastalıkları belirtisi gösteren hayvanlar detaylı incelemeye alındı. Semptom gösteren hayvanlar için öncelikle anamnez alınarak işleme başlandı. Anamnez ile hastalığın klinik seyrine göre evresi ve topallığın gruplandırılması belirlenmeye çalışıldı. Topallayan ayak tırnağının mekanik temizliğinden sonra; tırnak şeklinin düzgünlüğü, tırnak büyüklüğünün hayvanın cüssesine göre normal olup olmadığı, tırnaktaki maddi kayıplar, ayrılmalar, biçim değişiklikleri, fistüllerin varlığı, yumuşak ökçelerdeki ve korona bölgesindeki kızarıklık ve şişkinliklerin olup olmadığı araştırıldı. Ayak lezyonları görülen sığırların sayısı, cinsiyeti, ırkı, yaşı belirlenerek bulgular değerlendirildi.

Bulgular

Bu çalışma kapsamında değerlendirilen değişik ırk, yaş ve cinsiyetteki toplam 1486 sığırdan 280'inde topallıkla karakterize ayak hastalıkları tespit edilerek prevalansı %18.84 olarak belirlendi. Çalışmayı oluşturan hayvanların %34.66 (515 olgu)'sını Montofon, %30.96 (460 olgu)'sını Simental, %24.02 (357 olgu)'sini yerli ve %10.36 (154 olgu)'sını melez ırk oluşturdu. Ayak hastalığı saptanan olguların ırklara göre dağılımı ise %44.29 (124 olgu)'u Montofon, %32.14 (90 olgu)'ü Simental, %13.21 (37 olgu)'i yerli ve %10.36 (29

olgu)'sı melez ırk olarak belirlendi. Olguların cinsiyete göre dağılımları incelendiğinde %84.45 (1255 olgu)'i dişi, %15.55 (231 olgu)'i ise erkek idi. Hasta hayvanların %79.29 (222 olgu)'nun dişi, %20.71 (58 olgu)'inin de erkek hayvanlardan oluştuğu saptandı.

Hastalık en çok %24.64 (69 olgu) oran ile 2 yaş sığırlarda görüldü. Bunu sırasıyla %21.79 (61 olgu) oran ile 3 yaşlı sığırlar, %13.22 (37 olgu) oran ile 5 yaşlı sığırlar, %12.14 (34 olgu) oran ile 4 yaşlı sığırlar, %9.64 (27 olgu) oran ile 1 yaşlı sığırlar, %5 (14 olgu) oran ile 6 yaşlı sığırlar, %4.29 (12 olgu) oran ile 7 yaşlı sığırlar, %3.21 (9 olgu) oran ile 8 yaşlı sığırlar, %3.21 (9 olgu) oran ile 9 yaşlı sığırlar ve %2.86 (8 olgu) oran ile 10 yaşlı sığırlar takip etti. Hastalık en çok 1-5 yaş arası sığırlarda (minimum1-maksimum10) görüldü.

Bu çalışmada rastlanılan hastalıklar interdigital dermatitis %29.45 (48 olgu) (Şekil 1b), digital dermatitis %23.31 (38 olgu), interdigital hiperplazi %16.57 (27 olgu) (Şekil 1a, 2a, 2b), ökçe çürüğü %15.95 (26 olgu) (Şekil 3c), tırnak çatlağı %6.75 (11 olgu), interdigital flegmon %3.68 (6 olgu) (Şekil 3a), taban ülseri %2.45 (4 olgu) (Şekil 3b), beyaz çizgi hastalığı %1.84 (3 olgu) oranında gözlemlendi. Hastalık tespit edilen olguların %93.25 (152 olgu)'inde tırnak deformasyonu ile birlikte lezyon görülürken %6.75 (11 olgu)'inde sadece lezyon görüldü.

Ayak hastalığı tespit edilen 280 olgudan %54.29 (152 olgu)'unda ayak hastalığı ile birlikte tırnak deformasyonu, %3.92 (11 olgu)'sinde ayakta sadece lezyon ve %41.79 (117 olgu)'unda da sadece tırnak deformasyonu saptandı. Taramalar sırasında hem lezyonla birlikte görülen, hem de sadece tırnak deformitesi tespit edilen olguların dağılımı ise sivri tırnak %43.49 (117 olgu), tirbüşon tırnak %27.88 (75 olgu) (Şekil 1a), yayvan ve geniş tırnak %17.10 (46 olgu), makas tırnak %6.69 (18 olgu), küt tırnak %3.35 (9 olgu) ve ayrıık tırnak %1.49 (4 olgu) (Şekil 1b) oranında gözlemlendi.

Topallığın %2.14 (6 olgu) oranında sağ ön ayakta, %4.29 (12 olgu) oranında sol ön ayak, %47.86 (134 olgu) oranında sağ arka ayak ve %45.71 (128 olgu) oranında sol arka ayakta olduğu görüldü. Arka ayaklardaki lezyonların büyük çoğunluğunun lateral (%55.73), ön ayakta ise daha çok medial tırnaklarda (%61.11) lokalize olduğu tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Sığırlarda ayak hastalıklarının prevalansının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, nedenlerin ortaya çıkarılması ve tedavi

seçeneklerinin sunulmasıyla hem veteriner hekimlere hem de yetiştiricilere büyük katkı sağlanacağı rapor edilmektedir (Çeçen ve Görgül, 2007; Şındak ve ark., 2003; Yayla ve ark., 2012). Bu amaçla ülkemizde yapılan çalışmalarda bölgelere göre ayak hastalıkları prevalansı, İstanbul ve Tekirdağ bölgesinde %18.6 (Yücel, 1982), Konya bölgesinde %68 (Yavru ve İzci, 1988), Van ve yöresinde %26.31 (Alkan ve ark., 1993), Tunceli ve yöresinde %12 (Sağlıyan ve Ünsaldı, 2002), Elazığ yöresinde %17 (Canpolat ve Bulut, 2003), Erzurum yöresinde %22.72 (Atasoy, 2003), Muş ve yöresinde

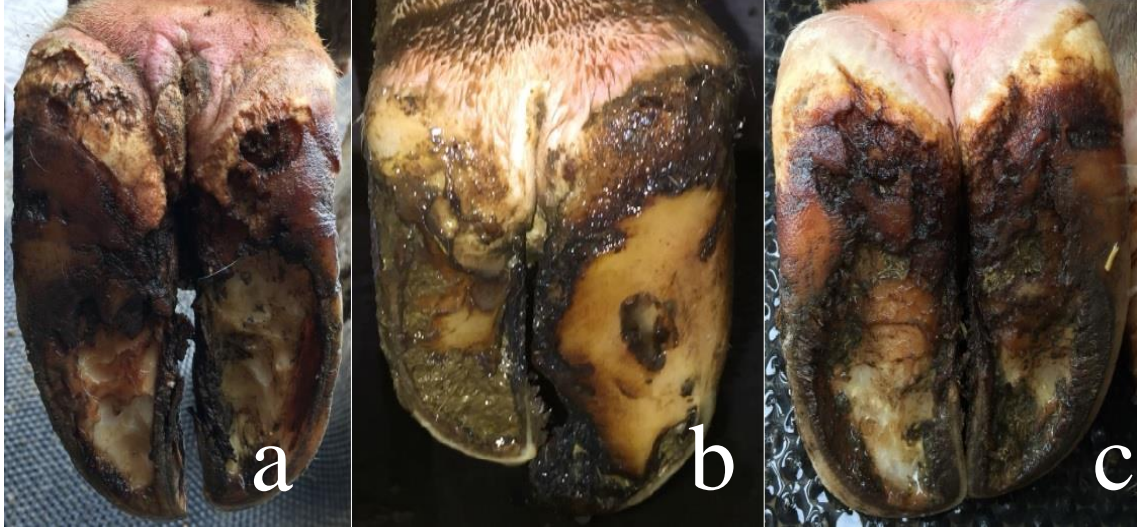
%14.16 (İstek ve Durgun, 2004), Kars ve yöresinde %12.08 (Yayla ve ark., 2012), Gaziantep ve yöresinde %11.14 (Keskin ve Durmuş, 2016), Sivas ve yöresinde %38.77 (Yurdakul ve Şen, 2018) gibi oldukça değişken ancak, çalışmaların yapıldığı bölgeler itibariyle, yüksek oranlarda ayak hastalığına rastlandığı bildirmektedirler. Bu çalışmada Ağrı ilinde sığırlarda ayak hastalıklarının prevalansı %18.84 olarak belirlenmiştir. Bu oran Türkiye'nin benzer iklim ve coğrafi konumunda olan illerdeki sığırların ayak hastalıkları prevalansına yakındır.



Şekil 1. (a) Üç yaşlı dişi sığırdada, interdigital hiperplazi (limaks, tilom, interdigital fibroma) ile ucu tırnakçı adlı ampiriklerce kesilmiş tırbüşon tırnak ve (b), dört yaşlı dişi sığırdada interdigital dermatitis ile ayrı tırnak görünümü.



Şekil 2. İki yaşlı dişi sığırdada (a), sağ ve (b), sol ön ayaklarda interdigital hiperplazinin klinik görünümü ve hatalı tırnak kesimi.



Şekil 3. (a), iki yaşlı dişi sığırdaki interdigital flegmon (b), bir yaşlı düvede taban ülseri (Rusterholz ulkusu) ve (c), iki yaşlı dişi sığırdaki ökçe çürüğünün görünümü.

Sığırlarda ayak hastalıklarının yerli ırka göre kültür ırklarında daha yaygın görüldüğü bildirilmektedir. Bunun nedeni olarak ta kültür ırklarının yerli ve melez ırklara göre daha fazla canlı ağırlığa sahip olması, yüksek verim özellikleri ve Türkiye'deki hastalıklara karşı daha dirençsiz olmasına bağlanmaktadır (İstek ve Durgun, 2004; Özcan ve Pamuk, 2009; Ünsaldı ve Durmuş, 1999; Yayla ve ark., 2012; Yurdakul ve Şen, 2018). Türkiye'nin farklı bölgelerinde sığır ayak hastalıkları prevalansının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda hayvan ırklarının coğrafi dağılımı farklılık göstermekle birlikte kültür ırklarında ayak hastalıkları oranının daha fazla olduğu saptanmıştır. Görgül (1988) çalışmasında ayak lezyonlarının ırklara göre dağılımını Holştayn %69.52, Montofon %24.76, Jersey %0.95, yerli %1.92, melez %2.85 olarak belirlemiştir. İstek ve Durgun (2004) çalışmalarında Holştayn %23.13, Simental %19.56, Montofon %14.74, melez %12.20, yerli ırk sığırlarda ise %10.26 oranında bildirilmişlerdir. Özcan ve Pamuk (2009) çalışmalarında Holştayn'larda %47.17, Montofon'larda %17.44, yerli ırkta %10.26, Simental'lerde %12.30 ve melez ırkta %12.83 oranında saptamışlardır. Yayla ve ark. (2012) Simental %18.51, melez %11.13, Montofon %10.81 ve yerli ırk %8.45 olarak belirlemişlerdir. Keskin ve Durmuş (2016) Holştayn %65.73, Simental %27.23, Montofon %5.16, yerli %1.41 ve melez ırkta %0.47 oranında görüldüğünü bildirmektedirler. Yurdakul ve Şen (2018) Holştayn %60.61, Simental %56.06, Montofon %29.67, Melez %23.75 ve Yerli ırk sığırlarda %20,59 oranında bildirmişlerdir. Bu araştırmada hastalık Montofon ırkta %44.29, Simental ırkta %32.14, yerli ırkta %13.21 ve melez ırkta %10.36 oranında görülmüştür. Bu çalışmanın bulgularıyla da ayak hastalıklarının kültür ırklarında

daha yüksek oranlarda görüldüğü ortaya konmuştur.

Sığırlarda ayak hastalıkları üzerine yapılan çalışmalarda hastalıkların cinsiyete göre dağılımlarının belirlendiği araştırmalarda; Özsoy ve Yücel (1991)'in bulgularında hasta hayvanların %68.3 'nün dişi, %36.2'sinin erkek, Alkan ve ark. (1993)'nin çalışmalarında %86.36'sının dişi, %13.64'ünün erkek, Ünsaldı ve Durmuş (1999)'un bulgularında %97.3'nün dişi, 2.7%'sinin erkek, Sağlıyan ve Ünsaldı (2002)'nin çalışmalarında %68.90'nun dişi, %31.10'unun erkek, İstek ve Durgun (2004)'nun çalışmalarında 79.31%'nin dişi, % 20.69'nun erkek, Yayla ve ark. (2012)'nin çalışmalarında %51.8'inin dişi, %48.2 'sinin erkek, Yurdakul ve Şen (2018)'in çalışmalarında %71.62'sinin dişi, %28.38'nin erkek hayvanlarda görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada ise cinsiyete göre dağılımları %79.29 dişilerde, %20.71 ise erkeklerde görüldüğü saptandı ve dişilerde erkeklerden daha yaygın görülmesi diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumluydu. Ayak hastalıklarının dişi hayvanlarda daha yüksek oranlarda görülmesi hayvanların verim özelliklerine bağlanabilir. Süt ineklerinin laktasyon evrelerinde tırnak mineral kompozisyonundaki değişimlere, gebeliğin ileri dönemlerinde vücut ağırlığının artışına bağlı olarak tırnaklara daha fazla yük binmesi ile ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda bu çalışmada Ağrı ilinde dişi hayvan popülasyonunun fazlalığına bağlanabilir. Erkek hayvanların kasaplık edilmesi ve ekonomik değerlerinden dolayı diğer illere satılması Ağrı ilinde dişi hayvan popülasyonunu arttırmakta ve hastalıkların dişi hayvanlarda daha yüksek oranlarda görülmesine yol açmaktadır.

Ayak hastalıklarının etiolojisinde yaşın önemli bir faktör olduğu hastalığın daha çok 3-7 yaş arası sığırlarda görüldüğü bildirilmektedir (Keskin ve Durmuş, 2016). Özsoy ve Yücel (1991) 1-5 yaş arasında, İstek ve Durgun (2004) 4 ve 6 yaşındaki sığırlarda, Yayla ve ark. (2012) ortalama 2.14, Keskin ve Durmuş (2016) en fazla 3 yaşındaki sığırlarda ayak hastalıklarının meydana geldiğini bildirmektedirler. Bu çalışmada da hastalıkların en çok 1-5 yaş arası sığırlarda şekillendiği belirlendi. Hastalık en çok %24.64 oran ile 2 yaşlı sığırlarda görüldü. Bu çalışmada da ayak hastalıklarının yüksek oranda genç hayvanlarda görülmesi Yayla ve ark. (2012)'nin bildirdiği gibi, şap hastalığının kültür ırkı sığırlarda ve gençlerde çok çabuk ve şiddetli seyretmesine bağlanabilir. Aynı zamanda bu çalışmada Ağrı ilinde ekonomik açıdan verimliliğini yitirmiş olan yaşlı sığırların kesime sevk edilmesi hastalıkların genç hayvanlarda daha sıklıkla görülmesine yol açmıştır.

Bu çalışmada belirlenen ayak hastalıkları içerisinde ilk sırayı ayak derisi hastalıkları almıştır. Bunu sırasıyla %29.45 oran ile interdigital dermatitis, %23.31 oran ile digital dermatitis ve %16.57 oran ile interdigital hiperplazinin izlediği görüldü. Ayak hastalığı saptanan 163 olgudan 119 (%73.01)'unun ayak derisi hastalığı olduğu saptandı. Atasoy (2003)'unda bildirdiği gibi ayak derisinde lezyonların oluşumu büyük oranda basit travmatik yaraların zamanında tedavi edilmeyip, tırnak bakımı, ahır yapısı ve hijyenine gerekli önemin verilmemesinin en önemli etken olduğu yapılan gözlemlerde saptanmıştır. Deri hastalıklarından sonra %15.95 oran ile hastalıklar arasında en fazla ökçe çürüğünün görülmesi ise deri lezyonlarının ileri aşamasında ökçenin kornu tabakasında lezyonlara neden olduğu bununda ökçe erozyonuna yol açtığı ayrıca nemli ve hijyenik olmayan ahır şartlarının neden olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Bu çalışmada tırnak deformiteleri ve tırnak deformiteleri ile birlikte görülen ayak hastalıklarındaki tırnak deformitelerinin toplam sayısı 269'dur. Deformite oranları; sivri tırnak %43.49 (117 olgu), tırbüşon tırnak %27.88 (75 olgu), yayvan ve geniş tırnak %17.10 (66 olgu), makas tırnak %6.69 (18 olgu), küt tırnak %3.35 (9 olgu), ayrık tırnak %1.49 (4 olgu) oranında belirlendi. Bu çalışmada ayak hastalığı saptanan 280 olgunun 152'sinde ayak hastalığı ile birlikte tırnak deformasyonu görüldü. Tırnak deformitelerinin ayak hastalıkları içerisinde %54.29 gibi yüksek oranda görülmesi ayak hastalıklarının oluşmasında deforme tırnak yapısının önemli rol oynadığı bundan önceki araştırmacıların bulguları ile benzerdi (Alkan ve ark., 1993; Elma ve Kumandaş, 2015; Han ve ark., 2017; Özcan ve Pamuk, 2009; Samsar ve ark., 1977; Yavru ve ark., 1992; Yayla ve ark., 2012; Yurdakul ve Şen,

2018). İstek ve Durgun (2004) ile Han ve ark. (2017)'nin de belirttiği gibi, deforme tırnak sayısının yaygınlığı hayvanların uzun kış şartları nedeniyle ahırlarda kapalı tutulup, yeterince gezdirilmediği, yetiştiricilerin tırnak bakımına gereken önemi vermediği ve tırnak bakımı yapan kişilerinde veteriner hekim olmamasından kaynaklandığı gözlemlendi.

Sığırlarda ön ayaklarda medial, arka ayaklarda lateral tırnaklara daha fazla ağırlık binmektedir. Bu nedenle sığırlarda ayak hastalığı genelde ön ayaklarda medial, arka ayaklarda lateral tırnakta meydana gelmektedir (Alkan ve ark., 1993; Keskin ve Durmuş, 2016; Özsoy ve Yücel, 1991; Salcı, 2015; Yavru ve ark., 1992; Yayla ve ark., 2012). Bu çalışmada deforme tırnak ve deforme tırnak yapısı ile birlikte ayak hastalığı şekillenen tırnak sayısı ve ayak hastalıkları toplamı 280'dir. Bunların %6.43 (18 olgu)'ü ön, %93.57 (262 olgu)'si arka ayakta olmak üzere %53.57 (150 olgu)'si lateralde, 35.72 (100 olgu)'i medialde ve 10.71 (30 olgu)'i ise bilateral olarak şekillenmiştir. Bu araştırmanın sonuçları bu konuda daha önce yapılmış araştırmacıların sonuçlarını destekler niteliktedir (Atasoy, 2003; Canpolat ve Bulut, 2003; Özcan ve Pamuk, 2009; Yayla ve ark., 2012; Yurdakul ve Şen, 2018). Bu çalışmada hastalığın arka ayaklarda ve özellikle lateral tırnaklarda görülmesinin sebebi olarak, literatürlerden de bildiğimiz gibi arka ayaklara daha fazla yük binmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışmada Ağrı ilinde sığırlarda görülen ayak hastalıkları prevalansının belirlenerek literatüre kazandırılması amaçlanmıştır. Ayak hastalığı prevalansının %18.84 olarak belirlendiği bu çalışmada ayak lezyonlarının büyük oranda bilinçsiz yetiştiricilikten kaynaklandığı tespit edilmiştir. Bu nedenle, işletmelerde bakım ve barındırma koşullarının iyileştirilmesi, ayak banyolarının kullanılması, düzenli tırnak kesimi ve bakımının yanı sıra koruyucu önlemler ve sağaltım yönünden yetiştiricilerin bilinçlendirilmesinin ayak hastalıkları prevalansının düşürülmesine katkı sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Alkan İ, Boynukara B, Celep M, 1993: Van ve yöresinde sığır ayak hastalıklarının yayılışı, nedenleri ve sağaltımı üzerine bir araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 4(1-2), 87-95.
- Anteplioğlu H, Akın F, 1978: Kliniğimizde sığırlarda rastladığımız topallıklar ve bunların nedenlerine toplu bir bakış. *AÜ Vet Fak Derg*, 25(1), 144-162.
- Atasoy N, 2003: Erzurum yöresinde süt sığırlarında görülen ayak hastalıklarının insidansı ve bunların sağaltımı. *YYÜ Vet Fak Derg*, 14(1), 1-5.

- Baran V, Kamiloğlu A, 1997: Sığırlarda topallığın belirlenmesinde yararlanılan tanı kontrol çizelgeleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 3(2), 247-249.
- Canpolat İ, Bulut S, 2003: Elazığ ve çevresinde sığırlarda görülen ayak hastalıklarının insidansı üzerine gözlemler. *FÜ Sağ Bil Derg*, 17(3), 155-160.
- Canpolat İ, Bulut S, İşler CT, Timurkan S, 2005: Effect of biotin or ethylenediamine dihydriodide supplementation on claw lesions in cattle. *Doğu Anadolu Araştırmaları Dergisi*, 3(2), 56-59.
- Çeçen G, Görgül OS, 2007: Bursa yöresindeki bir işletmede, sağmal süt sığırı sürüsünde karşılaşılan topallıkların değerlendirilmesi. *Veteriner Cerrahi Derg*, 13(1), 5-10.
- Elma E, Kumandaş A, 2015: Sığırlarda tırnak kesimi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 1(1), 73-77.
- Görgül OS, 1988: Sığırlarda tırnak bakımı ve ayak hastalıklarının sebep ve sonuç ilişkileri. Profesörlük Takdim Tezi, *Uludağ Üniv Vet Fak*, Bursa.
- Görgül OS, Kahraman MM, Çeçen G, Akkoç A, Gül NY, Sevimli A, 2002: Sığırlarda digital ve interdigital dermatitis'lerde klinik tanı, sağaltım ve histopatolojik bulgular. *Uludağ Üniv J Fac Vet Med*, 21, 115-124.
- Güzel N, Erden H, 2000: Aydın yöresi sığircılık işletmelerinde ayak hastalıklarının dağılımı. *Veteriner Cerrahi Derg*, 6(3-4), 8-10.
- Han MC, Sağlıyan A, Polat E, 2017: Sığırlarda ahır zemin tiplerinin ayak hastalıkları ve tırnak deformasyonları üzerine etkilerinin araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 6(1), 19-24.
- İstek Ö, Durgun T, 2004: Muş ve yöresindeki sığırlarda görülen ayak hastalıklarının prevalansı üzerine araştırmalar. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 39-47.
- Kamiloğlu A, 2014: Çiftlik Hayvanlarında Ayak Hastalıkları. 1. Baskı., Medipres, Ankara, Türkiye.
- Keskin E, Durmuş AS, 2016: Gaziantep ve yöresinde gözlenen sığır ayak hastalıklarının insidansı ve tedavileri üzerine gözlemler. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 30(3), 181-186.
- Ormancı S, Belge A, 2001: Van ve yöresinde süt sığırlarında ayak hastalıklarının nedenleri, dağılımı ve sağaltımı üzerinde çalışmalar. *YYÜ Sağ Bil Derg*, 7(1-2), 139-145.
- Özcan S, Pamuk K, 2009: Afyonkarahisar ve çevresinde sığır ayak hastalıklarının insidansı. *Kocatepe Vet J*, 2(2), 15-19.
- Özsoy S, Yücel R, 1991: İstanbul ve yöresindeki kültür ırkı sığırlarda ayak hastalıklarının etioloji, patogenezis ve sağaltımları üzerine karşılaştırmalı araştırmalar. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 17(1), 93-108.
- Sağlıyan, A, Ünsaldı, E. 2002: Tunceli ve yöresindeki sığırlarda karşılaşılan ayak hastalıklarının insidansı üzerine gözlemler. *FÜ Sağ Bil Derg*, 16(1), 47-56.
- Salcı H, 2015: Sığırlarda ayak hastalıklarının radyolojik ve biyomekanik ilişkilendirilmesi: 13 olguluk bir ön çalışma. *Uludağ Üniv J Fac Vet Med*, 34(1-2), 89-93.
- Samsar E, Akın F, Güzel N, Koç B, Ersümer C, Yavru N, 1977: Ankara bölgesi süt ineklerinin ekstremitelerinde görülen cerrahik hastalıklar ve bunların hazırlayıcı nedenleri. *Veteriner Hekimliği Dergisi*, 47, 15-24.
- Şındak N, Keskin O, Selçukbiricik H, Sertkaya H, 2003: Şanlıurfa ve yöresinde sığır ayak hastalıklarının prevalansı. *YYÜ Vet Fak Derg*, 14(1), 14-18.
- Ünsaldı E, Durmuş AS, 1999: 1994-1998 yılları arasında kliniğimize gelen sığırlarda gözlenen ayak hastalıkları ve sağaltımları. *FÜ Sağ Bil Derg*, 13, 405-412.
- Yalçın C, Sarıözkan S, Yıldız AŞ, Günlü A, 2010: Burdur, Kırklareli ve Konya İllerindeki süt sığircılığı işletmelerinde ayak hastalıklarından kaynaklanan finansal kayıplar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 57, 99-104.
- Yavru N, Koç Y, Elma E, Erer H, Özkan K, İzci C, Kaya Z, 1992: Konya bölgesinde sığır topallıklarına neden olan ayak hastalıkları üzerine radyolojik ve histopatolojik incelemeler. *SÜ Vet Fak Derg*, 8(1), 3-8.
- Yavru N, İzci C, 1988: Konya bölgesinde sığır topallıklarına neden olan ekstremiteler hastalıklarının sınıflandırılması ve bu hastalıkların tanısında radyolojinin önemi. *Doğa Vet Hay Derg*, 13(3), 283-293.
- Yayla S, Aksoy Ö, Kılıç E, Cihan M, Özyayın İ, Ermutlu ÇŞ, 2012: Kars ve yöresinde sığırların bakım ve barındırma koşulları ile ayak hastalıkları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 1(1), 22-27.
- Yaylak E, 2008: Süt sığırlarında topallık ve topallığın bazı özellikleri. *Hay. Üretim*, 49, 47-56.
- Yurdakul İ, Şen İ, 2018: Sivas ve yöresinde sığır ayak hastalıkları prevalansının belirlenmesi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 7(1), 51-55.
- Yücel R, 1982: İstanbul ve Tekirdağ bölgesindeki sığırlarda görülen ayak hastalıklarının toplu bir değerlendirilmesi. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 1, 47-61.

Yazışma adresi: Selvinaz YAKAN

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Eleşkirt Celal Oruç Hayvansal Üretim Yüksek Okulu, Hayvan Sağlığı Anabilim Dalı, Ağrı-Türkiye.

E-mail: syakan@gmail.com

Buzağılarda Doğum Sırasında ve Sonrasında Şekillenen Kırık Olgularının ve Sağaltım Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

İbrahim YURDAKUL*

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.

Geliş Tarihi: 11.07.2018

Kabul Tarihi: 03.12.2018

Özet: Bu çalışmada; 2016-2018 yılları arasında kliniklerimize kırık şikayeti ile getirilmiş farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki buzağuların doğum sırasında veya sonrasında şekillenen kırık olguları ile bu kırıkların sağaltım yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlandı. Toplam 28 buzağıda kırık tespit edildi. Cinsiyete göre kırık olgularının erkeklerde (%64.29); dişilere (%35.71) oranla daha fazla görüldüğü belirlendi. İrklara göre kırık olgularına en fazla Simental (%53.57) ırk buzağılarda rastlandı. Buzağılarda tespit edilen olguların 16'sının (%57.14) doğum sırasında, 12'sinin (%42.86) ise doğum sonrası düşme, vurma gibi travmalara bağlı olduğu belirlendi. Kırık olguları içerisinde en çok metakarpus kırıklarına (%32.14) rastlandı; bunu metatarsus (%17.86), tibia (%17.86), femur (%10.71), mandibula (%10.71), humerus (%7.14) ve scapula (%3.57) kırıkları izledi. Sağaltım amacıyla konservatif olarak toplam 10 olguya polivinil klorür (PVC) destekli alçılı bandaj, 5 olguya PVC destekli bandaj, operatif olarak 6 olguya intramedüller pin, 3 olguya intramedüller pin ve serklaj uygulaması, 3 olguya akrilik eksternal fiksasyon ve 1 olguya ise sadece serklaj teli kullanılarak fiksasyon uygulandı. Sonuç olarak, hayvan sahiplerinin güç doğum olgularına müdahale etmemeleri, buzağuların doğumdan sonra travmalara maruz kalmamaları için belli bir döneme kadar gereken koruyucu önlemleri almaları, buzağılarda şekillenen kırık olgularına ampirik yöntemlerle müdahale etmemeleri ve en kısa sürede bir veteriner hekime başvurmaları konusunda bilinçlendirilmeleri gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Güç doğum, Kırık, Sağaltım yöntemleri.

Treatment Methods and Evaluation of Fracture Cases Shaped During and After Birth in Calves

Abstract: The aim of this study was to evaluate the fracture cases which occurred peri- or postpartum period on calves with different race, gender and age, presented to the Animal Hospital of Cumhuriyet University Veterinary Faculty between 2016-2018 as well as treatment methods of these cases. In the study 28 calves with extremity fractures were detected. According to the sex, it was determined that the incidence of fractures were higher in males (64.29%); than females (35.71%). According to the races, fracture cases were mostly encountered in Simmental (53.57%). It was determined that 16 (57.14%) of the cases were found to be traumatized during birth and 12 (42.86%) were found to be postpartum. The most common cases were metacarpus fractures (32.14%); followed by fractures of metatarsus (17.86%), tibia (17.86%), femur (10.71%), mandible (10.71%), humerus (7.14%) and scapula (3.57%). As a conservative method, a total of 10 cases were treated with PVC supported plaster bandage, 5 cases with PVC supported bandage, 6 patients were treated operatively with intramedullary pin, 3 patients with intramedullary pin and cerclage, 3 cases acrylic external fixation and 1 case cerclage wire. As a result, it was concluded that animal owners should not intervene in the cases of dystocia, take precautions for a certain age to prevent the trauma of the animals after birth, empirically intervene in the fractures formed in the calves and be aware of the nearest veterinary applications.

Keywords: Calf, Dystocia, Fracture, Treatment.

Giriş

Buzağılarda uzun ekstremitte kırıkları sıklıkla şekillenmektedir (Arıcan ve ark., 2014). En fazla metakarpus ve metatarsus, femur, tibia, radius ve ulna, vertebra ve humerus kırıklarıyla karşılaşılır. Pelvis, kosta, mandibula ve phalanxlarda oluşan kırıklar nadir olarak görülmektedir (Arıcan ve ark., 2014; El-Shafaey ve ark., 2014; Görgül ve ark., 2004; St-Jean ve ark., 1992). Kırıklara neden olan sebeplerin başında özellikle pelvik kanalın dar olması neticesinde güç doğuma yardım amacıyla yapılan bilinçsiz uygulamalar, hayvanın ayakta doğum yapması esnasında yavrunun zemine veya zemindeki kanala uygunsuz düşmesi, buzağının yatış

pozisyonunda iken anne tarafından bacağına basılması, başka bir hayvan tarafından tekmelenmesi ve trafik kazası şeklinde sayılabilir (Belge ve ark., 2016; Ferguson ve ark., 1990; Nuss ve ark., 2011; Tulleners, 1986).

Buzağılarda oluşan kırıkların sağaltımı veteriner ortopedide önemli bir yer tutmaktadır (Durmuş ve ark., 2009). Çiftlik hayvanlarında kırık olgularının tedavisinde hayvanın genetik ve ekonomik değeri, hayvanın ağırlığı, kırık tipi, kırığın lokalizasyonu ve veteriner hekimin deneyimi oldukça önemlidir (El-Shafaey ve ark., 2014). Genellikle, bandaj uygulamaları şekillenen kırık olgularında konservatif

tedavi seçeneğini oluşturmaktadır. Bandaj uygulamaları özellikle diyafizer bölgeyi içeren kapalı ve basit metakarpus ve metatarsus kırıklarında uygulanmaktadır. Ayrıca metakarpus ve metatarsus kırıklarında eksternal fiksasyon yöntemleri de tercih edilmektedir. Kırık fragmentlerinin disloke olduğu, parçalı ve komplike kırıklarda internal fiksasyon yöntemleri (intramedullar pin, serklaj, vida, plak, interlocking pin vb.) kullanılmaktadır (Arıcan ve ark., 2014; Durmuş ve ark., 2009; El-Shafaey ve ark., 2014; Gangli ve ark., 2006; Salcı ve ark., 2016)

Bu çalışmada kliniğimize getirilen buzağlarda belirlenen kırık olgularının ve uygulanan farklı tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Materyal ve Metot

Çalışma materyalini 2016-2018 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Cerrahi ABD Kliniği'ne kırık şikayeti ile getirilmiş farklı yaş, ırk ve cinsiyetteki toplam 28 buzağı oluşturdu. Hasta sahiplerinden anamnez alınarak buzağı hakkındaki diğer bilgiler ile beraber kayıt altına alındı.

Hastalara rutin klinik ve radyolojik muayeneler yapıldı. Hasta sahibinin onayı alınarak elde edilen

klinik ve radyolojik muayene bulgularına göre konservatif sağaltım olarak polivinil klorür (PVC) destekli veya alçılı bandaj, kafes istirahati; operatif olarak ise anestezisi, 0.5-1 ml dozunda Xylazine hydrochloride'in (Rompun, Bayer, 23.32 mg/ml) intramusküler enjeksiyonundan sonra lokal olarak lidokain HCl (Adokain, Sanovel, 20 mg/ml) enjeksiyonu ile sağlanan olgularda intramedüller pin, serklaj teli ve eksternal fiksasyon gibi farklı tedavi yöntemleri uygulandı.

Bulgular

Kırık olguları, yaş, ırk, cinsiyet, kırık saptanan bölge, kırık şekli ve kırık sebebine göre Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 1'e göre araştırma kapsamında incelenen kırık olgularının yaş aralığı 1-30 gün arasında değişim gösterdiği, cinsiyete göre ise 18 buzağının erkek, 10 buzağının dişi olduğu tespit edildi. Çalışmada 28 buzağıda kırık tespit edildi. Cinsiyete göre kırık olgularının dişilere (n=10, %35.71) oranla erkeklerde (n=18, %64.29) daha fazla şekillendiği belirlendi. İrklara göre kırık olgularına en fazla Simental (n=15, %53.57) ırkında rastlandı; bunu Montofon (n=7, %25), melez (n=5, %17.86) ve Jersey (n=1, %3.57) ırkları izledi.

Tablo 1. Kırık olgularının yaş, ırk, cinsiyet, kırık şekillenen kemik, kırık çizgisi, kırığın dış ortamla ilişkisi ve kırık sebebine göre dağılımı.

No	Protokol no	İrk	Cinsiyet	Yaş (gün)	Sağ/Sol	Kırık şekillenen kemik	Kırığın dış ortamla ilişkisi ve Kırık çizgisi	Kırık sebebi
1	80	Simental	E	1	Sol	Tibia	Kapalı Oblik	Doğuma yardım
2	86	Simental	E	4	Sol	Tibia	Kapalı Oblik	Doğuma yardım
3	93	Montofon M.	D	2	Sağ	Tibia	Kapalı Parçalı	Travma
4	95	Montofon	D	4	Sol	Metakarpus	Kapalı Oblik	Travma
5	106	Montofon	E	3	Sol	Metatarsus	Kapalı Oblik	Doğuma yardım
6	133	Montofon	E	10	Sol	Metatarsus	Kapalı Transversal	Travma
7	163	Simental	E	1	Sol	Humerus	Açık Spiral	Doğuma yardım
8	164	Simental M.	D	3	Sağ/Sol	Mandibula	Açık Oblik	Doğuma yardım
9	165	Simental	D	30	Sol	Metakarpus	Açık Transversal	Doğuma yardım
10	170	Jersey	E	3	Sağ	Femur	Kapalı Transversal	Travma
11	171	Simental	E	3	Sağ	Metakarpus	Kapalı Oblik	Doğuma yardım
12	172	Simental	D	2	Sağ/Sol	Mandibula	Açık Oblik	Doğuma yardım
13	178	Simental	E	22	Sağ	Humerus	Açık Oblik	Travma
14	196	Simental	E	3	Sağ	Metakarpus	Kapalı Transversal	Doğuma yardım
15	200	Simental	D	4	Sağ	Metatarsus	Kapalı Oblik	Travma
16	206	Simental	D	1	Sol	Metakarpus	Kapalı Transversal	Doğuma yardım
17	217	Simental	E	1	Sol	Metatarsus	Açık Parçalı	Travma
18	222	Montofon M.	E	4	Sağ	Tibia	Açık Transversal	Travma
19	226	Montofon	E	10	Sağ	Metatarsus	Açık Transversal	Travma
20	232	Simental	E	15	Sol	Metakarpus	Açık Transversal	Doğuma yardım
21	241	Montofon	E	6	Sağ	Femur	Kapalı Parçalı	Doğuma yardım
22	249	Montofon M.	D	3	Sol	Femur	Kapalı Transversal	Travma
23	272	Montofon	E	1	Sağ/Sol	Metakarpus	Kapalı Transversal	Doğuma yardım
24	280	Montofon	E	1	Sağ	Metakarpus	Kapalı Oblik	Doğuma yardım
25	292	Simental	E	5	Sol	Skapula	Kapalı Oblik	Travma
26	294	Simental	D	25	Sağ	Tibia	Açık Oblik	Doğuma yardım
27	304	Montofon M.	E	1	Sağ/Sol	Mandibula	Açık Oblik	Doğuma yardım
28	312	Simental	D	1	Sol	Metakarpus	Kapalı Transversal	Travma

Kırık olgularının oluşum sebeplerine bakıldığında; 16 buzağıda (%57.14) doğum sırasında doğuma yardım etmek amacı ile yapılan bilinçsiz uygulamalar, 12 olguda (%42.86) ise doğum sonrası travma sonucu olduğu belirlendi. Kırık olgularının 12'si ön ekstremitede (%42.86), 13'ü arka ekstremitede (%46.43) ve 3'ü ise mandibulada (%10.71) görüldü.

Tespit edilen kırık olguları içerisinde en çok metakarpus kırıklarına (n=9, %32.14) rastlandı; bunu metatarsus (n=5, %17.86), tibia (n=5, %17.86), femur (n=3, %10.71), mandibula (n=3, %10.71), humerus (n=2, %7.14) ve skapula (n=1, %3.57) kırıkları izledi. Kırık olgularının 3'ü bilateral

mandibula (Şekil 1a), 1'i bilateral metakarpus kırığı iken 24'ü unilateraldi.

Kırık olgularının lokalizasyonu ve uygulanan sağaltım yöntemleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Şekillenen kırık olguları; lokalizasyonuna göre 18 olguda diyafiz kırığı (%64.29), 3 olguda (%10.71) metafiz kırığı, 3 olguda korpus mandibula kırığı (%10.71), 2 olguda epifiz kırığı (%7.14), 1 olguda subtrochanter (%3.57) ve 1 olguda ise supraglenoidal (%3.57) kırık olarak saptandı (Tablo 2). Kırık olguları kırık çizgisinin seyrine göre incelendiğinde 13 olguda oblik (%46.43) (Şekil 2a), 11 olguda transversal (%39.29), 3 olguda parçalanmış (%10.71) ve 1 olguda (%3.57) ise spiral kırık olarak tespit edildi.

Tablo 2. Kırık olgularının lokalizasyonu ve kırık olgularına uygulanan sağaltım yöntemleri.

No	Hasta kayıt protokol no	Kırık şekillenen kemik	Kırık lokalizasyonu	Uygulanan tedavi
1	80	Tibia	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
2	86	Tibia	Diyafiz	Intramedüller pin
3	93	Tibia	Metafiz	Intramedüller pin
4	95	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
5	106	Metatarsus	Diyafiz	Intramedüller pin
6	133	Metatarsus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
7	163	Humerus	Diyafiz	Intramedüller pin, Serklaj
8	164	Mandibula	Corpus	Akrilik eksternal fiksasyon
9	165	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli bandaj
10	170	Femur	Diyafiz	Intramedüller pin
11	171	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
12	172	Mandibula	Corpus	Akrilik eksternal fiksasyon
13	178	Humerus	Diyafiz	Intramedüller pin
14	196	Metakarpus	Metafiz	PVC destekli alçılı bandaj
15	200	Metatarsus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
16	206	Metakarpus	Epifiz	PVC destekli alçılı bandaj
17	217	Metatarsus	Diyafiz	Intramedüller pin, Serklaj
18	222	Tibia	Diyafiz	PVC destekli bandaj
19	226	Metatarsus	Diyafiz	PVC destekli bandaj
20	232	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli bandaj
21	241	Femur	Subtrochanter	Intramedüller pin, Serklaj
22	249	Femur	Metafiz	Intramedüller pin
23	272	Metakarpus	Epifiz	PVC destekli alçılı bandaj
24	280	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj
25	292	Skapula	Supraglenoidal	Serklaj
26	294	Tibia	Diyafiz	PVC destekli bandaj
27	304	Mandibula	Corpus	Akrilik eksternal fiksasyon
28	312	Metakarpus	Diyafiz	PVC destekli alçılı bandaj

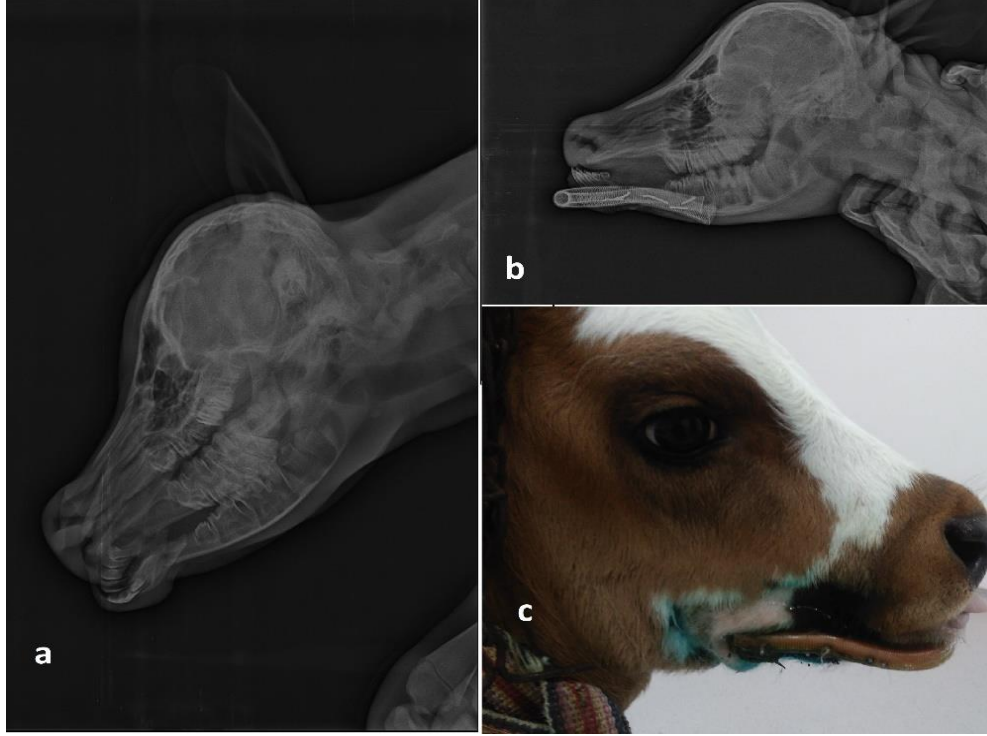
Sağaltımda konservatif yöntem olarak toplam 10 olguya PVC destekli alçılı bandaj (Şekil 2b), 5 olguya PVC destekli bandaj, operatif olarak 6 olguya intramedüller pin, 3 olguya intramedüller pin ve serklaj, 3 olguya akrilik eksternal fiksasyon (Şekil 1b) ve 1 olguya serklaj teli uygulandı. PVC destekli alçılı bandaj ile kapalı redüksiyonu gerçekleştirilen 10 olgu metakarpus (n=7), metatarsus (n=2) ve tibia (n=1); PVC destekli bandaj uygulanan 5 olgu ise metakarpus (n=2), metatarsus (n=1) ve tibia (n=2) kırığı olarak belirlendi (Tablo 2). Elde edilen radyolojik muayene bulgularına göre PVC destekli alçılı bandaj uygulanan olguların 9'unda iyileşme

(Şekil 2c) sağlandı. Bilateral kapalı metakarpal kırık şekillenen sadece 1 olguda (Olgu no=23) hasta sahibinin kötü bakım ve idaresi sonucu 1 ay sonraki kontrolde açık kırık şekillendiği, kırık bölgesinin PVC atel destekli alçılı bandaja rağmen dışkı ile bulaşık olduğu ve yapılan tüm tedavilere rağmen ölüm şekillendiği belirlendi.

Operatif kırık sağaltımı uygulanan 13 olgudan 10'unda tam bir iyileşme görülürken (Şekil 1c), intramedüller pin uygulanan parçalı kapalı tibia kırığına sahip 1 olguda (Olgu no=3) ve spiral açık humerus kırığına sahip 1 olguda (Olgu no=7) postoperatif 1. günde nedeni bilinmeyen ölüm

gözlendi. Doğumdan 15 gün sonra travmaya bağlı olarak kırık şekillenen ve şekillendikten 7 gün sonra hasta sahibi tarafından ampirik yöntemlerle bandaja alınmış olarak kliniğe getirilen oblik açık humerus

kırığına sahip 1 olgunun (Olgu no=13) ise postoperatif 15. günde yara hattındaki enfeksiyona bağlı olarak öldüğü hayvan sahibinden öğrenildi.



Şekil 1. Bir olguda bilateral mandibula kırığı (a) ve akrilik eksternal fiksasyon ile tedavisi (b). Postoperatif 30. gün görünümü (c) (Olgu no=12).



Şekil 2. Bir olguda oblik diyafizer metakarpal kırığı (a) ve PVC destekli alçılı bandaj ile tedavisi (b). Postoperatif 60. gün görünümü (c) (Olgu no=24).

Tartışma ve Sonuç

Yeni doğan buzağlarda kırık olguları çoğunlukla suni tohumlama ile ilk kez gebe kalan ineğin yaşı, besi durumu, pelvik kanalının dar olması, doğacak olan buzağının büyüklüğü ve erkek olması, doğacak olan buzağının uterustaki doğum pozisyonu gibi sebeplere bağlı olan güç doğum esnasında şekillenmektedir (Kalkan ve ark., 1993; Kırşan ve ark., 1999). Kırık oluşumundaki en önemli nedenlerden biri de güç doğum esnasında hayvan sahiplerinin yaptıkları bilinçsiz müdahalelerdir.

Doğacak olan yavrunun erkek olması bir güç doğum riskidir (Kalkan ve ark., 1993). Güç doğum esnasında şekillenen kırık olgularına erkek buzağlar dişilere oranla daha yatkındır (Aksoy ve ark., 2009). Bu çalışmada da; kırık olgularının erkek buzağlarda (%64.29) dişi buzağlara (%35.71) oranla daha fazla görülmesi; güç doğuma bağlı şekillenen ekstremite kırıklarının oluşmasında cinsiyetin etkili olduğunu destekler niteliktedir. Irklara göre bakıldığında ise kırık olgularının en fazla Simental ırkı buzağlarda (%53.57) görülmesi; bu buzağların vücut yapısının çalışmadaki diğer ırk buzağların vücut yapısından daha iri olması ile açıklanabilir.

Yeni doğan buzağlarda gözlenen kırık olgularının büyük çoğunluğunu doğum sırasında, özellikle güç doğum olgularında doğuma yardım amacıyla uygulanan aşırı çekme işlemi veya yanlış müdahaleler sonucu şekillenen kırıklar oluşturmaktadır (Arıcan ve ark., 2014; Ferguson, 1994; Kostlin ve ark., 1990; Öztaş ve Avki, 2015). Bu çalışmada kırık olgularının 16'sının (%57.14) doğum esnasında, 12'sinin (%42.86) ise doğumdan sonra çeşitli travmatik sebeplere bağlı olarak oluştuğunun belirlenmesi literatür (Arıcan ve ark., 2014; Ferguson, 1994; Kostlin ve ark., 1990) bilgiyi desteklemektedir.

Buzağlarda karşılaşılan kırıklar en fazla metakarpus ve metatarsus (%50), femur (%14), tibia (%12), radius-ulna (%7), ve humerus (%5) kırıklarıdır (Görgül ve ark. 2004). Arıcan ve ark. (2014) kırık olgularının %60.6'sının; Görgül ve ark. (2004) olguların %67.7'sinin; Kostlin ve ark. (1990) %26.3'ünün metakarpusta rastlandığını bildirmişlerdir. Çalışmada kırık olgularının %32.14 oranla en çok metakarpusta şekillendiğinin görülmesi ilgili araştırmacıların verileri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Uzun ekstremiteelerde şekillenen kırık olgularının daha çok diyafiz bölgesinde tespit edildiği belirtilmektedir (Fubini ve Ducharme, 2004). Yapılan bu çalışmada da; %64.29 oranında diyafiz kırığı saptanması bu bilgiyi desteklemektedir.

Buzağlarda şekillenen kırık olgularının sağaltımı konservatif ve operatif olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır (Belge ve ark., 2016).

Konservatif sağaltımda en sık kullanılan yöntem bandaj uygulamasıdır. Bunlar atelli (PVC, alüminyum, tahta), alçılı ve termoplastik bandajlardır (Arıcan ve ark., 2014; Görgül ve ark., 2004; Martens ve ark., 1998). Kırıkların operatif sağaltımında ise internal (intramedüller pin, serklaj, vida, plak, interlocking pin) ve eksternal fiksasyon yöntemlerinden faydalanılır (Arıcan ve ark., 2014; Belge ve ark., 2016; Durmuş ve ark., 2009; Salcı ve ark., 2016; St-Jean ve Debowes, 1991). Konservatif sağaltım amacıyla 10 olguya PVC destekli alçılı bandaj ve 5 olguya PVC destekli bandaj uygulandı. Konservatif sağaltım uygulanan toplam 15 olgudan 1'inde (Olgu no=23) ölüm şekillendi. Operatif olarak 6 olguya intramedüller pin, 3 olguya intramedüller pin ve serklaj, 3 olguya akrilik eksternal fiksasyon ve 1 olguya serklaj teli uygulandı. Operatif sağaltım uygulanan 13 olgunun 3'ünde (Olgu no=3, 7, 13) ölüm şekillendi.

Yapılan bu çalışmada; buzağlarda şekillenen kırık olgularının büyük çoğunluğunu (%57.14) güç doğum olgularına veteriner hekim yerine hayvan sahiplerinin kendileri tarafından uygulanan yanlış müdahaleler sonucu şekillenen kırıklar oluşturdu. Travmaya bağlı şekillenen kırık olgularının (%42.86) ise yine hayvan sahiplerinin yeni doğmuş buzağlar için gerekli önlemleri almamaları neticesinde şekillendiği anlaşılmıştır.

Sonuç olarak hayvan sahiplerinin güç doğum olgularına müdahalede bulunmamaları, buzağların doğumdan sonra travmalara maruz kalmamaları için belli bir döneme kadar gereken önlemleri almaları, buzağlarda şekillenen kırık olgularına ampirik yöntemlerle müdahale etmemeleri ve en kısa sürede bir veteriner hekime başvurmaları konusunda bilinçlendirilmeleri gerektiği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Aksoy Ö, Özaydın İ, Kılıç E, Savaş Ö, Güngör E, Başak K, Hasan O, 2009: Evaluation of fractures in calves due to forced extraction during dystocia: 27 cases (2003-2008). *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 15, 339-344.
- Arıcan M, Erol H, Esin E, Parlak K, 2014: A retrospective study of fractures in neonatal calves: 181 cases (2002-2012). *Pak Vet J*, 34, 247-250.
- Belge A, Akın İ, Gülaydın A, Yazıcı MF, 2016: The treatment of distal metacarpus fracture with locking compression plate in calves. *Turk J Vet Anim Sci*, 40, 234-242.
- Durmuş AS, Karabulut E, Sağlıyan A, 2009: Yenidoğan bir buzağda suprakondiler femur kırığı olgusu ve operatif sağaltımı. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 23, 119-122.
- El-Shafaey EA, Aoki T, Ishii M, Yamada K, 2014: Conservative management with external coaptation technique for treatment of a severely comminuted fracture of the proximal phalanx in a Holstein-

- Friesian cow. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15, 300-303.
- Ferguson JG, 1994: Femoral fractures in the new born calf, biomechanics and ethiological considerations of practitioners. *Can Vet J*, 35, 626-630.
- Ferguson JG, Dehghani S, Petrali EH, 1990: Fractures of the femur in new born calves. *Can Vet J*, 31, 289-291.
- Fubini S, Ducharme NG, 2004: Farm animal surgery. St. Louis, pp. 288-323.
- Gangl M, Grulke S, Serteyn D, Touati K, 2006: Retrospective study of 99 cases of bone fractures in cattle treated by external coaptation or confinement. *Veterinary Record*, 158, 264-268.
- Görgül, OS, Seyrek-İntaş D, Çelimli N, Çeçen G, Salcı H, Akın İ, 2004: Buzağılarda kırık olgularının değerlendirilmesi: 31 olgu (1996-2003). *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10, 16-20.
- Kalkan C, Deveci H, Apaydın AM, Öcal H, Timurkan H, Çetin H, Kaygusuzoğlu E, 1993: Elazığ ve çevresinde 1985-1992 yılları arasında ineklerde görülen güç doğumların sebepleri, tedavisi ve alınan sonuçlar üzerine çalışma. *SÜ Vet Derg*, 9, 53-56.
- Kırşan İ, Şenünver A, Çolak A, Gürbulak K, 1999: Sığırlarda güç doğuma müdahalenin Denaverinhydrochlorid ile kolaylaştırılması. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 5, 47-53.
- Kostlin RG, Nuss K, Elma E, 1990: Metacarpal and metatarsal fractures in cattle. Treatment and results. *Tierarztl Praxis*, 18, 131-144.
- Martens A, Steenhaut, M Gasthuys, F, De Cupere C, De Moor A, Verschooten F, 1998: Conservative and surgical treatment of tibial fractures in cattle. *Vet Rec*, 143, 12-16.
- Nuss K, Spiess A, Feist M, Köstlin R, 2011: Treatment of long bone fractures in 125 newborn calves: A retrospective study. *Tierarztl Praxis*, 39, 15-26.
- Öztaş E, Avki S, 2015: Evaluation of acrylic pin external fixation (APEF) system in metacarpal fractures of newborn calves: cheap but effective? *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 21, 433-436.
- Salcı H, Canatan U, Çetin M, 2016: Bir buzağıda Salter-Harris Tip I metacarpus kırığının açılı kama plağı ile sağaltımı. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 35, 57-60.
- St-Jean G, DeBowes RM, 1992: Transfixation pinning and casting of radial-ulnar fractures in calves: A review of three cases. *Can Vet J*, 33, 257-262.
- St-Jean G, DeBowes RM, 1991: Transfixation pinning and casting of tibial fractures in calves: Five cases (1985-1989). *J Am Vet Med Assoc*, 198, 139-143.
- Tulleners EP, 1986: Metacarpal and metatarsal fractures in dairy cattle: 33 cases (1979-1985). *J Am Vet Med Assoc*, 189, 463-468.

*Yazışma adresi: İbrahim YURDAKUL

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye.

E-mail: ibrahimyurdaku5858@hotmail.com

Broiler Piliçlerde A Vitamin Yokluğunda Patolojik Bulgular

Aydın ÇEVİK

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

Geliş Tarihi: 02.10.2018

Kabul Tarihi: 03.12.2018

Özet: Bu çalışmada rasyonlardaki A vitamini (vit. A) yokluğuna ilgili olarak, broiler piliçlerde şekillenen makroskobik ve mikroskobik lezyonlar incelendi. Bu amaçla 20 kontrol, 20 deneme olmak üzere toplam 40 adet bir günlük broiler civciv kullanıldı. Kontrol grubuna uygun 15.000 IU/kg vit. A içeren rasyon verilirken, deneme grubuna vit. A içermeyen aynı rasyon verildi. Deneme süresinin sonunda, vit. A içermeyen rasyonla beslenen piliçlerde klinik olarak gelişim geriliği, zayıflık ve halsizlik görüldü. Makroskobik olarak üst solunum ve sindirim kanalı mukozasının renginde matlaşma, bursa Fabricius'ta (b. Fabricius) büyüme, mukoza üzerinde beyazımsı yapışkan bir materyalin bulunduğu gözlemlendi. Mikroskobik olarak üst solunum yolları ve sindirim kanalı mukoza epitelinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, müköz bezlerde metaplazi ve keratinizasyon tespit edildi. Bursa Fabricius'ta interfoliküler ödem ve metaplazi gözlemlendi. Sonuç olarak; vit. A yetersizliğinin civcivlerde solunum, sindirim ve b. Fabricius'ta metaplaziye neden olduğu ve bu bulguların teşhiste yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Broiler piliç, Patolojik bulgular, Vitamin A.

Pathological Findings in Broiler Chicks with Vitamin A Deficiency

Abstract: In this study, macroscopic and microscopic lesions developed as a result of vitamin A deficiency in broiler chicks were examined. For this purpose, a total of 40 broiler chicks (one day-old) were used as control (n=20) and test (n=20) groups. The chicks in the control group were fed with a ration containing 15.000 IU/kg vitamin A, while the animals in the test group received the same ration without vitamin A. At the end of the experimental period, growth retardation and weakness were observed in the test chicks. Macroscopically, enlargement of the b. Fabricius, darkness in the mucosa of the upper respiratory and gastrointestinal systems and a sticky, whitish material on the surface of the mucosa was observed. Microscopically, epithelial degeneration, necrosis and desquamation in the mucosa of upper respiratory and gastrointestinal systems, keratinization in the mucous glandular epithelia and metaplasia in the mucous glands were determined. Interfollicular edema and metaplasia were observed in the b. Fabricius. As a result; Vitamin A deficiency causes metaplastic changes in the respiratory, digestive system and b. Fabricius, and these findings will be useful in diagnosis of Vitamin A deficiency in chicks.

Keywords: Broiler chick, Pathological findings, Vitamin A.

Giriş

A vitamini büyümeyi sağlayan mukozaların bütünlüğünü ve gelişimini muhafaza eden bir vitamindir. Vit. A'nın bu işlevleri nasıl yerine getirdiği konusundaki bilgiler oldukça sınırlıdır. Hücrelerin vit. A'yı bağlayan özel proteinlere sahip olduğu, bu vitamin kompleksinin nukleusa taşındığı, translasyonu modifiye ettiği ve diferensiyasyonu sağladığı bildirilmektedir (Biester ve Schwerde, 1965; Zwart ve ark., 1979). Ayrıca, hücre membranı ve organel membranlarının bütünlüğü vit. A sayesinde korunmaktadır (Biester ve Schwerde, 1965; Zwart ve ark., 1979). Vit. A içermeyen diyetle beslenen civcivlerde, eğer anaçlar vit. A'dan fakir bir rasyonla beslenmiş ise semptomlar ilk haftadan itibaren görülmeye başlar. Ancak anaçlar normal diyetle beslenmiş ise, 6-7. haftadan itibaren semptomlar şekillenir. Büyümede gerileme, güçsüzlük, tüylerde kabarma, ataksi ve görme bozukluğu bildirilen diğer semptomlardır (Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve Thompson, 1967a;

Howell ve ark., 1969; Mayor, 1968; McCance, 1960). Vit. A'dan yoksun rasyonla beslenen ergin tavuklarda, 6. günden itibaren klinik bulguların gözlemlendiği, palpebra tertia'nın yarım olarak kapandığı, yürümede bozukluk ve denge kaybı gibi klinik bulgular tesbit edilirken, bu bozuklukların 9-10. günden itibaren daha şiddetli klinik bulgulara dönüştüğü, 16-17. günden itibaren ölümlerin şekillendiği, bazı olaylarda ise bu sürenin 2-5 aya kadar uzandığı bildirilmiştir. Bunlara ilaveten yumurta veriminde düşme, kilo kaybı, tüylerde kabarıklık, görme bozukluğu ve körlük, ataksi, embriyo oranında düşme, anormal embriyoların çıkması, gibi belirtiler de görülmüştür (Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve ark., 1969; Howell ve Thompson, 1967a; Howell ve Thompson, 1967b; Mohan ve ark., 1978). Makroskobik lezyonların üst solunum ve sindirim yollarında lokalize olduğu, beyaz küçük püstül benzeri odaklarla bezendiği, ilave olarak iç organlarda ürikozis, merkezi sinir

sisteminde ve kemik dokuda değişikliklerin olduğu; nadiren de b. Fabricius'ta foliaların büzüştüğü ve sarı kazeöz bir materyal ile dolduğu bildirilmiştir (Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve Thompson, 1967a; Howell ve ark., 1969; Riddell, 1987). Mikroskopik olarak ise, üst solunum ve sindirim yolları mukozalarında atrofi, keratinizasyon, dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon ile müköz bez epitellerinde ve b. Fabricius'ta metaplazinin şekillendiği bildirilmiştir (Aruo, 1978; Mayor, 1968; Riddell, 1987; Zwart ve ark., 1979).

Bu çalışma, vit. A'dan yoksun bir rasyon ile beslenen broiler piliçlerde klinik, makroskopik ve mikroskopik değişiklikleri araştırmak amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Materyal olarak 40 adet bir günlük broiler civciv kullanıldı. Kontrol ve deneme grubu olarak 20'şerli iki gruba ayrılan civcivlere ad libitum su ve yem verildi. Kontrol grubuna 15.000 IU/kg vit. A ihtiva eden standart broiler yemi verilirken deneme grubuna vit. A içermeyen aynı rasyon verildi. Deneme 50 gün devam etti. Deneme süresinin sonunda kesilen piliçlerin sistemik nekropsileri yapılarak özofagus, trakea, burun, mide, ince ve kalın barsaklar, b. Fabricius, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, göz, dil, dalak, timus gibi organlardan histopatolojik muayene için doku örnekleri alınarak %10'luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Rutin olarak hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eozin ve Ayoub-Shklar metodu boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Luna, 1968).

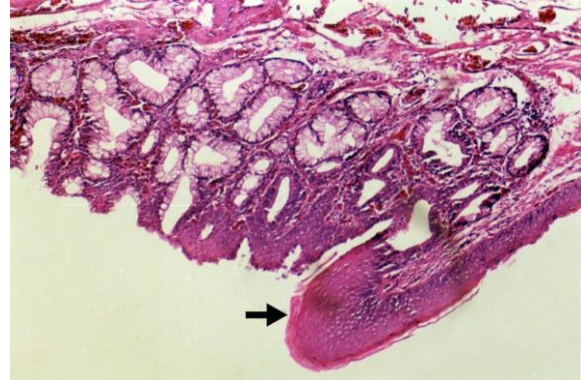
Bulgular

Klinik olarak, ilk haftadan itibaren deneme grubu civcivlerde; gelişim geriliği, zayıflık, halsizlik ve tüylerde kabarıklık görüldü.

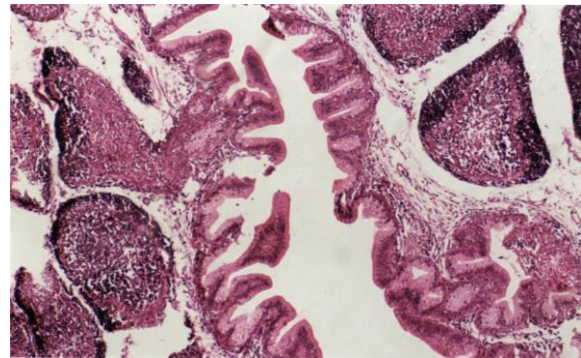
Bu bulguların 5 ve 6. haftaya doğru daha da şiddetlendiği gözlemlendi. Makroskopik olarak, üst solunum ve sindirim yolları mukozasının normal parlak görünümünü kaybederek, matlaştığı, beyazımsı odakların şekillendiği, karaciğerin hafif büyüdüğü ve soluk bir renk aldığı, b. Fabricius'un büyüdüğü, mukoza üzerinde beyazımsı yapışkan bir eksudatın bulunduğu tespit edildi. Mikroskopik olarak, üst solunum ve sindirim sistemi mukozasında, lamina epitelyaliste dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, yer yer keratinizasyon, müköz bez epitellerinde nekroz ve bunlara ilave olarak skuamöz metaplazi odakları da gözlemlendi (Şekil 1, 2).



Şekil 1. Özofagus bezlerinde dilatasyon ve metaplazi (oklar), HE X20.



Şekil 2. Burun mukozasında keratinizasyon, submukozal hemoraji, epiteliyal metaplazi (ok), HE X20.



Şekil 3. b. Fabricius'ta kolumnar epitelde metaplazi, HE X10.

Muskuler mide müköz bezlerinde dilatasyon ve bez epitellerinde deskuamasyon, skuamöz metaplazi, barsak bezlerinin kript lumeninde nekrotik doku artıklarını içeren eozinofilik kitleler dikkati çekti. Karaciğerde hepatositlerde diffuz hidropik dejenerasyon, b. Fabricius'ta yer yer interfoliküler ödem, kolumnar epitelin metaplazisi gözlemlendi (Şekil 3). Metaplazi ve keratinizasyonun lokalizasyonu ve görülme sıklığı Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubu civcivlerde klinik, makroskopik ve mikroskopik bir değişim saptanmadı.

Tablo 1. A vitamini bulunmayan rasyonla beslenen grupta metaplazi ve keratinizasyonun dokulara göre görülme sıklığı.

Lokalizasyon yeri	Skuamoz metaplazi	Keratinizasyon
b. Fabricius	18/20	-
Özofagus bezleri	8/20	4/20
Burun mukozası	10/20	6/20

Tartışma ve Sonuç

Vitamin A genç hayvanlarda büyümeyi sağlayan, mukozaların gelişimi ve bütünlüğünü koruyan önemli bir vitamindir. Eksikliğinde başta sindirim sistemi mukozası olmak üzere solunum sistemi ve ürogenital sistem mukozalarında bez ve yüzey epitellerde dejenerasyon, nekroz, atrofi, metaplazi ve keratinizasyon ile karakterize değişimler şekillenmektedir (Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve ark., 1969; Riddel, 1987; Zwart ve ark., 1979). Çeşitli araştırmalarda civcivlerde klinik olarak zayıflık, tüylerde kabarıklık, inkoordinasyon, güçsüzlük gibi klinik semptomlar tespit edildiği ve 16-17. günlerde ölümlerin şekillendiği bazı araştırmalarda da ölümlerin meydana gelmediği bildirilmiştir (Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve Thompson, 1967a; Uche, 1986; Zwart ve ark., 1979). Deneme süresi uzun tutulan araştırmalarda bildirilen sinirsel semptomlar ve ölüm (Biester ve Schwerde, 1965; Zwart ve ark., 1979) bu çalışmada gözlenmemiştir. Bu durum, deney süresinin kısalığı ve civcivlerin temin edildiği işletmelerde anaçların vit. A'dan zengin rasyonlarla beslendiğine yorumlanabilir.

Araştırmaların büyük bir bölümünde makroskobik ve mikroskobik lezyonların üstsolunum ve sindirim sistemi mukozasında lokalize olduğu bu lezyonların, epitelde dejenerasyon, nekroz, deskuamasyon ve metaplazi ile karakterize olduğu bildirilmiştir (Aruo, 1978; Biester ve Schwerde, 1965; Howell ve Thompson, 1967a; Howell ve ark., 1969; Mayor, 1968; Mohan, 1960; Riddell, 1987; Zwart ve ark., 1979). Daha sınırlı değişikliklerin b. Fabricius'ta şekillendiği birkaç çalışmada açıklanmıştır. Bu çalışmada, skuamoz metaplazi b. Fabricius'ta %90, özofagusda %40 ve burun mukozasında %50; keratinizasyon ise; özofagusda %20 ve burun mukozasında %30 oranında gözlenmiştir. Bu durumda skuamoz metaplazinin en fazla b. Fabricius'ta daha az olarak da burun ve özofagusda şekillendiği, keratinizasyonun ise; daha fazla burun mukozasında, az olarak da özofagus mukozasında şekillendiği, b. Fabricius'ta hiç şekillenmediği gözlemlendi. Erginlerde, yumurta tavuklarında A vitamini yetersizliğine bağlı olarak ürokozisin şekillendiği bildirilmiştir (Biester

ve Schwerde, 1965; McCance, 1960; Uche, 1986; Zwart ve ark., 1979). Ürokozisin görülmemiş olması, çalışmanın kısa süreli olması ve anaçların vit. A'dan zengin rasyonlarla beslenmiş olması ile açıklanabilir. Makroskobik ve mikroskobik bulgular, literatür bulgularına benzerlik göstermekle birlikte b. Fabricius'taki metaplazi literatür bilgilerine oranla daha yüksek oranda bulunmuştur.

Sonuç olarak; vit. A'dan yoksun bir diyetle beslenen civcivlerde üst solunum ve sindirim sistemindeki lezyonlarla birlikte, b. Fabricius'ta %90 metaplazi saptanması A avitaminosisin histopatolojik tanısında oldukça önemli bir bulgu olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymuştur.

Kaynaklar

- Aruo SK, 1978: Observations on avitaminosis A in chickens in Uganda. *Bull of Animal Health and Production in Africa*, 26, 258-262.
- Biester HE, Schwarte LH, 1965: Diseases of Poultry. 1st ed., The Iowa State University Press. Ames-Iowa, USA.
- Howell JMC, Pitt GAJ, Thompson JN, 1969: The development of lesions in vitamin A-deficient adult fowl. *Br J Exp Pathol*, 50, 181-186.
- Howell JMC, Thompson JN, 1967a: Lesions associated with the development of ataxia in vitamin A-deficient chicks. *B J Nutr*, 21, 741-750.
- Howell JMC, Thompson JN, 1967b: Observations on the lesions in vitamin A deficient adult fowl with particular reference to changes in bone and central nervous system. *British J of Exp Pathol*, 48, 450-454.
- Luna LG, 1968: Manual of Histologic Staining Methods of The Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed., Mc Graw - Hill Book Company, New York, USA.
- Mayor OY, 1968: Histopathological aids to the diagnosis of certain poultry disease. *Vet Bulletin*, 38, 273-285.
- McCance RA, 1960: Severe undernutrition in growing and adult animals: 1. Production and general effects. *Br J Nutr*, 14, 59-73.
- Mohan K, Ahuja SD, Agarwa SK, Mohapatra SC, 1978: Incidence and pattern of chick mortality in four White Leghorn strains. *Ind Vet J*, 55, 976-981.
- Riddell C, 1987: Avian Histopathology. 1st ed., American Association of Avian Pathologists. Allen Press Inc., Lawrence, Kansas, USA.
- Uche UE, 1986: Concurrent outbreak of avitaminosis A and coccidiosis in a poultry flock. *Bull of Animal Health and Production in Africa*, 34, 3-7.
- Zwart P, Schreurs WHP, Dorrestein GM, 1979: Vitamin A deficiency in parrots. *Erkrankungen der Zootiere. Verhandlungsbericht des XXI. Internationalen symposiums über die Erkrankungen der Zootiere*, Mulhouse, pp. 41-52.

Yazışma Adresi: Aydın ÇEVİK

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

E-mail: acevik@firat.edu.tr

Pathomorphologic Characteristics of Non-Neoplastic Lesions in Bovine Urinary Bladders

Hikmet KELES¹, Mehmet Fatih BOZKURT¹, Zafer OZYILDIZ², Mehmet Eray ALCIGIR³

¹Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey.

²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey.

³Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kirikkale University, Kirikkale, Turkey.

Geliş Tarihi: 18.10.2018

Kabul Tarihi: 03.12.2018

Abstract: Non-neoplastic epithelial and stromal changes might be prognostic in early phase of premalignant neoplastic developments of urinary bladder. In this regard, diagnosis and histological classification of these lesions give valuable knowledge for prevention and treatment in both human and veterinary medicine. In Turkey, bovine urinary bladder lesions have been encountered in great ratio even though the small numbers of cases have been observed in other animals. According to our great experiences and field-studies for years concentrating on the topic, inflammatory and neoplastic of pathologies in urinary bladders might be easily developed after long term Bracken fern-consuming cattle. In current study, non-neoplastic cases including mainly epithelial, stromal, vascular, and inflammatory characteristic lesions were identified and described separately. Degenerative, desquamative, cystic, hyperplastic, and metaplastic lesions were found prominently in urinary bladder epithelium. Consecutive lesions comprised stromal changes and vascular lesions characterized with circulatory problems. Accompanying those, remarkable mononuclear cell infiltrations were found in a lot of cases. In conclusion, such kind of non-neoplastic lesions at least should be considered as important as neoplastic lesions because the lesions can have a risk in course of premalignant neoplastic transformation.

Keywords: Cow, Histopathology, Non-neoplastic changes, Urinary bladder.

Sığır İdrar Keselerindeki Non-neoplastik Lezyonların Patomorfolojik Özellikleri

Özet: Non-neoplastik epitelyal ve stromal değişiklikler, idrar kesesinin premalign neoplastik gelişimlerinin erken evresinde prognostik olabilir. Bu lezyonların tanısı ve histolojik sınıflandırması, hem insan hem de veteriner hekimlikte önleme ve tedavi için değerli bilgiler vermektedir. Türkiye’de, diğer hayvanlarda az sayıda olgu görülmesine rağmen sığır idrar kesesi lezyonlarına yüksek oranlarda rastlanmaktadır. Yıllara dayalı yeterli deneyimlerimiz ve saha çalışmalarımıza göre, uzun vadede eğrelti otu tüketen büyükbaş hayvanların idrar keselerinde yangısal ve neoplastik patolojiler kolaylıkla gelişebilir. Bu çalışmada, başlıca epitelyal, stromal, damarsal ve yangısal karakterli lezyonları içeren non-neoplastik olgular tanımlanmış ve ayrı ayrı açıklanmıştır. İdrar kesesi epitelinde dejeneratif, deskuamatif, kistik, hiperplastik ve metaplastik lezyonlar belirgin olarak bulundu. Ardışık lezyonlar stromal değişiklikler ve dolaşım problemleri ile karakterize damarsal lezyonları da içeriyordu. Bunlara eşlik eden, dikkate değer mononükleer hücre infiltrasyonları çok sayıda vakada bulundu. Sonuç olarak, bu tür non-neoplastik lezyonların en azından neoplastik lezyonlar kadar önemli olduğu düşünülmelidir, çünkü lezyonlar premalign neoplastik transformasyon sırasında bir risk oluşturabilir.

Anahtar Kelimeler: Sığır, Histopatoloji, Non-neoplastik değişiklikler, İdrar kesesi.

Introduction

Many different tumor-like but non-neoplastic lesions of the urinary bladder are among the most misdiagnosed cases in human medicine (Wong-You-Cheong et al., 2006; Young, 2009). As in human cases, those focal or diffusely developed lesions in urinary bladder have mimicked the malignancy in also animals (Aydin and Ozkul, 1995; Peixoto et al., 2003). Similar to humans, focal or diffuse wall thickening can develop in too many non-neoplastic pathologic conditions in the bladder in case of bracken fern toxicity (Carvalho et al., 2006; Roperto et al., 2010). Both human (Wiener et al., 1979; Young, 2009) and animals (Peixoto et al., 2003)

epithelial non-neoplastic lesions, especially; von Brunn’s nests, cystitis cystica and cystitis glandularis, reactive papillary proliferation, papillary-polypoid cystitis are common in normal bladders and such proliferations may mimic the nested variant of urothelial carcinoma, particularly if the nests lie relatively deep in the lamina propria (Young, 2008). In human medicine, the molecular genetics and biomarker characterizations of several urinary bladder pathologies have been demonstrated to provide considerable advantage at last decade (Lopez-Beltran et al., 2002). In this course, several molecular alterations have been

found in association with intraepithelial lesions such as dysplasia and carcinoma in situ (CIS). However, their usage in routine clinical settings remains still controversial in humans (Reuter, 1999). The situation is almost same in veterinary medicine and there are still numerous unclarified hypothesis on the basis of molecular interactions in different source of urinary system cells in cattle (Keles et al., 2018; Ozkul et al., 2008; Yucel-Tenekeci et al., 2017).

In veterinary medicine, only a few studies (Carvalho et al., 2006; Roperto et al., 2010) have described the pathologic features of non-neoplastic bladder lesions of cattle. In this study, we aimed to illustrate the histopathological features and pathomorphological characteristics of bracken fern-associated non-neoplastic lesions in bovine urinary bladder.

Materials and Methods

Sample collection: Totally, 216 urinary bladder samples belonging to cows older than 2 years of age including Holstein, Jersey, domestic black cattle, half or mixed culture breeds were used. These selected samples were provided from slaughterhouses in center and / its neighbors of several provinces (Trabzon, Ordu, Giresun, Samsun, Karabuk, Sakarya provinces) located in the Black Sea region of Turkey. The pastures in this area are often composed of bracken fern as result of our field observation. Also, fresh or digested bracken-fern herbals were found in ruminal ingredients in some of slaughtered cattle, so that a cross-check in direction to theconsumption of this plantwere provided.

Macroscopical examinations: For better fixation of the urinary bladder samples, mucosal surface was reversed and fixed in a 10% neutral buffered formalin. Lesion localizations and numbers were described as collum vesicae, corpus vesicae, vertex vesicae, and trigonum vesicae in collected samples. Macroscopical features including thickening of wall, vesicular or balloon like changes, distribution, shape and circumscription, of lesions as well as hyperemia and hemorrhage etc. were illustrated in a urinary template for each collected samples.

Histopathological examinations: Each described lesion collected from all samples were processed routinely in alcohol and xylol series. The samples were embedded in paraffin wax, and 5 µm thick sections were cut from paraffin blocks. After that,

these sections were stained with hematoxylin and eosin. The sections were examined and classified according to the established criteria for neoplastic and non-neoplastic urinary bladder lesions (Roperto et al., 2010; Volmar et al., 2003). Hematoxylin and eosin-stained slides were examined for architectural features, such as size, shape, and distribution of lesions. Cellular characteristics were also noted, including nuclear pleomorphism, prominent nucleoli, mitotic figures, and evidence of non-urothelial differentiation including squamous and glandular differentiation. The nature of the intervening stroma was searched, including desmoplasia, inflammation, and necrosis.

Results

Macroscopic findings: Location of non-neoplastic lesions has been evaluated on lateral or ventral wall, neck and vertex of the urinary bladder. All of the abnormal changes such as wall thickness, hyperemia, hemorrhage, papillary or verrucoid structures and indurations were examined.

Histopathological findings: Histopathologically, lesions in the cow bladder were divided as epithelial, stromal, vascular, and inflammatory. All evaluated lesions were semi-quantitatively scored as no lesion (-), mild (+), moderate (++) and severe (+++). Results are given in Table 1 and then detailed according to the characteristics of findings.

Urothelial lesions: Histologically, lesions were described as hyperplasia characterized with increased numbers of the normal transitional cell layers which arranged either papillary (Fig. 1A) or nodular (Fig. 1B) in structure. There were few or no significant cytological abnormalities, although slight nuclear enlargement might focally present. In some cases, light to severe hydropic degeneration was observed in hyperplastic epithelium (Fig. 1C). Intraepithelial cysts (Fig. 1D) within the epithelial layers and epithelial desquamation (Fig. 1E) in the outer row of transitional epithelium were noticed in some cases with severe papillary hyperplasia. In the lamina propria, oval or round and generally smoothly contoured von Brunn's nests which a transitional cell aggregates with or without connection to the surface epithelium were found single or multiple in some cases (Fig. 1D). The epithelium in the von Brunn's nests were similar to the surface epithelium and exhibited hyperplasia, reactive urothelial atypia (including prominent nucleoli), and mitotic activity. Some of these nests

had central lumina, and this lesion was classified as cystitis cystica (Fig. 1F) and or into intestinal columnar mucin-secreting glands (goblet cells) were named as cystitis glandularis (Fig. 1G). Cystitis glandularis developments were seen both into papillary and nodular masses. There are two type of glandular hyperplasia were seen in the cases. In the first (non-intestinal) form of cystitis glandularis was characterized by glands lined by cuboidal to low columnar cells, which were themselves surrounded by a layer of transitional cells. In the second form of cystitis glandularis, the cells lining the glands in the intestinal-type cases were tall and columnar with abundant mucin. These cells may be admixed with goblet cells and the epithelium often closely resembles intestinal epithelium. The second type also named as glandular metaplasia or colonic

metaplasia (Fig. 1H) and characterized by the presence of epithelial cells of colonic type with a goblet cell appearance within the surface epithelium (flat pattern) or/and in association with cystitis cystica (endophytic pattern). Mucin-secreting metaplasia that shows a striking resemblance to intestinal mucosa, including a crypt-like architecture, has been designated intestinal metaplasia. Intestinal-type mucinous metaplasia may include focal or diffuse areas of the type of intestinal metaplasia consisting of goblet cells or colonic-type glands. Morphologically it has a villous or a tubulo-villous architecture with fronds lined by tall, pseudo-stratified, colonic-type epithelium whose nuclei are dark, elongated and in a basal position.

Table 1. Non-neoplastic epithelial, stromal, vascular, and inflammatory lesions*.

Lesions (n:216)	No lesion (-)	Mild (+)	Moderate (++)	Severe (+++)
EPITHELIAL				
Hydropic degeneration	82	32	87	15
Epithelial desquamation	190	17	7	2
Intraepithelial cysts	124	65	23	4
Cystitis cystica	170	21	20	5
Cystitis glandularis	188	7	19	2
Papillary hyperplasia	55	69	89	3
Nodular hyperplasia	58	47	106	5
von Brunn nests	133	52	27	4
Metaplasia	202	14	0	0
STROMAL (Spindle cells)				
Fibrosis	123	64	27	2
Myxomatous stroma	180	16	17	3
VASCULAR				
Edema	180	34	2	0
Thrombosis	200	11	4	1
Hemorrhage	88	30	61	37
Erythrocyte exostosis	168	21	11	16
Neo-vascularization	79	36	94	7
INFLAMMATUAR				
Mononuclear cells	55	41	93	27

*The numbers of animals with lesions are given in the columns.

Stromal lesions: Herein, lesions were generally interested to spindle and/or star-like shape cells. Fibrosis, abnormal connective tissue deposition, was seen in dermis localized just below to most remote regions of the transitional epithel with focal or diffuse shape (Fig. 1I). Similar to fibrosis myxomatous stroma-myxomatous tissue components (Fig. 1J) were seen in some cases with similar to location and shape of fibrosis.

Vascular lesions: Submucosal edema (Fig. 1K) was noticed in some cases with different severity. In

some cases, newly formed and/or shaped vascular capillary clusters -neo-vascularization- (Fig. 1D) were observed. Although they are different from normal appearance, some of them opened to the blood circulation, and the other cleft shaped primitive capillaries were not opened the blood circulation. Thrombosis (Fig. 1D) was firmly stocked to the vessel wall, partially closed the lumen, and with layered view and a hyaline-like proteinaceous appearance viewed at the thrombotic mass. In the lesions were described as hemorrhage (Fig. 1L) red blood cell extravasations were seen between

connective tissue cells and elements. Although sometimes small amount of erythrocytes, sometimes dense erythrocyte extravasations were completely covered the underlying structures. Most of such severe bleeding cases erythrocyte exostosis (Fig. 1L) was detected between the associated transitional epithelial cells.

Inflammatory changes: Mononuclear cells were predominant. The cells were belonged to a vast majority of lymphocytes and a small number of macrophages and also a few and plasma cells were observed in the submucosal areas with varying intensity. These diffuse (Fig. 1A) and/or focal cell aggregates sometimes were observed in the style of lymphoid follicles.

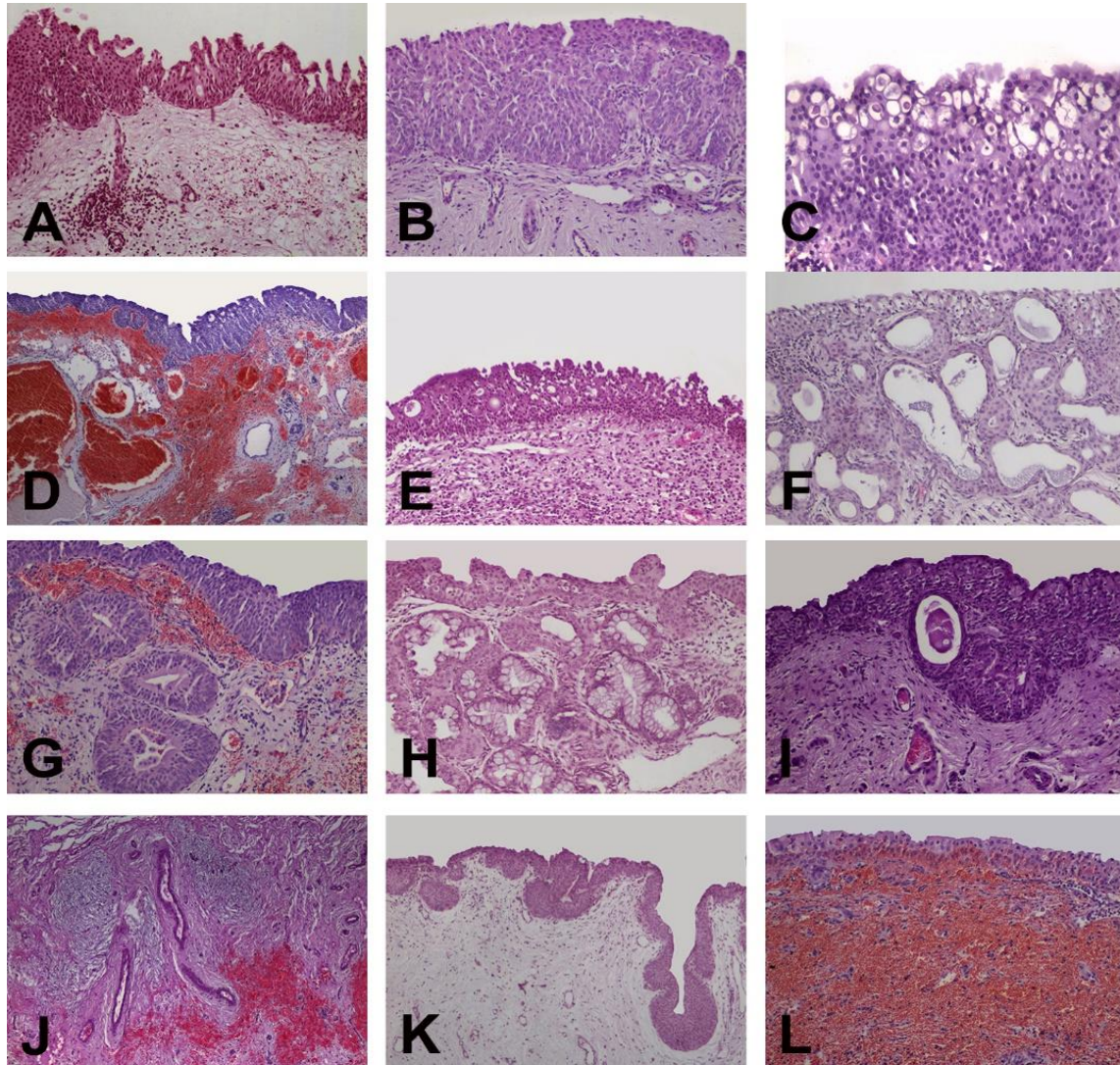


Figure 1. Hematoxylin and Eosin stained urinary bladders. Magnifications are 10, 10, 20, 4, 10, 10, 10, 4, 4, 10, 4, and 10, respectively. The most prominent lesions were noted in the legends and the others were ignored in this section. **A.** Papillary hyperplasia, nodular hyperplasia, and mononuclear cells. **B.** Nodular hyperplasia. **C.** Hydropic degeneration and nodular hyperplasia. **D.** von Brunn's nests, intraepithelial cysts, neo-vascularization, thrombosis, and hemorrhage. **E.** Intraepithelial cysts, epithelial desquamation, and mononuclear cells. **F.** Cystitis cystica. **G:** Glandular metaplasia and hemorrhage. **H:** Colonic metaplasia and papillary hyperplasia. **I:** Fibrosis and nodular hyperplasia. **J:** Myxomatous stroma-myxomatous tissue components and hemorrhage. **K:** Edema, nodular hyperplasia, and von Brunn's nests. **L:** Hemorrhage and erythrocyte exostosis.

Discussion

In the current study, we reached some major outcomes: (i) in non-neoplastic pathologies, urothelium was susceptible to bracken-fern

toxicants. Their pathologies were more predominant and common when compared to stromal pathologies; (ii) general vascular lesions were less common than urothelial pathologies even though neo-vascularization were found mildly in

numerous cases; (iii) there may not be any association with bracken fern toxication and its triggering effect of inflammation in each case.

Mucosal layers of urinary system have been consisting of multiple layers of transitional urothelium in several characteristics. Thus, the developed lesions might be different here. These are described pathologies as hyperplasia, von Brunn's nest hyperplasia, mullerianosis of urinary bladder, cystitis, papillary polypoid cystitis, cystitis cystica, malacoplakia, atypia, squamous metaplasia, pseudocarcinomatous proliferation in humans (Koren et al., 2006; Readal and Epstein, 2010; Sampson et al., 2007; Volmar et al., 2003; Wiener et al., 1979). In veterinary medicine, such kind of similar descriptions have also been found in cattle (Peixoto et al., 2003; Roperto et al., 2010). These changes as in human counterparts could be in flat, exophytic and endophytic form (Roperto et al., 2010). Sometimes there are only epithelial changes, but sometimes there may be stromal and vascular pathologies (such as vascular ectasia, inflammatory pseudotumor and myxoid stroma etc.)_along with epithelial changes. In the current study, we, take into consideration such terminology; however, preferred to use classical descriptions in veterinary medicine. About classification of the non-neoplastic pathologies, at last decade, Young (2009) reported to categorize non-neoplastic human bladder lesions as follows: (1) pseudocarcinomatous proliferations of transitional epithelium; (2) glandular lesions; (3) papillary lesions; (4) spindle cell lesions and (5) miscellaneous others. To the best of our knowledge about veterinary counterpart of any classification, there have not been on non-neoplastic developments. According to our observation in the current study, we grouped bracken fern-associated non-neoplastic lesions in the bovine urinary bladder as: (1) epithelial lesions (hydropic degeneration, epithelial desquamation, intraepithelial cysts, cystitis cystica, cystitis glandularis, papillary hyperplasia, nodular hyperplasia, von Brunn's nests, metaplasia), (2) stromal lesions (especially spindle cell) (fibrosis, myxoid stroma), (3) vascular lesions (edema, thrombosis, hemorrhage, erythrocyte exostosis, neo-vascularization), and (4) inflammatory changes (mononuclear cell infiltrations).

About epithelial lesions, in human autopsy, these proliferative lesions, such as von Brunn's nests and cystitis cystica have been found in more than 90% of normal bladders (Wiener et al., 1979). In bovine cases in the present study, the absence of another lesion and the high rate of these macroscopically unobtrusive lesions was found to be compatible with human study. Therefore, we come to conclusion that urothelial pathologies were

more common than other pathologies. Even though focal or diffuse wall thickening may develop suitably to the such lesions; but, sometimes there may not give any macroscopic finding (Carvalho et al., 2006; Roperto et al., 2010). Therefore, it should be best to make a decision for classification of pathologies by considering such microscopic changes throughout all mucosa for human and veterinary cases. In epithelial micro-architecture, although solely the epithelial lesions can be present, the lesions can eventually be seen in a consecutive series of style as a part of chain of events. As described by Montironi et al. (2003), the event initiate as epithelial hyperplasia and develop atypical hyperplasia and can afterwards gain non-invasive papillary carcinoma, invasive carcinoma characteristics. Even, it can be metastasis to distant tissues due to high malignant potential (Montironi et al., 2003). In this situation, we agree to the postulate at the same way. The urothelial cells can cause hyperplasia, dysplasia, or metaplasia, and thereafter the cells can be undergone a malignant transformation. According to our thought, von Brunn's nests are also the next stage of nodular hyperplasia likely to be in other urothelial lesions. And it can be under experienced for malignant transformation in ongoing stages. These result can have been confirmed because such kind of cases, in previous studies, contained together both non-neoplastic-premalignant and malignant epithelial lesions (Keles et al., 2018; Ozkul et al., 2008; Yucel-Tenekeci et al., 2017). Regarding stromal changes, there have been found different topics suitably to situation and cellular type in human medicine. These have been known since long term as non-neoplastic stromal cells with atypia, postoperative spindle cell nodule, inflammatory pseudotumor (ancient terminology: pseudosarcomatous myofibroblastic proliferation), and hamartoma etc. (Harik et al., 2006; Nochomovitz and Orenstein, 1985; Proppe et al., 1984; Roth, 1980; Wick et al., 1988; Young, 2008). However, in veterinary terminology, there have not been important development at recent years. Aydin and Ozkul (1995) did not document any stromal changes in 131 urinary bladders with lesions of cattle and water buffalo even though the researchers made a classification in epithelial, inflammatory lesions and vascular disturbances. However, in the current study, we set an extra-category of these stromal changes including fibrosis and myxomatous stroma despite of being not lesions of a vast majority of them. We demonstrated stromal microarchitecture, in sometimes, might be also affected in addition to other cellular component of mucosa. On the other hand, we are not certain whether the stromal changes can be resourced spontaneously or after

interaction to vascular changes, epithelial lesions and inflammatory cells, not.

About inflammatory changes, Peixoto et al. (2003) stated that focal or diffuse inflammatory infiltration, mostly lymphocytes, can be found in neoplastic and non-neoplastic conditions. Therefore, the researchers took no simple correlation between inflammations and any neoplastic or non-neoplastic alterations. In this point, we share the same thoughts with the researchers. Our results also showed us inflammatory changes cannot be developed against any urothelial and/or stromal changes. However, the mononuclear cells can be related to action against or by means of chemicals compounds of bracken-fern herbal. These problematic should be needed to be more investigated in-vitro conditions prepared from bovine urothelial and stromal cells introducing reaction with toxicants well-described such as mainly ptaquiloside (a norsesquiterpenoid glycoside), quercetin, shikimic acid, and prunasin (Pamukcu at al., 1967; Pamukcu, 1974).

About vascular lesions and vessel alterations, Peixoto et al. (2003) reported that they can be developed in varying degree of the propria mucosa and accompanied by any epithelial lesions. According to our experience, in particular, hemorrhage should consider for evaluation of the non-neoplastic changes because small amount of erythrocytes or erythrocyte extravasations are completely covered the underlying structures. We believe that triggering of such kind of changes in bovine cases is again responsible for several toxicants of bracken-fern even though the changes are not mentioned in human counterparts at every case. However, according to our results, the observational frequency is indeed not enough when compared to epithelial lesions.

In conclusion, we believe that we gained a general point of view to non-neoplastic lesions of bovine urinary bladders. These lesions are again related to bracken-fern toxication under shed light of previous experience. The lesions have a risk because it is suitable for premalignant neoplastic transformation in terms of especially epithelial or urothelial changes. However, it needs to more clarification on the basis of molecular and genetic alterations comparing them and following developments in human and veterinary medicine.

Acknowledgements

All authors declare that they have no conflict of interest. Financial support was partially provided from AKUBAPK (Project no: 08.VF.15). We would like to thanks to Prof. Dr. I. Ayhan OZKUL for his

valuable contributions from beginning to end of the study.

References

- Aydin Y, Ozkul IA, 1995: Nonneoplastic findings of the urinary bladder in cattle and water buffalo in the black sea region of Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 42, 189-192.
- Carvalho T, Pinto C, Peleteiro MC, 2006: Urinary bladder lesions in bovine enzootic haematuria. *J Comp Pathol*, 134, 336-346.
- Harik LR, Merino, C, Coindre JM, Amin, MB, Pedeutour F, Weiss SW, 2006: Pseudosarcomatous myofibroblastic proliferations of the bladder: a clinicopathologic study of 42 cases. *Am J Surg Pathol*, 30, 787-794.
- Keles H, Bozkurt MF, Ulucan A, Demirel HH, Yuksel H, Karadas E, Ozkul IA, 2018: The role of inducible nitric oxide synthase in urinary bladders of cattle with enzootic hematuria and its struggle with uroplakin III. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 65, 341-348.
- Koren J, Mensikova J, Mukensnabl P, Zamecnik M, 2006: Mullerianosis of the urinary bladder: report of a case with suggested metaplastic origin. *Virchows Arch Int J Pathol*, 449, 268-271.
- Lopez-Beltran A, Cheng L, Andersson L, Brausi M, de Matteis A, Montironi R, Sesterhenn I, van der Kwast KT, Mazerolles C, 2002: Preneoplastic non-papillary lesions and conditions of the urinary bladder: an update based on the Ancona International Consultation. *Virchows Arch*, 440, 3-11.
- Montironi R, Lopez-Beltran A, Mazzucchelli R, Bostwick DG, 2003: Classification and grading of the non-invasive urothelial neoplasms: recent advances and controversies. *J Clin Pathol*, 56, 91-95.
- Nochomovitz LE, Orenstein JM, 1985: Inflammatory pseudotumor of the urinary bladder--possible relationship to nodular fasciitis. Two case reports, cytologic observations, and ultrastructural observations. *Am J Surg Pathol*, 9, 366-373.
- Ozkul IA, Dincel AS, Keles H, Vural SA, 2008: Immunohistochemistry of bovine urinary bladder mucosal hyperplasia and neoplasia. *Bull Vet Inst Putawy*, 52, 643-647.
- Pamukcu AM, 1974: Tumors of the Urinary Bladder. *Bull Wld Hlth Org*, 50, 43-52.
- Pamukcu AM, Göksoy SK, Price JM, 1967: Urinary bladder neoplasms induced by feeding bracken fern (*Pteris aquilina*) to cows. *Cancer Res*, 27, 917-924.
- Peixoto PV, França TN, Barros CS, Tokarnia CH, 2003: Histopathological aspects of bovine enzootic hematuria in Brazil. *Pesqui Veterinária Bras*, 23, 65-81.
- Propp KH, Scully RE, Rosai J, 1984: Postoperative spindle cell nodules of genitourinary tract resembling sarcomas. A report of eight cases. *Am J Surg Pathol*, 8, 101-108.
- Redal N, Epstein JI, 2010: Papillary urothelial hyperplasia: relationship to urothelial neoplasms. *Pathology (Phila)*, 42, 360-363.

- Reuter VE, 1999: Bladder. Risk and prognostic factors--a pathologist's perspective. *Urol Clin North Am*, 26, 481-492.
- Roperto S, Borzacchiello G, Brun R, Leonardi L, Maiolino P, Martano M, Paciello O, Papparella S, Restucci B, Russo V, Salvatore G, Urraro C, Roperto F, 2010: A review of bovine urothelial tumours and tumour-like lesions of the urinary bladder. *J Comp Pathol*, 142, 95-108.
- Roth JA, 1980: Reactive pseudosarcomatous response in urinary bladder. *Urology*, 16, 635-637.
- Sampson N, Untergasser G, Plas E, Berger P, 2007: The ageing male reproductive tract. *J Pathol*, 211, 206-218.
- Volmar KE, Chan TY, De Marzo AM, Epstein JI, 2003: Florid von Brunn nests mimicking urothelial carcinoma: a morphologic and immunohistochemical comparison to the nested variant of urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 27, 1243-1252.
- Wick MR, Brown BA, Young RH, Mills SE, 1988: Spindle-cell proliferations of the urinary tract. An immunohistochemical study. *Am J Surg Pathol*, 12, 379-389.
- Wiener DP, Koss LG, Sablay B, Freed SZ, 1979: The prevalence and significance of Brunn's nests, cystitis cystica and squamous metaplasia in normal bladders. *J Urol*, 122, 317-321.
- Wong-You-Cheong JJ, Woodward PJ, Manning MA, Davis CJ, 2006: From the archives of the AFIP: Inflammatory and nonneoplastic bladder masses: radiologic-pathologic correlation. *Radiogr Rev Publ Radiol Soc N Am Inc*, 26, 1847-1868.
- Young RH, 2008: Non-neoplastic disorders of the urinary bladder. In: "Urologic Surgical Pathology", 2nd ed., Ed; Bostwick DG and Cheng L, Mosby Elsevier, pp. 215-256.
- Young RH, 2009: Tumor-like lesions of the urinary bladder. *Mod Pathol, Suppl 2*, S37-52.
- Yucel-Tenekeci G, Oztekin M, Bozkurt MF, Dincel AS, Ozkul IA, 2017: Pathomorphological and immunohistochemical studies of tumours in the urinary bladders of water buffalo in Marmara, the Central and Western Black Sea Region of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23, 269-273.
- *Corresponding Author:** Hikmet KELES
Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, 03030, ANS Campus, Afyonkarahisar, Turkey
E-mail: hkeles@aku.edu.tr

Probiyotik Etkili *Bifidobacterium longum* ATCC 15707'nin, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'e İn-vitro Etkisinin Real-Time PCR Yöntemi ile İncelenmesi

Akın Yiğın^{1*}, Mehmet Demirci²

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik AD, Şanlıurfa, Türkiye.

²Beykent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. İstanbul, Türkiye.

Geliş Tarihi: 25.10.2018

Kabul Tarihi: 03.12.2018

Özet: *Staphylococcus aureus*, kommensal bir bakteri olarak hem insanla birlikte yaşayan, hem de uygun fırsatı bulunduğu ciddi fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir. *Bifidobacterium* cinsi bakteriler probiyotik olarak kullanılan ana mikroorganizmalardır. Bu cinslere ait çok sayıda türün, konağın sağlığını iyileştirmede güvenli ve etkili olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızın amacı, probiyotik etkili *Bifidobacterium longum* ATCC 15707'nin, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'e suşları üzerine etkisinin Real-Time PCR yöntemi ile araştırmaktır. 3 tane brain-heartin fusion broth (Oxoid) besiyeri içeren tüp hazırlandı. Tüm tüplere 10^3 CFU/mL olacak şekilde *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kökeninden ilave edildi. 1. tüp kontrol olarak kalırken, 2. tüpe 10^3 CFU/mL olacak şekilde, 3. tüpe de 10^6 CFU/mL olacak şekilde *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 kökeni ilave edildi. İnkübasyonun 6., 12., 24. saatlerinde tüplerden alınan numunelerden DNA izolasyonu yapıldı ve bu numunelerden LightCycler 480 sisteminde Real-Time PCR ile kantitatif olarak *S. aureus* miktarları saptandı. Birinci tüpte 6. saatte 523.333 ± 8993 kopya/mL düzeyinde saptanan *S. aureus*, farklı tüplerde sırasıyla 10^3 ve 10^6 CFU/mL miktarlarında *B. longum* kökeni ile birlikte inkübe edildiğinde bu miktarların düştüğü olduğu bulundu. Sonuç olarak, çalışmamızda, probiyotik etkili *Bifidobacterium longum*'un, *Staphylococcus aureus*'un in vitro ortamda üremesini etkilediği ve bakteri sayısının etki düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Probiyotiklerin etkilerinin gnotobiyotik hayvan modellerinde veya daha kapsamlı çalışmalarla incelenerek, ilaç dirençlerinin çok yoğunlaştığı günümüzde, önemli patojenlere karşı antimikrobiyal olarak yarar sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: *Bifidobacterium longum*, *Staphylococcus aureus*, Real-Time PCR.

Investigation of In vitro Effects of Probiotic *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 by Real-Time PCR

Abstract: *Staphylococcus aureus* is an important pathogen which is both a commensal bacterium living with humans and can also cause serious infections when it has the opportunity. *Bifidobacterium* species are the main microorganisms used as probiotics. It has been reported that many species of this genus are safe and effective in improving the health of the host. The aim of this study was to investigate the effect of probiotic *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 strain on *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 strain by using with Real-Time PCR method. Three tubes containing brain-heartin fusion broth (Oxoid) were prepared. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 was inoculated into two tubes at a concentration of 10^3 CFU/mL while the one of the tubes remained as control. *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 strain was added into the second and third tubes at a concentration of 10^3 CFU/mL and 10^6 CFU/mL respectively. DNA isolation was performed from the samples taken from tubes at 6th, 12th and 24th hours of incubation and quantitative *S. aureus* amounts were determined by Real-Time PCR by using LightCycler 480 system. *S. aureus* amounts were found as 523.333 ± 8993 copies/mL at the 6th hour in the first tube, while we found that the number of *S. aureus* was reduced in the tubes added with *B. longum* strains for 10^3 and 10^6 CFU/mL, respectively. In conclusion, *B. longum*, which is considered as a probiotic, affected the growth of *Staphylococcus aureus* in-vitro and the reducing effect of *B. longum* can increase along with the number. The effects of probiotics can be investigated in gnotobiotic animal models or in more comprehensive studies and we think that using *B. longum* can be beneficial against important pathogens such as *Staphylococcus aureus* in order to prevent antibiotic resistance.

Keywords : *Bifidobacterium longum*, *Staphylococcus aureus*, Real-Time PCR.

Giriş

Staphylococcus aureus, kommensal bir bakteri olarak hem insanla birlikte yaşayan, hem de uygun fırsatı bulunduğu ciddi fırsatçı enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir (Tong ve ark., 2015). *S. aureus*, toplum kaynaklı ve hastane kaynaklı bakteriyel enfeksiyonların önde gelen

nedenlerinden birisidir ve enfeksiyonlarda gözlenen bakteriyemilerin en yaygın nedenlerinden biridir. Diğer bakteriyel enfeksiyon etkenlerine göre daha yüksek mortalite oranına sahiptir (Brown ve ark., 2013). *S. aureus*'taki antibiyotik direnci tehdidi birkaç yıldır büyük ölçüde artmış ve bu nedenle tüm

dünyada sağlık maliyetleri önemli ölçüde artmıştır (Reddy ve ark., 2017). Antibiyotik dirençli kökenlerin oluşumu, hem hatalı replikasyona bağlı olarak veya kökenler arasında direnç özelliklerin değişmesinden dolayı ortaya çıkan doğal bir süreçtir. Bu süreç, antibiyotiklerin kötüye kullanımı yoluyla, antibiyotiğe dirençli kökenlerin seçimine yol açabilir. *S. aureus* kökenlerinin çeşitli çevre koşullarına virülans faktörleri ile hızlı uyum yeteneği onu direnç konusunda öne çıkarmaktadır (Bone, 1994; Reddy ve ark., 2017). Probiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında konakta bir sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanır (Hungin ve ark., 2013). Son on yılda probiyotiklerin artan sıklıkta tüketildiği görülmektedir. Enfeksiyonlara karşı koruyucu önlem olarak, hem gıda ürünlerinde, hem de besin takviyelerinde probiyotiklerin kullanımını destekleyen bildirimler bulunmaktadır (Lenoir ve ark., 2016). Probiyotikler için ticari alanda küresel bir pazar oluşmuş ve bu ürünleri farklı enfeksiyonları olan bireyler iyileşebilmek için veya sağlıklı bireylerde bağışıklık sistemlerini modüle etmek ve bağırsak mikrobiyotasının dengesini sağlamak için sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun sonucunda artan talep nedeniyle probiyotikler için oluşan bu pazar büyümektedir (Toscano ve ark., 2017). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakteriler probiyotik olarak kullanılan ana mikroorganizmalardır ve gerçekten de, bu cinslere ait çok sayıda türün, konağın sağlığını iyileştirmede güvenli ve etkili olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2018; Toscano ve ark., 2017). *Bifidobacterium longum*, sağlıklı insanların bağırsaklarında yaygın olarak bulunan gram-pozitif bir bakteridir. Yapılan çalışmalarda, *B. longum* ile ilişkili faydalar nedeniyle, genellikle probiyotik gıdalar ve diyet takviyelerine eklenmektedir. Ayrıca *B. longum*'un ticari ürünlerde probiyotik olarak kullanılan en yaygın *Bifidobacteria* türü olduğu söylenebilir (Wei ve ark., 2018). Tüm bu bilgiler ışığında, bizde çalışmamızda, probiyotik etkili *Bifidobacterium longum* ATCC 15707'nin, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'e in-vitro etkisinin Real-Time PCR yöntemi ile inceleyerek, farklı zamanlarda yapacağımız kontrollerle, *S. aureus* çoğalmasına kantitatif etkisini incelemeyi amaçladık.

Materyal ve Metot

Çalışmamız için *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 kökenleri temin edildi. 3 tane brain-heartinfusionbroth (Oxoid) besiyeri içeren tüp hazırlandı. Tüm tüplere 10^3 CFU/mL olacak şekilde

Staphylococcus aureus ATCC 29213 kökeninden ilave edildi. 1. tüp'e *S. aureus* dışında herhangi bir ekleme yapılmadı. 2. tüpe 10^3 CFU/mL olacak şekilde, 3. tüpe de 10^6 CFU/mL olacak şekilde *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 kökeni ilave edildi. Böylelikle 2. tüpte (1:1) (*S. aureus*:*B. longum*) ve 3. tüpte (1:2) oranında bakteri karışımı elde edildi. Her 3 tüp etüvde 37°C 'da anaerobik ortamda inkübe edildi. İnkübasyonun 6., 12., 24. saatlerinde tüplerden alınan 200 µl numunelerden *S. aureus* kantitasyonu için High Pure PCR Template kiti (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ile üretici direktifleri doğrultusunda izolasyon gerçekleştirildi. Elde edilen DNA'lar Real-Time PCR işlemlerine kadar -20°C 'da saklandı. *S. aureus* kantitatif miktarını belirlemek için *Staphylococcus aureus* Genesig Advanced kit (Primer Design, UK) kullanıldı. Real-time PCR protokolü; 95°C 'da 2 dakika denatürasyonu takiben, 95°C 'da 10 sn ve 60°C 'da 60 sn olacak şekilde 50 siklusluk çoğaltma şeklindeydi. Real-time PCR işlemleri LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) sisteminde gerçekleştirildi. Kitte bulunan kantitatif standartlar ile çizilen standart eğri üzerinden numunelerdeki *S. aureus* kantitatif miktarı belirlendi. Tüm Real-Time PCR işlemleri 3 kere tekrar edildi.

Bulgular

Çalışmamızda, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'un *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 ile birlikte inkübasyonu sonucunda, 6. 12. ve 24. Saatte Real-Time PCR'la saptanan değişimi Tablo 1'de gösterilmiştir. 1. tüpte 6. saatte 523.333 ± 8993 kopya/mL düzeyinde saptanan *S. aureus*, farklı tüplerde sırasıyla 10^3 ve 10^6 CFU/mL miktarlarında *B. longum* kökeni ile birlikte inkübe edildiğinde bu miktarların düştüğü saptandı. *S. aureus* kökenleri daha yüksek konsantrasyonda *B. longum*'la birlikte inkübe edildiğinde üremeye olan negatif etkinin daha da arttığı saptandı. Real-time PCR'la 24. saatte her üç tüpte elde edilen kantitatif *S. aureus* miktarı Şekil 1'de görülmektedir.

Tartışma

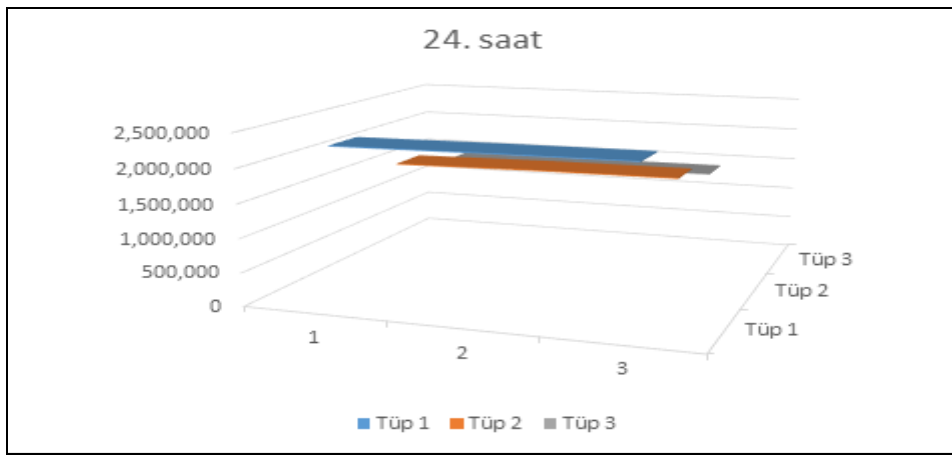
Çeşitli çalışmalarda, probiyotik etkili *Bifidobacterium* cinsi bakteriler tarafından mikrobiyal patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Buna karşın, bu etkinin altında yatan mekanizma net değildir. Ortam pH'sının azaltılması, beslenme kaynakları için rekabet, organik asitlerin ve bakteriyosin üretimi gibi nedenler kaynaklı olarak multifaktöriyel olduğu kabul edilmektedir (Muñoz-Quezada ve ark., 2013).

Hatta bazı probiyotiklerin, bakteri ve mantarların büyümesini engelleyen metabolitler ürettiği de

bildirilmiştir (Muñoz-Quezada ve ark., 2013; Wang ve ark., 2012).

Tablo 1. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'ün *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 ile birlikte inkübe edilmesi sonucu alınan Real-Time PCR sonuçlarının (10^3 kopya/mL) dağılımı.

	10^3 CFU/mL <i>S. aureus</i>			10^3 CFU/mL <i>S. aureus</i> ve 10^3 CFU/mL <i>B. longum</i>			10^3 CFU/mL <i>S. aureus</i> ve 10^6 CFU/mL <i>B. longum</i>		
	6. saat	12. saat	24. saat	6. saat	12. saat	24. saat	6. saat	12. saat	24. saat
1	524	2.120	2.280	380	1.420	1.680	275	1.280	1.430
2	512	2.130	2.300	370	1.390	1.710	265	1.290	1.410
3	534	2.150	2.310	365	1.410	1.720	268	1.260	1.420
Ortalama	523.3	2.133	2.296	371.67	1.406	1.703	269	1.276	1.420
SD	89.93	12.47	12.47	62.36	12.47	16.99	41.89	12.47	81.64



Şekil 1. *S. aureus* ve *B. longum* birlikte inkübe edildiğinde 24. saatte alınan örneklerde Real-Time PCR'la saptanan kopya/mL miktarlarının dağılımı.

Yapılan çalışmaları incelediğimizde, Lazarenko ve ark. (2012)'nin, *B. longum* dâhil farklı probiyotik kökenleri *S. aureus* kökenlerine karşı in vitro olarak denemiş ve bunlarda antagonistik bir aktivite gözlemediklerini bildirmişlerdir. Silva ve ark. (2018)'nin yaptıkları bir çalışmada ise *S. aureus* kökenlerinin in vitro ortamda üremelerine karşı farklı *Bifidobacterium* türlerini yine denemişler ve bunlarda en yüksek antagonistik aktivitenin *B. longum*'da olduğunu saptamışlardır. Phoem ve ark. (2015)'nin yaptıkları çalışmada, *B. longum* gibi probiyotiklerin özellikle bakteriyel kirlenmede süt ve tofu gibi ürünlerde yararlı olduğunu ve ürünlere probiyotik katıldığında, bunun ürünün raf ömrünü uzattığını bildirmiştir. Lee ve ark. (2012)'nin, *Bifidobacterium* türlerinin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, ayrıca *Bifidobacterium* türlerinin konaktaki antiinflamatuvar etkileri incelenmiş ve sitokin üretimini, makrofajların aktivasyonunu göstermek için kontrol edilmiştir. *Bifidobacterium* türlerinin makrofaj aktivatörlerinin üretimini arttırdığını ve bununda immun fonksiyonların etkisini değiştirdiğini belirtmişlerdir (Lee ve ark., 2015). Lkhagvadorj ve ark. (2010)'nin *Bifidobacteria*

breve'nin metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) enfeksiyonları tedavisinde farelerde kullanımını denemişler ve bu fare modellerinde ölümcül olan MRSA enfeksiyonunu, probiyotikler ile tedavi ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada, *Bifidobacterium* kökenlerinin antibakteriyel aktivitesinin, bağışıklık yanıtını artırma yetenekleri ile ilişkili olduğunu saptamışlar ve enfekte olmuş farelerin CD3+ ve/veya CD4+ splenositlerinin sayısının, probiyotik kültürler almayan enfekte olmuş farelere kıyasla 3. günde kontrol seviyesine yükseldiğini ve 9. günde de CD19+ hücrelerinin sayısı arttığını tespit etmişlerdir (Lkhagvadorj ve ark., 2010). Tüm bu çalışmalardaki veriler araştırmamızın verilerini destekler görülmekte ve ortamdaki *Bifidobacterium* miktarında, *S. aureus*'u farklı yollarla etkilediği görülmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda, probiyotik etkili *Bifidobacterium longum*'un, *Staphylococcus aureus* kökenlerini in vitro ortamda etkilediği ve köken sayısının etki düzeyini arttırdığı saptanmıştır. Probiyotiklere olan ilginin artmasına karşın, hastalıklarda karşılaştığımız patojenlere karşı bu kökenlerin etkileri ile ilgili araştırmalar sınırlıdır. Bu çalışmanın bu yönde literatüre katkı sağlayabileceği

ve yeni araştırmalara teşvik edebileceği kanaatindeyiz. Probiyotiklerin etkilerinin gnotobiyotik hayvan modellerinde veya daha kapsamlı çalışmalarla incelenerek, ilaç dirençlerinin çok yoğunlaştığı günümüzde, önemli patojenlere karşı yarar sağlayabileceği düşüncesindeyiz.

Kaynaklar

- Bone RC, 1994: Gram-positive Organisms and Sepsis. *Arch Intern Med*, 154, 26-34.
- Brown AF, Leech JM, Rogers TR, Mc Loughlin RM, 2013: *Staphylococcus aureus* colonization: modulation of host immune response and impact on human vaccine design. *Frontiers in Immunology*, 4, 507.
- Hungin APS, Mulligan C, Pot B, P. Whorwell P, Agréus L, Fracasso P, Lionis C, Mendive J, Philippart J.M, Rubin G. Winchester C, Wit N, 2013: Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice—an evidence-based international guide. *Alim Phar&Therap*, 38, 864-886.
- Kim MJ, Ku S, Kim SY, Lee HH, Jin H, Kang S, Li R, Johnston TV, Park MS, Ji Ge, 2018: Safety evaluations of bifidobacterium bifidum bgn4 and bifidobacterium longum bori. *Inter JI of Mol Sci*, 19, 1422.
- Lazarenko L, Babenko L, Sichel LS, Pidgorskyi V, Mokrozub V, Voronkova O, Spivak M, 2012: Antagonistic action of lactobacilli and bifidobacteria in relation to *Staphylococcus aureus* and their influence on the immune response in cases of intravaginal staphylococcosis in mice. *Prob and Antimicr Prot*, 4, 78-89.
- Lee DK, Kim MJ, Ham JW, An HM, Cha MK, Lee SW, Park CI, Shin SH, Lee KO, Kim KJ, Ha NJ, 2012: In-vitro evaluation of antibacterial activities and anti-inflammatory effects of Bifidobacterium spp. Address in *gacnevulgaris*. *Arch Pharm Res*, 35, 1065-71.
- Lenoir-Wijnkoop I, Gerlier L, Roy D, Reid G, 2016: The clinical and economic impact of probiotics consumption on respiratory tract infections: projections for Canada. *Plos One*, 11, 11.
- Lkhagvadorj E, Nagata S, Wada M, Bian L, Wang C, Chiba Y, Yamashiro Y, Shimizu T, Asahara T, Nomoto K, 2010: Anti-infectious activity of synbiotics in a novel mouse model of methicillin-resistant. *Microbiol Immunol*, 54, 265-275.
- Muñoz-Quezada S, Bermudez-Brito M, Chenoll E, Genovés S, Gomez-Llorente C, Plaza-Diaz J, Matencio E, Bernal MJ, Romero F, Ramón D, Gil A, 2013: Competitive inhibition of three novel bacteria isolated from faeces of breast milk-fed infants against selected enteropathogens. *Br J Nutr*, 109, 63-69.
- Phoem AN, Chanthachum S, Voravuthikunchai SP, 2015: Applications of micro encapsulated bifidobacterium longum with eleutherine americana in fresh milk tofu and pineapple juice. *Nutrients*, 7, 2469-2484.
- Reddy PN, Srirama K, Dirisala VR, 2017: An update on clinical burden, diagnostic tools, and the rapeutic options of *Staphylococcus aureus*. *Infectious Diseases*, 10, 1-15.
- Silva AKS, Silva TRN, Nicoli JR, Vasquez-Pinto LMC, Martins FS, 2018: In-vitro evaluation of antagonism, modulation of cytokines and extra cellular matrix proteins by bifidobacterium strains. *Lett Appl Microbiol*, 67, 497-505.
- Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG, 2015: *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Micro Rev*, 28, 603-661.
- Toscano M, De Grandi R, Stronati L, De Vecchi E, Drago L, 2017: Effect of *Lactobacillus rhamnosus* hn001 and *Bifidobacterium longum* bb536 on the healthy gut microbiota composition at phyla and species level: a preliminary study. *World Journal of Gastroenterology*, 23, 2696-2704.
- Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W, 2012: Production and characterization of antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *PLoS ONE*, 7, 29452.
- Wei Y, Yang F, Wu Q, Gao J, Liu W, Liu C, Guo X, Suwal S, Kou Y, Zhang B, Wang Y, Zheng K, Tang R, 2018: Protective effects of Bifidobacterial strains against toxigenic *Clostridium difficile*. *Fron in Micr*, 9, 888.

*Sorumlu Yazar: Akın YİĞİN,

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik AD,

Şanlıurfa, Türkiye

E-mail: akinyigin@yahoo.com

Mannheimia haemolytica İzole Edilen Pyometralı Bir Kedi Uterusunun Anormal Genişlemesi

Zeynep GÜNAY UÇMAK^{1*}, Belgi DİREN SİĞİRCİ², Melih UÇMAK¹, Ali Can ÇETİN¹, Kemal METİNER², Barış HALAÇ²

¹ İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı,

² İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Geliş Tarihi: 28.03.2018

Kabul Tarihi: 02.07.2018

Özet: Bu yazıda, kısırlaştırılmamış, 8 yaşında, 5 kg ağırlığında olan ve çok su içme, çok idrar yapma, iştahsızlık, karında aşırı şişlik şikayetleriyle kliniğimize getirilen dişi bir tekir kedideki pyometra olgusu sunulmaktadır. Yapılan testler sonucunda viral hastalıklar yönünden negatif olduğu belirlenen kedide, lökositozun yanısıra üre ve aspartat aminotransferaz (AST) değerlerinin yüksek, albumin değerinin ise düşük olduğu saptandı. Ultrasonografik muayenede aşırı abdominal genişlemenin, pyometra nedeniyle olduğu saptandıktan sonra, sağaltım amacıyla ovariohisterektomi uygulandı. Alınan uterusun ağırlığı toplam 2.4 kg olarak ölçüldü. Pyometralı içerikten alınan örnekten mikrobiyolojik identifikasyon amacıyla yapılan ekim sonucunda, pyometra olgularında izole edildiğine dair literatür bilgiye rastlamadığımız, *Mannheimia haemolytica* saptandı. Sonuç olarak, sunulan bu olguda kedilerde pyometra olgularında *Mannheimia haemolytica* izole edilebileceği ve bu bakterinin kedinin canlı ağırlığına yakın boyutlara erişebilecek büyüklükte uterus hacminde artışa sebep olabileceği vurgulanmıştır.

Anahtar kelimeler: Dişi kedi, Pyometra, *Mannheimia haemolytica*.

An Unusual Enlargement of Pyometric Uterus of A Cat From Which *Mannheimia haemolytica* Was Isolated

Abstract: A case of pyometra in sexually intact, 8 years old tabby queen cat of 5 kg body weight which was admitted to our clinic with the complaint of polyuria, polydypsia, lethargy and unusual abdominal extension was presented in this article. Leucocytosis, increased urea and aspartate aminotransferase (AST) and decreased albumin were determined in the queen which was free from feline viral diseases. In ultrasonographic examination, abdominal expansion was found to be due to the unusual enlargement in cornu uteris and pyometra, thus ovariohysterectomy was performed for treatment. Total uterine weight was 2.4 kg. By microbiological examination on exudate of cornu uteris, *Mannheimia haemolytica* was detected which has not previously been reported to be isolated from pyometra cases. As a result of this case study, it was emphasized that *Mannheimia haemolytica* can be isolated in feline pyometra and can cause an increase in uterine volume close to the body weight of the queen.

Keywords: Queen, Pyometra, *Mannheimia haemolytica*.

Giriş

Kistik endometrial hiperplazi pyometra (CEH-P) kompleks, endometrial bezlerin kistik dilatasyonu sonucu gelişir ve endometrial hiperplazi ile purulent eksudatın uterus lümenine toplanmasıyla karakterizedir (Hollinshead ve Krekeler, 2016). Köpeklere kıyasla kedilerde daha az görülen CEH-P, acil müdahale gerektiren jinekolojik bir hastalıktır (Blendiger ve ark., 1997; Dinç, 2005). Kedilerde ortalama 7 yaşında görülmesine rağmen progesteron uygulanan genç dişi kedilerde de CEH-P şekillenebilir (Lucas ve ark., 2000). Olgular, çoğunlukla bakteriyel enfeksiyon, vaginanın normal fırsatçı florasından köken alır ve anormal endometrium dokusu bakteriyel kolonizasyon için predispozisyon sağlar (Von Reitzeinstein ve ark., 2000). Kedilerdeki pyometra vakalarının yaklaşık %80'ninde aerobik bakteriler izole edilmektedir ve en çok rastlanan bakteri *Escherichia coli*'dir (*E. coli*) (Holt ve ark., 2003). İzole edilen diğer bakteriler;

Streptokoklar, Stafilokoklar, Klebsiella, Pseudomonas, Proteus, ve Moraxella olarak bildirilmiştir (Agudelo, 2005; Lucas ve ark., 2000). *Mannheimia haemolytica* kedi, köpek ve ruminantlarda genellikle respiratör sistem hastalıklarına, koyunlarda da meme enfeksiyonlarına sebep olan bir bakteridir (Machino ve ark., 2011; Omaleki ve ark., 2011; Singh ve ark., 2011). *Mannheimia Haemolytica*'dan kaynaklanan CEH-P olgularına ilişkin literatür bilgiye rastlanılmamıştır. Pyometra olgularında en sık görülen klinik belirti vajinal mukopurulent veya irinli akıntıdır fakat kapalı serviks pyometra olgularında vaginal akıntı görülmez, abdominal genişleme daha yaygındır (Agudelo, 2005). Hastalıkla ilgili nonspesifik klinik bulgular ise; iştahsızlık, kusma, halsizlik ve kilo kaybıdır (Dinç, 2005). Hastalığa ilişkin klinik belirtiler uterusun yanısıra üriner

sisteme de yansır fakat poliüri ve polidipsi köpeklerdeki kadar sık görülmez (Agudelo, 2005).

Sunulan bu olguda, uterus hacminde aşırı artışa sebep olan bakterinin identifikasyonu yapılarak, bu bakterinin pyometra gelişimi üzerine etkileri ve operatif yolla sağaltımda dikkat edilecek hususları değerlendirmek amaçlanmıştır.

Olgu

Sekiz yaşında, kısırlaştırılmamış, 5 kg ağırlığında, dişi tekir kedi; çok su içme, çok idrara çıkma, iştahsızlık, karında aşırı şişlik (Şekil 1.) nedeniyle kliniğimize getirildi. Hastanın genel muayenesinde vücut sıcaklığının 38.1°C ve mukozalarının pembe renkte olduğu tespit edildi. Vaginal inspeksiyonda serviksten gelen herhangi bir akıntıya rastlanmadı. Hastanın hemogram bulgularında anemi saptanmadı fakat lökositoz (WBC: 109.6 x10³/µL) tespit edildi. Biyokimyasal analiz sonucuna göre aspartat aminotransferaz (AST: 146 U/L) ve üre (81 mg/dl) değerleri yüksek,

albümin (2.1 g/dl) değeri düşük olarak ölçüldü. Ayrıca hastanın feline infeksiyöz peritonitis (FIP), feline immun yetmezliği virusu (FIV), feline lösemi virüs (FeLV) yönünden negatif olduğu belirlendi. Transabdominal ultrasonografide; sağ ve sol kornu uterilerde ölçülebilen en yüksek çaplar sırasıyla 83.2 mm ve 73.3 mm olarak saptandı (Şekil 2).



Şekil 1. Pyometra nedeniyle aşırı genişlemiş abdomen görüntüsü.



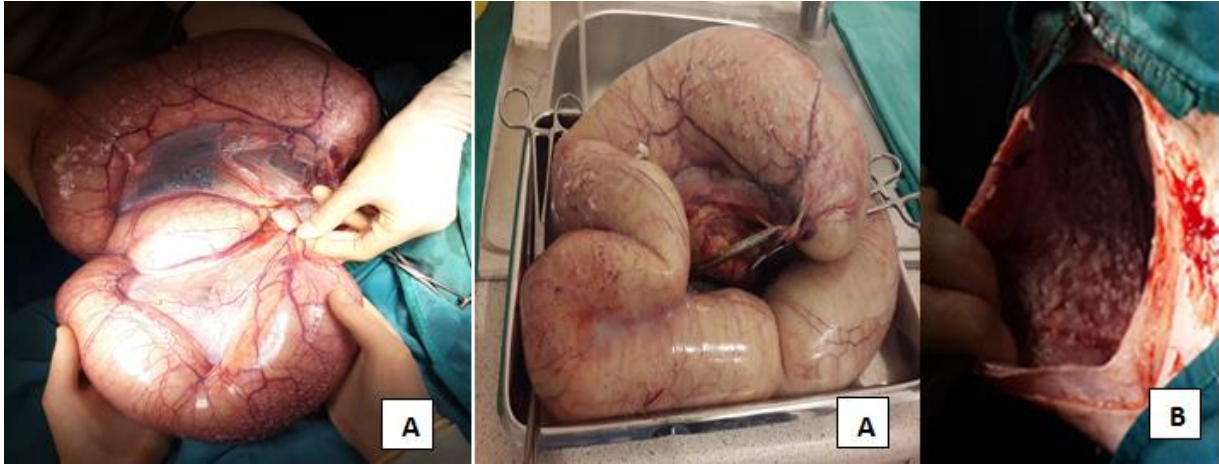
Şekil 2. Kornu uterilerin ultrasonografik görüntüsü.

Kornu uterilerin duvarlarının incelendiği ve lümenlerinin anekojenik olduğu görüntülendi. Bu klinik bulgular eşliğinde CEH-P teşhisi konulan hastaya ovariohistektomi operasyonu uygulanmasına karar verildi. Bu doğrultuda, genel anestezi öncesi deri altı yolla 0.03 mg/kg dozunda Atropin sülfat (Biofarma, İstanbul, Türkiye) uygulandı. Premedikasyon amacıyla damar içi yolla 6 mg/kg dozunda propofol (%1 Pofol ampul, Dongkok Pharm, Kore) verildi. Doz hesaplaması, tahmini uterus ağırlığı kedinin ameliyat öncesi ağırlığından çıkartılarak yapıldı. İndüksiyonu takiben hasta entübe edilerek, %3 oranında izofluran likid (Foran likit, Abott Laboratories, İngiltere) ve %1 oranında oksijen ile inhalasyon anestezisi sağlandı.

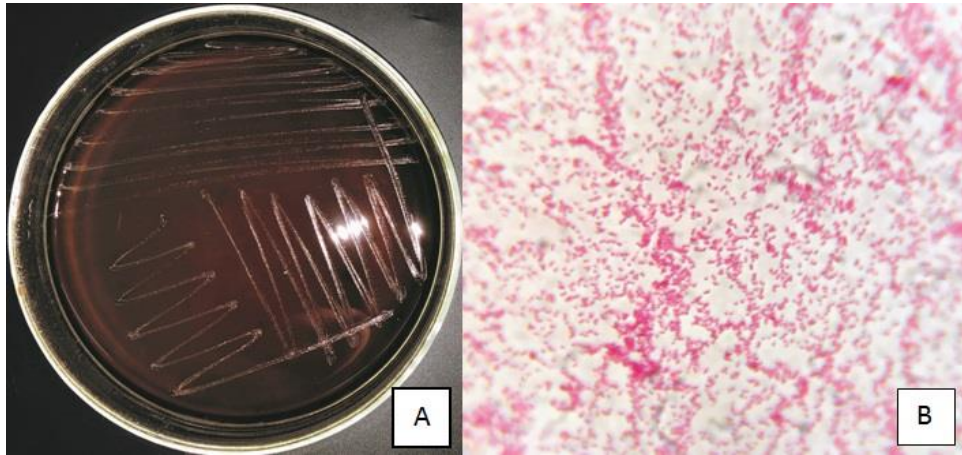
Operasyon sırasında oluşabilecek yan etkilerden (hipovolemik şok vs.) korunmak için izotonik serum infüzyonu yapıldı. Aşırı abdominal genişlemeye sahip bu kedide, aorta abdominalise basınç sonucu dolaşımın engellenmesinin önüne geçmek amacıyla, kedi hafif yan yatırılarak göbek deliğinin gerisinden median enzisyon uygulandı. Aşırı gergin uterusu zarar vermemek için kas dokusuna atılan iki tespit dikişi arasından enzisyon yapılarak, oluklu sonra eşliğinde laparotomi uygulandı. Ovariohistektomi sonrasında kornu uterilerin ve tüm periton yüzeyinde, basınç atrofisi nedeniyle olduğu düşünülen, difuz dağılımlı, yağ benzeri oluşumlar gözlemlendi (Şekil 3A,3B). Tüm dikişler ve ligatürler için monofilament iplik (Monocryl No:2/0, Medeks,

Türkiye) kullanıldı. Ovaryumlar ve uterus 2.4 kg olarak ölçüldü. Operasyon sonunda uterus içeriğinden örnek alınarak etken izolasyonu ve antibiyogram için İ.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderildi. Postoperatif destekleyici tedavi olarak hastaya damar içi yolla 40 ml/kg dozunda %0.9 NaCl izotonik serum (İ.E. Ulagay, Türkiye), kas içi 40

mcg/kg dozunda B12 vitamini (Dodeks, Deva, Türkiye), kas içi 4 mg/kg dozunda ranitidin (Ulcuran, Abfar, Türkiye), kas içi 20 mg/kg dozunda ampicilin/sulbaktam (Sulcid, İ.E. Ulagay, Türkiye), deri altı 5 mg/kg dozunda enroflaksasin (Baytril-K %5, Bayer, Almanya), 10 gün süreyle uygulandı. Operasyon sonrası 10.günde dikişleri alınan hastanın genel durumunun iyi olduğu bildirildi.



Şekil 3. A. Ovariohisterektomi sonrası kornu uterilerin görüntüsü, B. Periton yüzeyindeki diffuz dağılımlı oluşumlar.



Şekil 4A. *Mannheimia haemolytica* suşu, B. *Mannheimia haemolytica*'nın mikroskop görüntüsü.

Uterus içeriğinden %7 koyun kanlı Agar (CM271- Oxoid) ve Mac Conkey Agar'a (CM0109-Oxoid) ekim yapıldı. Agarlar aerobik ve mikroaerofilik şartlarda 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi. Kanlı agarlarda hemoliz pozitif, s tipi koloniler üredi. Mac Conkey Agarda ise üreme olmadı. Üreyen kolonilerden yapılan Gram boyama sonucunda Gram negatif basiller görüldü. Standart metodlarla oksidaz, katalaz, indol ve Mc Conkey agarda üreme gibi özellikleri incelenerek ve APİ 20 NE (bioMerieux) kullanılarak yapılan identifikasyon sonucunda izolatın *Mannheimia haemolytica* olduğu belirlendi (Şekil 4A, 4B). İzolatın antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi, Clinical and

Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarına göre Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapıldı (CLSI 2006). Bunun sonucunda izolatın amoksisilin, amoksisilin/klavulanikasid, ampicilin/sulbaktam, enroflaksasin, eritromisin, gentamisin, kloramfenikol, meropenem, sefalekssin, sefaperazon, sefepim, seftiofur, seftriakson, siprofloksasin, streptomisin, tetrasiklin ve trimetoprim/ sülfametoksazol antibiyotiklerine karşı duyarlı olduğu belirlendi. Aztreonam, sefpodoksim, sefoksim/klavulonikasit, seftazidin/klavulonikasit ve seftazidim antibiyotiklerine karşı ise dirençli olduğu saptandı.

Tartışma

Bu olgu sunumunda CEH-P'nın 8 yaşında, kısırlaştırılmamış dişi bir kedide görülmesi hastalığın görülme yaşı açısından literatür bilgi ile uyumludur. Anamnezde kontraseptif kullanımı bulunmamasına karşın orta yaşta kedilerde de pyometra şekillendiği bilinmektedir (Lucas, 2000). Aşırı genişlemiş abdomenin muayenesinde; ascites, gebelik, pyometra, uterus patolojilerinin ayırıcı tanısının konulması amacıyla radyografi yerine ultrasonografi gibi diagnostik görüntüleme tekniğinin araştırmacılar tarafından tercih edilmesi sunulan vakadaki teşhis metodunu destekler niteliktedir (Hagman, 2017). Operatif müdahale sırasında, ensizyon öncesi pyometra nedeniyle abdomendeki aşırı gerginliğe ve ligatür işlemi esnasında uterusun gevrek oluşuna dikkat edilerek ovariohisterektomi uygulanması Hollinshead ve Krekeler (2016) ile uyumludur. Araştırmacılarla uyumlu olarak (Agudelo, 2005; Sapierzynski ve ark., 2009), sunulan vakada kedilerde nadiren görülen poliüri ve polidipsi gibi üriner sistem semptomlarının şekillenmesine, lipopolisakkarit yapısında hücre duvarına (endotoksin) sahip gram (-) bakterilerden olan *Mannheimia haemolytica*'nın neden olduğu düşünülmektedir. Yapılan literatür taraması neticesinde *Mannheimia haemolytica*'nın sığırlarda nekrotik pnemoninin ve pleuropneumoninin en büyük sebebi (Singh ve ark., 2011) olması, sığırların ve koyunların yanı sıra kedi ve köpeklerin oral kavitesinde, nazofarenksinde ve tonsillerinde doğal olarak bulunan fırsatçı bir patojen (Machino ve ark., 2011), ayrıca koyunlarda meme içi yangısal enfeksiyona neden olan önemli bir bakteri (Omaleki ve ark., 2011) olması, bu bakterinin genellikle respiratörük sistem ve meme üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Kedi ve köpeklerdeki pyometra olgularında *Mannheimia haemolytica*'nın izole edildiğine dair herhangi bir literatür bilgiye rastlamamış olmamız, sunulan vakanın orijinalliğini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak, sunulan vakada *Mannheimia haemolytica*'nın kedilerde pyometra olgularında izole edilebileceği ve sağlıklı bir kedinin canlı ağırlığına yakın boyutlara kadar ulaşabilen uterus görüntüsünün şekillenebileceği vurgulanmaktadır.

Kaynaklar

- Agudelo CF, 2005: Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in cats. *Vet Q*, 27(4), 173-182.
- Blendinger K, Bostedt H, Hoffmann B, 1997: Hormonal state and effects of the use of an antiprogesterin in bitches with pyometra. *J Reprod Fertil*, 51, 317-325.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S16 [ISBN 1-56238-588-7]. Clinical and Laboratory Standards Institute, Pennsylvania, USA.
- Diñç DA, 2005: Karnivorlarda infertilite. In 'Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite.' Ed; Alaçam E, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye.
- Hagman R, 2017: Molecular aspects of uterine diseases in dogs. *Reprod Domest Anim*, 52(3), 37-42.
- Hollinshead F, Krekeler N, 2016: Pyometra in the queen. To spay or not to spay? *J Feline Med Surg*, 18, 21-33.
- Holt BS, Bergström A, Lagerstedt AS, Karlstam E, Englund L, Baverud V, 2003: Characterization of the bacterial population genital tract of adult cats. *Am J Vet Res*, 64, 963-968.
- Lucas SS, Lima de Oliveira AL, Wallau JE, 2000: Pyometra in Dogs and Cats: Review of 103 cases. *Revista da FZVA Uruguiana*, 7, 99-103.
- Machino M, Yukawa Y, Ito K, Nakashima H, Kanbara S, Morita D, Kato F, 2011: Pyogenic Cervical Spondylitis Caused by *Pasteurella haemolytica* Attributed to Excessive Contact With Dogs. *Orthopaedics*, 34(11), 793-795.
- Omaleki L, Browning GF, Allen JL, Barber SR, 2011: The role of *Mannheimia* species in ovine mastitis. *J Vet Mic*, 153, 67-72.
- Sapierzynski RA, Dolka I, Cywinska A, 2009: Multiple pathologies of feline uterus: a case report. *Vet Med*, 52, 345-350.
- Singh K, Ritchey JW, Confer AW, 2011: *Mannheimia haemolytica*: Bacterial-host interactions in bovine pneumonia. *Vet Pathol*, 48(2), 338-348.
- Von Reitzeinstein M, Archbald FL, Newell SM, 2000: Theriogenology question of the month. What are the differential diagnoses for uterine enlargement in this unmated cat? Pyometra, hydrometra or mucametra. *JAVMA*, 216, 1221-1223.
- Yazışma adresi:** Zeynep GÜNAY UÇMAK
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Avcılar, İstanbul.
E-mail: vethekzeynep86@gmail.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.)

