



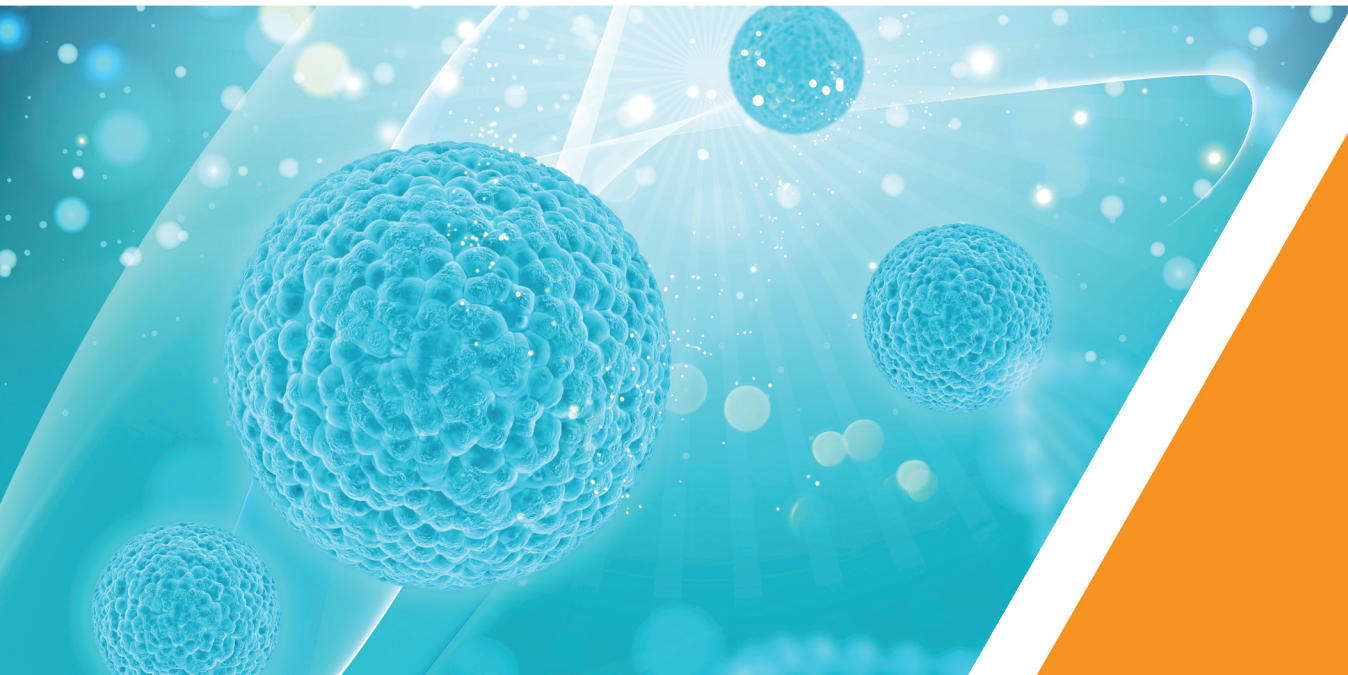
ISSN: 1306-6137  
e-ISSN: 2147-9615

# ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

## Veteriner Bilimleri Dergisi

# ATATURK UNIVERSITY

## Journal of Veterinary Sciences



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

Yıl/Year : 2019

Cilt/Volume : 14

Sayı/Issue : 1

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

**Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University  
Journal of Veterinary Sciences**

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

Nisan/April

Yıl/ Year: 2019

Cilt/Volume: 14

Sayı/Issue: 1



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ  
ISSN: 1306 – 6137 / e-ISSN: 2147 – 9615  
ATATÜRK UNIVERSITY  
JOURNAL OF VETERINARY SCIENCE



## ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

## YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

### Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

## Editör Yardımcıları / Associate Editors

Prof. Dr. Ekrem LAÇİN  
(İstatistik Editörü / *Statistics Editor*)

Doç. Dr. Latif Emrah YANMAZ  
(Yabancı Dil Editörü / *English Editor*)

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

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

Dr. Öğr. Üyesi Hakan AYDIN  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Emin ŞENGÜL  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Serdar ALTUN  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL  
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

## YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS

Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Zekai Halıcı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Mustafa Alişarlı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO

Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND

Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY

Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

Dr. Tanvir Rahman, BANGLADEŞ / BANGLADESH

### Sekreteryaya ve Web Tasarım *Secretariat and Web Design*

Dr. Öğr. Üyesi Serdar ALTUN

### Dizgi *Typesetter*

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL

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

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

### Yazışma Adresi / Correspondence Address

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

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

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

Yıl / Year: 2019

Cilt / Volume: 14

Sayı / Issue : 1

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

- Prof. Dr. Aysun ÇEVİK DEMİRKAN, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Barış SARI, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kars, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Emrullah EKEN, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Konya, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. İbrahim BALKAYA, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. İhsan KELEŞ, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kayseri, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mehmet ÇAY, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Ömer ATALAR, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Samsun, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Seval BİLGE DAĞALP, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Ankara, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Yeliz YILDIRIM, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kayseri, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Aksaray, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Ender DİNÇER, Mersin Üniversitesi, İleri Teknoloji Eğitim Araştırma ve Uygulama Merkezi, Mersin, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Güler YENİCE, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mehmet CAN, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Balıkesir, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Özgür İŞLEYİCİ, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Şebnem PAMUK, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Emin ŞENGÜL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Serkan EROL, Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kastamonu, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Mümin Gökhan ŞENOCAK, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Nergis Ulaş, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Sefa KÜÇÜKLER, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Semin GEDİKLİ, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Tuncay KULOĞLU, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ÖZŞENSOY, Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Sivas, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Zeynep KARAPINAR, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Balıkesir, TÜRKİYE.
- Dr. Afshin TARAVATI, Veterinary Clinical Biochemistry and Clinical Hematology, Rasht University, Rasht, IRAN.
- Dr. Koray ÇELİKELOĞLU, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
- Dr. Sohrab RASOULI, Veterinary Parasitology, Islamic Azad University of Urmia, Urmia, IRAN.

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

▶ <b>Kaveh AZIMZADEH, Mortaza MAHAN, Negar Zamani HERGALANI, Tohid ZAHED.</b> Determination of Possible Potential Biomarker Between Plasma Arginase, Gelsolin and Cystatin C in Sheep Babesiosis: Based on Parasitemia Rate ( <i>Koyun Babesiozisinde Plazma Arginaz, Gelsolin ve Sistatin C Arasında Olası Potansiyel Biyobelirteç Tayini: Parazitemi Oranına Göre</i> ).	1-7
▶ <b>Gülten EMEK TUNA, Serkan BAKIRCI, Ceren DİNLER, Tulin KARAGENC, Bülent ULUTAŞ.</b> Monocytic Ehrlichiosis in Aegean Region Dogs: Clinical and Haematological Findings ( <i>Ege Bölgesindeki Köpeklerde Monositik Ehrlichiosis: Klinik ve Hematolojik Bulgular</i> ).	8-14
▶ <b>Mehmet Aydın AKALAN, Aysun ÇEVİK DEMİRKAN, İsmail TÜRKMENOĞLU, İbrahim DEMİRKAN.</b> Bozdoğan'da ( <i>Falco columbarius</i> ) Plexus lumbosacralis'i Oluşturan Spinal Sinirlerin Makroanatomik Yapısı ( <i>Macroanatomic Structure of Spinal Nerves Forming the Plexus Lumbosacralis in the Merlin (Falco columbarius)</i> ).	15-22
▶ <b>Nasibe Ezgi ERCAN, Ali Haydar KIRMIZIGÜL.</b> Kars'ta Evde Bakılan Kedilerde <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin Yaygınlığı ( <i>Prevalance of Toxoplasma gondii Indoor Cats in Kars</i> ).	23-28
▶ <b>Alper Kürşat DEMİRKAYA, Gülşah GÜNDOĞDU, Yavuz DODURGA, Mücahit SEÇME, Köksal GÜNDOĞDU.</b> Parietinin HepG2 Hepatoselüler Karsinom Hücrelerinde Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Belirlenmesi ( <i>Determination of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Parietin in HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cells</i> ).	29-37
▶ <b>Burcu ONUK, Ahmet ÇOLAK.</b> Ruminant Ön Bacağında Anatomik Modellerin Oluşturulması ( <i>Composing Anatomical Models on Ruminant Forelimb</i> ).	38-44
▶ <b>Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Derviş ÖZDEMİR, Hülya BALKAYA, Hülya KARA.</b> Konya Merinosunun Arteria Celiaca'sı ve Dalları Üzerine Makroanatomik Bir Çalışma ( <i>A Macroanatomical Study on the Arteria Celiaca and Branches of the Konya Merino</i> ).	45-51
▶ <b>Elif ERDEM GÜZEL, Nalan KAYA, Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU, Dürrin Özlem DABAK, Penbe Sema TEMİZER OZAN, İbrahim Enver OZAN.</b> Gebelikte Tütün Dumanı Maruziyetinin Anne Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Alfa Lipoik Asitin Etkilerinin İncelenmesi ( <i>Investigation of the Effects of Alfa Lipoic Acid on Changes in Maternal Rat Kidney Caused by Tobacco Smoke Exposure in Pregnancy</i> ).	52-63
▶ <b>Hamit USLU, Gözde ATILA USLU.</b> <i>Prunus laurocerasus</i> L. Meyve Ekstraktının Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Ülser Karşı Koruyucu Etkisi ( <i>Protective Effect of Prunus laurocerasus L. Fruit Extract Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats</i> ).	64-70
▶ <b>Mehmet Özkan TİMURKAN, Hakan AYDIN.</b> Cirit Atlarında İnfluenza A Virus Enfeksiyonunun Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması ( <i>Investigation of Influenza A Virus Infection by Serological and Molecular Methods in Jereed Horses</i> ).	71-77
▶ <b>Korhan ARSLAN, Fadime DALDABAN, Aytaç AKÇAY, Bilal AKYÜZ.</b> Türkiye'de Yetiştirilen Kasaplık İsviçre Esmeri ve Simental Irkı Sığırlarda Myosin Heavy Chain 8 (MyH8) Gen Ekspresyon Düzeyi ile Canlı Ağırlığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması ( <i>The Relationship of Myosin Heavy Chain 8 (MyH8) Gene Expression Profile of Live Weight in Slaughtered the Simmental and Brown Swiss Cattle Breeds which Reared in Turkey</i> ).	78-84
<b>Olgu Sunumları / Case Reports</b>	
▶ <b>Mahir KAYA, Elif DOĞAN, Zafer OKUMUŞ.</b> Bir Köpekte Rostral Segmental Mandibula Kırığı ve İnterdental Telleme Tekniği ile Sağaltımı ( <i>A Dog of Rostral Segmental Mandibular Fracture and its Treatment via Interdental Loop Wiring Technique</i> ).	85-89
<b>Derlemeler / Reviews</b>	
▶ <b>Halil Doruk KAYNARCA, Canan HECER, Beyza ULUSOY.</b> Mycotoxin Hazard in Meat and Meat Products ( <i>Et ve Et Ürünlerinde Mikotoksin Tehlikesi</i> ).	90-97
▶ <b>Hazel TAMAKAN, Hüban GÖÇMEN.</b> Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP) Taşıyıcılığı ( <i>Transmission of Methicillin Resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) in Cats and Dogs</i> ).	98-106
▶ <b>Serdal KURT, Hatice Esra ÇOLAKOĞLU, Murat Onur YAZLIK, Mehmet Rifat VURAL, Şükrü KÜPLÜLÜ.</b> Sütçü İneklerde Mastitis Yönünden Kuru ve Geçiş Dönemlerinin Önemi ( <i>Importance of Dry and Transitional Period in Terms of Mastitis in Dairy Cows</i> ).	107-113



## Determination of Possible Potential Biomarker Between Plasma Arginase, Gelsolin and Cystatin C in Sheep Babesiosis: Based on Parasitemia Rate

Kaveh AZIMZADEH<sup>1a</sup>, Mortaza MAHAN<sup>2b</sup>, Negar Zamani HERGALANI<sup>3c</sup>, Tohid ZAHED<sup>4d</sup>

1. Young Researcher and Elite Club, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, IRAN.
2. Department of Parasitology, Medicine Faculty, Yuzuncu Yil University, Van, TURKEY.
3. Graduate of Biology, Science Faculty, Urmia University, Urmia, IRAN.
4. Graduate of Veterinary Medicine, Veterinary Faculty, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, IRAN.  
ORCID: 0000-0002-6994-4654<sup>a</sup>, 0000-0002-5186-5667<sup>b</sup>, 0000-0002-4919-1704<sup>c</sup>, 0000-0002-0530-2935<sup>d</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
16.12.2017	25.07.2018	28.04.2019

### Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Azimzadeh K, Mahan M, Zahed T: Determination of possible potential biomarker between plasma Arginase, Gelsolin and Cystatin c in Sheep babesiosis: Based on Parasitemia rate. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 1-7, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.367320

**Abstract:** The aim of this study was to assay arginase activity, gelsolin (GLS) and cystatin c (Cys c) levels and determination of potential biomarker in sheep babesiosis. The *Babesia* genus as pathogen blood parasites causes economic problems in livestock management. Many published studies have suggested babesiosis-induced biochemical parameters, but no one have determined those parameters alterations and clarification of sensitivity and specificity. Sheep with acute babesiosis were identified based on clinical signs and the observation of Piroplasm forms in red blood cells. After blood sampling from 25 infected and same number healthy sheep, above parameters measured in plasma. The results indicated significant increase ( $P<0.01$ ) in arginase and Cys c and significant decreases ( $P<0.01$ ) in the levels of GLS in different parasitemia rates compared with healthy group. In conclusion, the results suggested that sheep babesiosis causes cellular damage especially in kidney (owing to high level of Cys c) and high arginase activity can be considered as one of essential factor in *Babesia ovis* proliferation process. Finally, high sensitivity of Cys c and arginase in the different parasitemia rates than GLS could be clarified as potential biomarker of sheep babesiosis.

**Keywords:** Biochemical parameters, Potential biomarker, Sheep babesiosis.

## Koyun Babeziozisinde Plazma Arginaz, Gelsolin ve Sistatin C Arasında Olası Potansiyel Biyobelirteç Tayini: Parazitemi Oranına Göre

**Öz:** Bu çalışmanın amacı, koyun babeziozisinde arginaz aktivitesi, gelsolin (GLS) ve sistatin c (Cys c) seviyelerini ve potansiyel biyobelirteç tespitini incelemektir. Patojen kan parazitleri olan *Babesia* türleri, hayvancılık yönetiminde ekonomik sorunlara neden olur. Yayımlanan birçok çalışmada babeziozis kaynaklı biyokimyasal parametreler önerilmiş, ancak hiç kimse bu parametrelerdeki duyarlılık ve özgüllüğü ve değişiklikleri açıklığa kavuşturmamıştır. Akut babeziozisli koyunlar, kırmızı kan hücrelerinde Piroplazma formlarının görülmesi ve klinik bulgulara göre belirlendi. Yirmibeş adet enfekte ve aynı sayıda sağlıklı koyunlardan alınan kan örneklemesinden sonra, yukardaki parametreler plazmada ölçüldü. Sonuçlar, arginaz ve Cys c'de anlamlı bir artış ( $P<0.01$ ) ve sağlıklı gruba kıyasla farklı parazitemi oranlarında GLS seviyelerinde anlamlı düşüş ( $P<0.01$ ) gösterdi. Sonuç olarak, koyun babeziozis'inin özellikle böbreklerde (Cys c'nin yüksek olması nedeniyle) hücresel hasara neden olduğunu ve yüksek arginaz aktivitesinin *Babesia ovis* proliferasyon sürecinde önemli bir faktör olarak göz önünde bulundurulabileceğini göstermiştir. Son olarak, GLS 'den farklı parazitemi oranlarında CYS c ve arginaz 'nin yüksek duyarlılığı, koyun Babeziozis 'in potansiyel biyomarkeri olarak göz önünde bulundurulabilir.

**Anhtar Kelimeler:** Biyokimyasal parametreler, Koyun babeziozis, Potansiyel biyomarker.

✉ Kaveh Azimzadeh

Young Researcher and Elite Club, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, IRAN.  
e-mail: kn\_az@yahoo.com

## INTRODUCTION

**B**abesiosis is known as a tick-borne hemoprotozoan disease with host-specific features carried by members of the *Babesia* genus. *Babesia ovis* induces the expression of severe pathogenic traits in sheep and causes sheep babesiosis, which is characterized by fever, anemia, icterus and hemoglobinuria (1,2). *B. ovis* has been observed in most regions of Iran (1). A high prevalence among sheep and goats in north-eastern of Iran was reported by Razmi et al., in 2003 (3). Studies of blood profiles changes in sheep babesiosis are scarce. Several studies have reported babesiosis-induced hematological and biochemical alterations (4,5) but no study has been conducted in this issue.

Arginase is known as essential enzyme in degradation of L-arginine to L-ornithine and urea and participates in polyamines biosynthesis and ornithine (6,7). Arginase possesses two distinct isoforms, arginase I and II. These two arginases indirectly regulate nitric oxide (NO) generation from nitric oxide synthase (NOS) (8,9). The depletion of arginine as essential substrate of arginase during activity of arginase, points out as limiting factor in the NO synthesis. Moreover, during arginase activity, L-ornithine synthesis as the precursor of L-glutamine and L-proline is elevated through the ornithine decarboxylase pathway (8). In addition, L-arginine depletion, through arginase, leads to T cell proliferation impeding (10). It is mentioning that in blood parasites diseases, polyamines simplify DNA and trypanothione synthesis, which recent one is substantial for intracellular redox system along with maintaining and presenting a defense against oxidative stress (11). Hence, elevated activity of arginase may participate to damage of host immune response and desirable for blood parasite proliferation. It should be noted that different factors such as reactive oxygen species, pro-inflammatory cytokines, and hypoxia induce high activity of arginase and leads to synthesis of high level of L-ornithine (12).

Gelsolin (GLS) belongs to proteins (82kd molecular weight) that can be found in the body, extracellular (plasma) and intracellular (cytoplasm and mitochondria). It was identified first time in 1979 in rabbit lung macrophages. GLS is known as actin-binding protein that involves in the removal of extracellular actin subsequently tissue damage (13). Various studies show that GLS participates in cell movement, regulation of apoptosis, regulation of tumorigenesis and removal of actin from blood and is proposed as prognostic marker (14,15).

Cystatin c is a small protein with a weight of 13 KD that belongs to cysteine protease inhibitors. This protein is continuously produced in all nucleated cells and released into the bloodstream and its half-life is 2 hours (16,17). This protein is independently filtered by glomeruli in the kidneys and re-absorbed and re-catalyzed in proximal tubules (18). Cystatin C has been known as the most valuable serum biomarker in determining renal function, and is especially a good choice for knowing the glomerular filtration rate (GFR) (19,20). Additionally, there is no change in Cys-C levels in different conditions, such as inflammation, infection, or malignancies (19). It should be noted that factors such as sex, age, diet, and body mass affect the concentration of creatinine, but does not affect Cys-C levels (19). It should be noted that in veterinary medicine, several studies have reported the importance of C-Cys as a valuable marker for assessing kidney function in dogs (21,22). But no study has been reported regarding cystatin c changes in sheep babesiosis.

To our knowledge, this study admittedly first one in respect of clarification of potential biomarker among Cys c, GLS (tissue damage marker) and arginase in sheep babesiosis.

## MATERIAL and METHODS

### Animals, Blood Sampling, Parasitological Examination and Biochemistry Analysis

This study was conducted in western Azerbaijan province (North west of Iran) in 2015 (from May to August) where *B.ovis* causes severe babesiosis in sheep. (Ethical Committee Decision Number: 2018-2/13/4402). Fifty sheep (25 babesiosis and 25 healthy ones) were appointed in this study. The animals (25 babesiosis sheep) were examined for the presence of ticks and clinical signs including hyperthermia (39.9-40.8), anorexia, petechial bleeding, icterus, hemoglobinuria and anemia, which is associated with pallor of the mucosal membrane. Blood samples were collected via the jugular vein and blood smear staining was performed with Giemsa solution 5%. Microscopic examination in the immersion objective (X100) revealed *Piroplasm*s in the same 25 sheep. The other 25 sheep without any clinical or paraclinical signs of babesiosis were selected as the healthy group. Parasitemia determination (as percentage) was performed by counting of infected red blood cells (RBCs) in 100 microscopic fields in the immersion objective (X100) (<1%, 1%, 2% and 3%) (23). After blood sampling and transferring to EDTA-contained tubes, plasma samples were prepared by centrifugation at 6000 RPM for 10 minutes at 4°C. The measurement of GLS and Cys c were performed by Elisa technique (Elisa, RA1000). Determination of plasma gelsolin with (Antibodies online Co kit, Germany), Cys-c with a dedicated kit (Mybiosource, San Diego, USA) and arginase activity was determined through modified method of thiosemicarbazide Diacetyl Monoxime Urea (TDMU) (39). (Spectrophotometer, Cecil, Italy).

### Statistical Analysis

Statistical analysis was performed for all of the data completed during the study. The Mean  $\pm$  SEM and ANOVA analysis were carried out with SAS v9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The significance level was specified at  $P < 0.01$ . In addition, cut-off

points of parameters were clarified and ROC analysis (Receiver Operating Characteristic) was carried out for sensitivity and specificity determination.

## RESULTS

The results have been denoted in Tables 1, 2, 3, 4 and 5. In the Table 1, the significant increase ( $P < 0.01$ ) of arginase activity and Cys c and remarkable reduction ( $P < 0.01$ ) of GLS were obtained in babesiosis group in comparison with control ones. Moreover, the same results were observed in different parasitemia rates. In Tables 2, 3, 4 and 5 high sensitivity of arginase and Cys c was demonstrated than GLS in different parasitemia rates.

**Table 1.** Alterations of Arginase, GLS and Cys c in the Babesiosis and healthy group based on parasitemia rate.

**Tablo 1.** Babesiosisli ve sağlıklı grupta parazitemi oranlarına göre Arginaz, GLS ve CYC c'deki değişimler.

Parasitemia rate (%)	GLS (mg/L)	Arginase (U/L)	Cys-c (ng/ml)
Healthy group number (25) 0%	219.89 $\pm$ 7.41	6.36 $\pm$ 0.09	8.02 $\pm$ 0.1
Babesiosis group less than 1% (5)	128.71 $\pm$ 2.12 <sup>*</sup>	23.87 $\pm$ 0.51 <sup>*</sup>	17.31 $\pm$ 0.73 <sup>*</sup>
1% (11)	62.85 $\pm$ 1.07 <sup>*</sup>	41.37 $\pm$ 0.71 <sup>*</sup>	36.56 $\pm$ 1.89 <sup>*</sup>
2% (6)	25.81 $\pm$ 1.13 <sup>*</sup>	69.11 $\pm$ 2.01 <sup>*</sup>	51.50 $\pm$ 2.04 <sup>*</sup>
3% (3)	3.16 $\pm$ 0.22 <sup>*</sup>	112.15 $\pm$ 2.28 <sup>*</sup>	95.78 $\pm$ 2.17 <sup>*</sup>

Data are expressed as mean  $\pm$  standard error of mean (SEM). Upper superscript in the column denote significant difference among groups ( $P < 0.01$ ).

**Table 2.** In less than 1% parasitemia rate, Arginase and Cys c sensitivity are higher than GLS.

**Tablo 2.** % 1'den az parazitemi oranında Arjinaz ve Cys c sensitivitesi GLS'den daha yüksektir.

Parameter	Cut-off point	AUC	P value	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Arginase	11.49	1	0.0001	95.5-98	100
Cys c	5.12	1	0.0001	97	100
GLS	94.63	1	0.0001	79-82.5	100

**Table 3.** In 1% parasitemia rate, Arginase and Cys c sensitivity are higher than GLS.

**Tablo 3.** %1 parazitemi oranında, Arjinaz ve Cys c sensitivitesi GLS'den daha yüksektir.

Parameter	Cut-off point	AUC	P value	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Arginase	18.06	1	0.0001	96-97.5	100
Cys c	11.84	1	0.0001	96.5-97	100
GLS	65.12	1	0.0001	76-81	100



**Table 4.** In 2% parasitemia rate, arginase and Cys c sensitivity are higher than GLS.

**Tablo 4.** %2 parasitemi oranında, Arjinaz ve Cys c sensitivitesi GLS'den daha yüksektir.

Parameter	Cut-off point	AUC	P value	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Arginase	32.49	1	0.0001	97-99	100
Cys c	19.28	1	0.0001	96-97.5	100
GLS	31.53	1	0.0001	80-82.5	100

**Table 5.** In 3% parasitemia rate, Arginase and Cys c sensitivity are higher than GLS.

**Tablo 5.** %3 parasitemi oranında, Arjinaz ve Cys c sensitivitesi GLS'den daha yüksektir.

Parameter	Cut-off point	AUC	P value	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Arginase	53.89	1	0.0001	98	100
Cys c	28.63	1	0.0001	97.5-99	100
GLS	14.38	1	0.0001	78-83.5	100

## DISCUSSION and CONCLUSION

In babesiosis group arginase activity was high compared with healthy ones. Various factors play fundamental role in high arginase activity, such as high production of reactive oxygen species (ROS) (oxidative stress), high levels of inflammatory cytokines and hypoxia (11). In a study, oxidative stress occurrence was referred in ovine babesiosis (24) and hypoxia occurrence has been determined in sheep babesiosis (1). In addition, high concentration of pro-inflammatory cytokines has been determined in canine babesiosis (25). According to foregoing, most probably owing to babesiosis-mediated hypoxia and oxidative stress, high activity of arginase was occurred in this study and leads to high production of L-ornithine which is known as one of the main substrates of *Babesia ovis* proliferation. One of the other possible reasons on this increase can be attributed to liver damage, due to existence of high amount of arginase therein and as well as during occurrence of babesiosis in sheep, liver damage is an inevitable symptom (26). Meanwhile, high activity of arginase may ascribe to hyperactive macrophage, as essential source of arginase in blood (27). Following trypanosome-infected mice, macrophages reveal a greater increase in arginase expression than those from resistant animals (28). Moreover, high plasma arginase has been reported in acute hepatitis B,

resulting suppression of T cell function, in several cancers (29-32). According to forenamed reasons, high activity of plasma arginase can play tremendous role in parasite proliferation and/or immune response perturbation.

Gelsolin (GLS) is known as actin binding protein which eliminates and minimizes blood actin which is subsequently produced during various diseases induced tissue damage especially hematologic ones, either directly (affects the blood cells) or indirectly (involvement in organs involved in hematopoiesis). Excessive release of actin into the blood, leads to a remarkable reduction of GLS which is not appropriate prognosis for amelioration of disease. So we can say that plasma GLS is associated with the disease severity and prognosis and therefore, it is under consideration as a prognostic indicator in acute diseases. Also, in patients with pneumonia, fever and seizure GLS value decreases, which indicates that some factors other than hemolysis can also reduce the GLS concentration (33,34). In this study, plasma GLS decreased in babesiosis group (especially in high parasitemia rate group, more than 4 percent) than healthy ones. In a study, GLS reduction was observed in hepatitis B patients and they reported it as possible diagnostic biomarker for detection of severity of hepatic injury (33). Furthermore, GLS reduction demonstrated during brain hemorrhage (34). Since GLS reduction in plasma occurred following actin increase in the blood, thus most likely it can be said that during babesiosis infection, cell damage occurred in various tissues, especially in the kidneys and finally, this mechanism increases the synthesis and secretion of GLS into blood to inhibit actin which led to a reduction in the plasma GLS in babesiosis. These findings correspond with the results of our research.

By assessing the serum Cys c levels in healthy and diseased groups based on parasitemia rates, we found that the mean serum level of this parameter in the sheep was higher than healthy group and the severity of parasitemia had an incremental effect.

There is no study on this parameter in sheep babesiosis, but in one report in dogs with leishmaniasis, Cys c level was increased in comparison to the healthy group (35). In another study, lack of significant changes of Cys c was reported in dogs with dirofilariasis (36). Same author in 2015 reported a significant increase in Cys c in dog babesiosis and leishmaniasis, and even demonstrated Cys c as a new biomarker in early detection of renal injury in dogs with these two diseases (37) and finally Azimzadeh in 2017 (38) reported high Cys c level in sheep theileriosis with different parasitemia rates. Since blood parasites such as Leishmania, causes tissue damage by forming immune-complexes (immunopathologic mechanisms), especially in the kidney, it is likely that sheep babesiosis causes kidney damage by forming immune complexes (especially kidney glomeruli) and eventually leads to an increase in Cys c in serum. As a result, babesiosis mediated kidney damage causes high level of Cys c and can influence on reduction of GLS (for the removal of actin released from damaged cells). It also should be noted that with increasing of parasitemia severity, serum changes in the above parameters have been tightened and high activity of arginase can participate in impairment of immune system (especially T cells) and induction of parasite proliferation. Finally, high sensitivity of arginase and Cys c than GLS can be considered as potential diagnostic biomarker in sheep babesiosis.

## REFERENCES

1. Rahbari S., Nabian S., Khaki Z., Alidadi N., Ashrafihelan J., 2008. Clinical, haematologic and pathologic aspects of experimental ovine babesiosis in Iran. *Iran J Vet Res*, 9, 59-64.
2. Yur F., Yazar M., Değer Y., Dede S., 2010. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase activity in sheep with natural babesiosis. *Acta Vet Brno*, 79, 233-236.
3. Razmi GR., Naghibi A., Aslani MR., Dastjerdi K., Hosseini H., 2003. An epidemiological study on *Babesia* infection in small ruminants in Mashhad suburb, Khorasan province, Iran. *Small Rumin Res*, 50, 39-44.
4. Apaydin B., Dede S., 2010. Electrophoretic profile of serum protein fractions from sheep naturally infected with *Babesia ovis*. *Rev Med Vet*, 161, 57-60.
5. Shen K., Ji Y., Chen GQ., Huang B., Zhang X., Wu S., Yu GP., Wang XC., 2011. Expression and clinical significance of the NDA repair enzyme MYH in esophageal squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med*, 2, 1117-1120.
6. Cederbaum SD., Yu H., Grody WW., Kern RM., Yoo P., Iyer RK., 2004. Arginases I and II: do their functions overlap? *Mol Genet Metab*, 81 (Suppl 1): S38-S44.
7. Na S., Kim OS., Ryoo S., Kweon TD., Choi YS., Shim HS., Oh YJ., 2014. Cervical ganglion block attenuates the progression of pulmonary hypertension via nitric oxide and arginase pathways. *Hypertension*, 63, 309-315.
8. Yang J., Gonon AT., Sjöquist PO., Lundberg JO., Pernow J., 2013. Arginase regulates red blood cell nitric oxide synthase and export of cardioprotective nitric oxide bioactivity. *Proc Natl Acad Sci*, 110, 15049-15054.
9. Grohmann U., Bronte V., 2010. Control of immune response by amino acid metabolism. *Immunol Rev*, 236, 243-264.
10. Fairlamb AH., Cerami A., 1992. Metabolism and functions of trypanothione in the Kinetoplastida. *Annu Rev Microbiol*, 46, 695-729.
11. Durante W., Johnson FK., Johnson RA., 2007. Arginase: A critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 34, 906-911.
12. Young CL., Feierstein A., Southwick FS., 1994. Calcium regulation of actin filament capping and monomer binding by macrophage capping protein. *J Biol Chem* 269, 13997-14002.
13. Hui QS., Masaya Y., Marisan M., Yin HL., 1999. Gelsolin, a multifunctional actin regulatory protein. *J Biol Chem*, 274, 33179-33182.

14. Hu Y., Li H., Li WH., Meng HX., Fan YZ., 2013. The value of decreased plasma gelsolin levels in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in diagnosis and disease activity evaluation. *Lupus*, 22, 1455-1461.
15. Marrocco C., Rinalducci S., Mohamadkhani A., D'Amici GM., Zolla L., 2010. Plasma gelsolin protein: a candidate biomarker for hepatitis B-associated liver cirrhosis identified by proteomic approach. *Blood Trans*, 8, 105-112.
16. Villa P., Jimenez M., Soriano MC., Manzanares J., Casasnovas P., 2005. Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients. *Crit Care*, 9, 139-143.
17. Filler G., Bokenkamp A., Hofmann W., Le Bricon T., Martinez-Bru C., 2005. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. *Clin Biochem*, 38, 1-8.
18. Antognoni MT., Siepi D., Porciello F., Rueca F., Fruganti G., 2007. Serum Cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. *Vet Res Commun*, 31, 269-271.
19. Lassus J., Harjola VP., 2012. Cystatin C. a step forward in assessing kidney function and cardiovascular risk. *Heart Fail Rev*, 17, 251-261.
20. Hergert-Rosenthal S., Bökenkamp A., Hofmann W., 2007. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations? *Clin Biochem*, 40, 153-161.
21. Jensen AL., Bomholt M., Moe L., 2001. Preliminary evaluation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay (PETIA) for the determination of serum cystatin C-like immunoreactivity in dogs. *Vet Clin Path*, 30, 86-90.
22. Almy FS., Christopher MM., King DP., Brown SA., 2002. Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. *J Vet Intern Med*, 16, 45-51.
23. Sevinc F., Turgut K., Sevinc M., 2007. Therapeutic and prophylactic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental *Babesia ovis* infection of lambs. *Vet Parasitol*, 149, 65-71.
24. Azimzadeh K., Nouri K., Farooghi H., Rasouli S., Zamani N., 2013. Plasma malondialdehyde, thyroid hormones and some blood profiles in ovine Babesiosis. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 19, 489-493.
25. Goddard A., Leisewitz AL., Kjelgaard-Hansen M., Kristensen AT., Schoeman JP., 2016. Excessive Pro-inflammatory serum Cytokine concentrations in virulent canine babesiosis. *PLoS ONE*, 11, e0150113.
26. Esmailnejad B., Tavassoli M., Siamak Asri-Rezaei., 2012. Investigation of hematological and biochemical parameters in small ruminants naturally infected with *Babesia ovis*. *Vet Res Forum*, 3, 31-36.
27. Gobert A., Daulouede S., Lepoivre M., Boucher J., Bouteille B., Buguet A., Cespuglio R., Veyret B., Vincendeau P., 2000. L-Arginine availability modulates local nitric oxide production and parasite killing in experimental trypanosomiasis. *Infect Immun*, 68, 4653-4657.
28. Duleu S., Vincendeau P., Courtois P., Semballa S., Lagroye I., Daulouède S., Boucher J., 2004. Mouse strain susceptibility to trypanosome infection: an arginase-dependent effect. *J Immunol*, 172, 6298-6303.
29. Sandalova E., Laccabue D., Boni C., Watanabe T., Tan A., Zong HZ., Ferrari C., 2012. Increased levels of arginase in patients with acute hepatitis B suppress antiviral T cells. *Gastroenterol*, 143, 78-87.
30. Abebe T., Hailu A., Woldeyes M., Mekonen W., Bilcha K., Cloke T., Fry L., 2012. Local increase of arginase activity in lesions of patients with cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. *PLoS Negl Trop Dis*, 6, e1684.
31. De Boniface J., Mao Y., Schmidt-Mende J., Kiessling R., Poschke I., 2012. Expression patterns of the immunomodulatory enzyme arginase I in blood, lymph nodes and tumor tissue of early-stage breast cancer patients. *Oncoimmunology*,

- 1, 1305-1312.
32. Perez G., Olivares IM., Rodriguez MG., Ceballos GM., Garcia Sanchez JR., 2012. Arginase activity in patients with breast cancer: an analysis of plasma, tumors, and its relationship with the presence of the estrogen receptor. *Onkologie*, 35, 570-574.
  33. Mei L., Zheng S., Shengbin X., Enyun S., 2014. Predictive value of serum gelsolin in hepatitis B virus (HBV)-related chronic liver disease. *African J Biotechnol*, 11, 4640-4645.
  34. Zhao DQ., Wang K., Zhang HD., Li YJ., 2013. Significant reduction of plasma gelsolin levels in patients with intracerebral hemorrhage. *Clin Chim Acta*, 415, 202-206.
  35. Pasa S., Bayramli G., Atasoy A., Karul A., Ertug S., Ozensoy Toz S., 2009. Evaluation of serum cystatin-C in dogs with visceral leishmaniasis. *Vet Res Commun*, 33, 529-534.
  36. Pekmezci D., Guzel M., Yildirim A., Ciftci G., Pekmezci G.Z., Tutuncu, M., 2015a. Evaluation of serum cystatin-C concentrations in dogs infected with *Dirofilaria immitis*. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 62, 303-306.
  37. Pekmezci D., Ural K., Aysul N., Guzel M., Ciftci G., 2015. Assessment of renal function using canine cystatin- C levels in canine babesiosis and ehrlichiosis. *Acta Vet-Beograd*, 65, 56-65.
  38. Azimzadeh K., Izadmehr S., 2017. Evaluation of plasma hepcidin, cystatin c and gelsolin in ovine Theileriosis (Ghezel breed) based on age and parasitemia rate. *J Vet Clin Pathol*, 11, 1-11.
  39. Ahi S., Meram I., Ozdemir Y., 1999. Human serum arginase activity was measured by a sensitive enzyme properties and development of the method. *Erciyes Med J*, 21, 3-9.





## Monocytic Ehrlichiosis in Aegean Region Dogs: Clinical and Haematological Findings

Gülten EMEK TUNA<sup>1a</sup>, Serkan BAKIRCI<sup>2b</sup>, Ceren DİNLER<sup>3c</sup>, Tulin KARAGENC<sup>4d</sup>,  
Bülent ULUTAŞ<sup>5e</sup>

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

2. Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Aydın/TURKEY

ORCID: 0000-0002-9729-8813<sup>a</sup>, 0000-0002-6033-220<sup>b</sup>, 0000-0002-0706-1856<sup>c</sup>, 0000-0002-5843-1730<sup>d</sup>, 0000-0002-8399-7082<sup>e</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
24.01.2018	14.08.2018	29.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Tuna GE, Bakirci S, Dinler C, Karagenc T, Ulutas B:** Monocytic Ehrlichiosis in Aegean Region Dogs: Clinical and Haematological Findings. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 8-14, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.383253

**Abstract:** The objective of the present study was to evaluate clinical and haematological findings among 63 dogs solely diagnosed canine monocytic ehrlichiosis (CME) within IFAT application. For this purpose; age, breed, sex, anti-parasitic drug application, living environment, the presence of tick and general condition of the dogs were noticed, clinical and haematological variables were determined. Fourteen out of 63 (22.22%) dogs were regularly treated with anti-parasitic drugs while other 49 dogs (77.77%) were irregularly treated with anti-parasitic drugs. Forty-two (66.66%) of the dogs were living on garden conditions while 21 (33.33%) of the dogs were living in the house and 36 (57.14%) of the dogs had tick found on clinical referral. The most commonly observed clinical signs were anorexia (87.30%), lymphadenopathy (80.95%), pale mucous membranes (47.61%) and fever (42.85 %). Besides tachypnoea (36.50%), tachyarrhythmia (34.92%), haemorrhagia (22.22%), eye lesions (22.22%), skin lesions (7.93%), neurological signs (3.17%) and arthritis (19.04%) were other observed clinical signs. Thrombocytopenia (63.49%) and anaemia (46.03%) were most commonly detected haematological findings. In conclusion, it was suggested that CME was prevalent in our region and CME must be taken into consideration among dogs presenting aforementioned clinical and haematological findings.

**Keywords:** *Ehrlichia canis*, Dog, Haematological and clinical findings.

## Ege Bölgesindeki Köpeklerde Monositik Ehrlichiosis: Klinik ve Hematolojik Bulgular

**Öz:** Bu çalışmanın amacı IFAT uygulaması ile sadece köpek monositik ehrlichiosis (KME) tanısı konulmuş 63 köpekteki klinik ve hematolojik bulguların değerlendirilmesidir. Bu amaçla; yaş, ırk, cinsiyet, anti-paraziter ilaç uygulamaları, yaşadığı ortam, kene varlığı ve genel durumla ilgili bilgiler kaydedilip, klinik ve hematolojik değişkenler belirlendi. Altmış üç köpektten 14'ünde (%22.2) anti-paraziter ilaç uygulamaları düzenliken, 49 (%77.7) köpekte ise anti-paraziter ilaç uygulamaları düzensizdi. Köpeklerden 42'sinin (%66.6) bahçe ortamında, 21'inin (%33.3) ev ortamında yaşadığı ve 36 köpeğin (%57.1) kliniğe getirildiğinde üzerinde kene olduğu belirlendi. En sık gözlenen klinik bulgular; anoreksi (%87.30), lenfadenopati (%80.95), soluk mukoz membranlar (%47.61) ve ateş olarak tespit edilmiştir (%42.85). Ayrıca, Taşipne (%36.50), taşiaritmi (%34.92), hemoraji (%22.22), göz lezyonu (%22.22), deri lezyonu (%7.93), nörolojik bulgular (%3.17) ve arthritis (%19.04) gözlemlenen diğer klinik bulgular olarak belirlendi. Trombositopeni (%63.49) ve anemi (%46.03) en yaygın belirlenen hematolojik bulgular olarak dikkat çekmiştir. Sonuç olarak bölgemizde KME'in yaygın olarak görüldüğü ve yukarıda belirtilen klinik ve hematolojik bulguların birlikte görüldüğü köpeklerde KME'inde dikkate alınması gerektiği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** *Ehrlichia canis*, Hematolojik ve klinik bulgular, Köpek.

✉ Gülten Emek TUNA

Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, 09000 Aydın, TURKEY.  
e-mail: emektuna@adu.edu.tr

## INTRODUCTION

Tick-borne bacteria and parasites are significant pathogens of domestic dogs and potentially are of public health significance. *Ehrlichia canis* (*E.canis*), a Gram-negative obligate intracellular bacterium is the primary causative agent of canine monocytic ehrlichiosis (CME) (1-3). The agent is predominantly transmitted by the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (2,3).

Canine monocytic ehrlichiosis is an important canine disease with a worldwide distribution. CME has been reported throughout the world, with a higher frequency in tropical and subtropical regions (1-3). CME results in a variety of acute, chronic or subclinical syndromes with different phases of the disease course and multiple clinical manifestations. Clinical manifestations of the disease often include fever, pale mucous membranes, depression, anorexia, haemorrhagia, weight loss and ocular signs (2,4,5). Laboratory findings most frequently determined are thrombocytopenia, leukopenia, anaemia, and hypergammaglobulinemia (4,6,7). All breeds may be infected with *E. canis*. However, the German Shepherd Dogs seems to be more prone to develop clinical CME (4).

The epidemiology of canine ehrlichiosis has been widely reported. However, concerning the clinical and haematological analysis of canine monocytic ehrlichiosis, little is documented in the veterinary literature in Turkey. The objective of this study was to evaluate clinical and haematology findings in Aegean Region for *E. canis*.

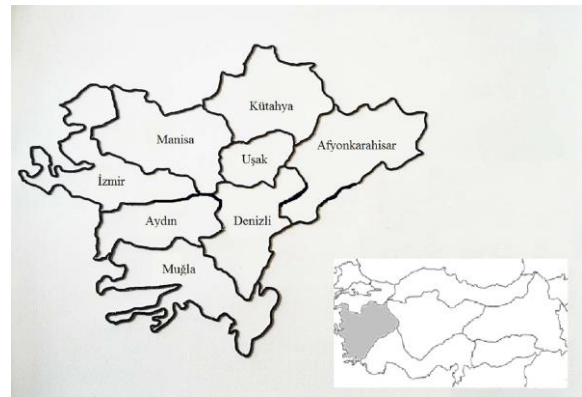
## MATERIALS AND METHODS

### Animal Design

This study was approved and performed under the guidelines of Ethics Committee for Animal Use of University of Adnan Menderes (B.30.2.ADÜ.0.06.00.00/124-HEK/2006/0058).

Two hundred twenty-four dogs, of various breed and both sexes, admitted to the Department

of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, the University of Adnan Menderes for vaccination, clinical examination and therapy applications were enrolled in this study. All of the animals were from the Aegean region of Turkey (Aydın, İzmir, Denizli, Muğla, Manisa) (Figure 1) and all dogs were owned. The age, breed, sex, anti-parasitic drug application, living area, the presence of tick and general condition of the dogs were noticed.



**Figure 1.** Geographical locations where dogs were sampled.

**Şekil 1.** Köpeklerin örneklendiği coğrafi lokasyonlar.

A total of 81 dogs were detected in exposed to *E. canis* as determined by indirect fluorescent antibody test (IFAT) application. Among those 81 dogs, only 63 of them were solely infected with *E. canis*. Other 18 dogs co-infected with *Leishmania infantum*, *Babesia canis* and *Hepatozoon canis* were excluded from the study.

### Haematology

After the puncture of the vena cephalica antibrachii, blood samples were collected into serum separator, and EDTA-treated glass tubes from above mentioned 224 dogs. Blood cell counts were immediately determined partially from EDTA sampled whole blood. Another part of EDTA-treated

samples was then used for necessary PCR analysis. Serum samples were obtained after clotting (at room temperature for 1 hour) and centrifugation (3000g for 10 minutes at room temperature) then stored at -200 C until analysis.

Haematological examination (Erythrocyte count, haemoglobin concentration, haematocrit, leukocyte and platelet count) were performed using the Abacus Junior Vet haematology cell counter (Diatron MI Ltd, Hungary).

### Serology and PCR amplification

IFAT was used to detect *E. canis* IgG antibodies. The latter technique was applied according to the manufacturer's recommendations (VMRD® Pullman, USA). Sera were diluted at 1:100 in saline solution and the used conjugate was a rabbit IgG anti-dog IgG, diluted in 0.01% concentrated Evans Blue (Sigma-Aldrich E0133, Saint Louis, USA). PBS according to the manufacturer's recommendations (8).

*Leishmania infantum*, *Babesia canis* and *Hepatozoon canis* were detected by IFAT, Polymerase Chain Reaction (PCR), IFAT, respectively, applied as previously described (9,10,11).

### Statistical Analysis

Descriptive statistics were used to determine the frequency of the variable occurrences. For this purpose, data were analysed using the SPSS version 19.0 for Windows (Statistical Package for the Social Sciences, IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, ABD).

### RESULTS

In the present study 63 *E. canis* seropositive dogs, of various breed and age, were analysed throughout clinical and haematological signs. Dogs were evaluated according to the characteristic such as breed, age, sex, living environment, anti-parasitic applications and tick presence (Table 1). Among *E. canis* seropositive dogs most commonly represented breeds were crossbred, followed by Rottweiler (n=7) and Terrier (n=7) (Table 1). Fourteen out of 63

(22.22%) dogs were frequently treated with antiparasitic drugs while other 49 dogs (77.77%) were infrequently treated with antiparasitic drugs (Table 1). Forty-two (66.66%) of the dogs were living on garden conditions while 21 (33.33%) of the dogs were living in the house and only roaming outside for urination and exercise (Table 1). Thirty-six (57.14%) of the dogs had tick found on clinical referral whereas 27 (42.85%) dogs showed no presence of tick (Table 1). Among those dogs 40 (63.49%) were male, and 51 (80.95%) of them were below one year of age (Table 1).

**Table 1.** Demographic characteristics and risk factors in *E. canis* seropositive 63 dogs.

**Tablo 1.** *E. canis* seropozitif 63 köpekteki demografik özellikler ve risk faktörleri.

Demographic characteristics and risk factors				
	n	%	Breed	n
Age			Crossbreed	15
< 1	12/63	19.04	Rottweiler	7
≥ 1	51/63	80.95	Terrier	7
			Golden	6
Sex			Retriever	
Male	40/63	63.49	Kangal	6
Female	23/63	36.50	German	5
			Shepherd	
			English	3
Living environment			Pointer	
House	21/63	33.33	Boxer	3
Garden	42/63	66.66	Cooker	3
			Russian	2
Antiparasitic application			Lapdog	
Frequently	14/63	22.22	Chow Chow	1
Infrequently	49/63	77.77	English	1
			Setter	
			Labrador	1
Presence of tick			Retriever	
Existent	36/63	57.14	Poodle	1
Nonexistent	27/63	42.85	Siberian	1
			Husky	
			Tibetan	1
			Spaniel	

Apparent clinical signs among 63 naturally *E. canis* infected dogs were presented in Table 2. Fifty-four out of 63 dogs referred to the clinic with at least one of the clinical signs as follows; anorexia, depression, lethargy, weight loss, rhinorrhagia, gum



haemorrhage, lameness, rash, scaling, pruritus and vomiting. Nine other dogs were referred for routine health controls and vaccinations. The most commonly observed clinical signs were Anorexia (55/63, 87.30%), lymphadenopathy (51/63, 80.95%), pale mucous membranes (30/63, 47.61%) and fever (27/63, 42.85%). Besides tachypnoea (23/63, 36.50%), tachyarrhythmia (10/63, 15.87%), haemorrhagia (14/63, 22.22%), eye lesions (14/63, 22.22%), skin lesions (5/63, 7.93%), neurological signs (2/63, 3.17%) and arthritis (12/63, 19.04%) other observed clinical signs (Table 2).

**Table 2.** Clinical and haematological findings in 63 *E. canis* seropositive dogs.

**Table 2.** *E. canis* seropozitif 63 köpekteki klinik ve hematolojik bulgular.

Clinical Signs	n	%
Anorexia	55	87.30
Lymphadenopathy	51	80.95
Pale mucose membranes	30	47.61
Fever	27	42.85
Tachypnoea	23	36.50
Eye lesions	14	22.22
Haemorrhagia	14	22.22
Arthritis	12	19.04
Tachyarrhythmia	10	15.87
Skin lesions	5	7.93
Neurological signs	2	3.17
<b>Haematological findings</b>		
Thrombocytopenia	40	%63.49
Anaemia	29	%46.03
Pancytopenia	14	%22.22
Leucocytosis	9	%14.28
Leukopenia	5	%7.63

Haematological results were presented in Table 2. Thrombocytopenia (40/63, 63.49%) and anaemia (29/63, 46.03%) were most commonly detected haematological analysis results. Besides pancytopenia was observed 14 out of 63 dogs (22.22%) while leucocytosis and leukopenia were determined in 9 (14.28%) and 5 (7.63%) dogs, respectively.

## DISCUSSION and CONCLUSION

*Ehrlichia canis*, the most important species of *Ehrlichia* in canine species, is the etiological agent

responsible for canine monocytic ehrlichiosis worldwide. The presence of the disease has been reported in Asia, Africa, Europe and America continents (12-15). Several studies regarding ehrlichiosis have been reported in several parts of Turkey (16-19), in which most of them were seroprevalence studies. Concerning clinical and haematological analysis of canine monocytic ehrlichiosis, little is documented in the veterinary literature especially in Turkey.

To compare clinical features and assess risk factors for canine monocytic ehrlichiosis we enrolled owned cases in which most of them were infected with ticks. Parasitism by *R. sanguineus* is a well-known risk factor for ehrlichiosis (7), and dogs infected with ticks showed a higher risk for seropositivity against canine ehrlichiosis (1,5,7,20). In our study among 63 *E. canis* seropositive dogs, 49 were infrequently medicated with ectoparasitic drugs. In our opinion, infrequent antiparasitic applications result in higher risk for tick exposure. Therefore a total of 36 dogs (57.14%) showed tick presence on referral. Clinical and demographic characteristics were assessed for cases with laboratory-confirmed cases of CME, and risk factors were evaluated. A previous study reported that dogs living outside showed a greater incidence and seropositivity in contrast to dogs living at home (21). In our study among seropositive dogs, 42 were living on garden conditions whereas 21 of them were living at home. We suggest that living outside may cause a greater exposure the ticks, therefore, a higher risk for *E. canis* infection.

Slightly male dogs were more frequently affected than female dogs in the current study. We may suggest that this difference may be due to gender popularity rather than a true predisposition for CME. According to some researchers (12,21), sex predilection has no significant influence on CME. In the present study among *E. canis* seropositive dogs, 63.49% were male, and we showed that male dogs were more prone to *E. canis* infection in contrast to female dogs. All dog breeds may be infected with

CME. Indeed German Shepherd dogs were more prone to this disease (22). In our study, *E. canis* seropositive dogs showed a great breed distribution. The most commonly represented dogs were crossbred which were followed by Rottweiler and Terrier breed.

The most commonly represented clinical signs in this study showed similarity to those previously reported in CME (3-5,7). Anorexia, lymphadenopathy, pale mucous membranes and fever occurred more frequently in our cases. CME may cause variable and non-specific clinical signs, which makes the diagnosis more challenging. Several factors might cause this condition such as *E. canis* strain pathogenicity, immune status of the host, dose of the infectious organism and stages of the disease (2,13).

Ocular signs may be presented in all clinical phases of CME as accompanying clinical manifestations of this disease, indeed may also be the only presenting complaint (23,24). Eye lesions such as keratitis, uveitis and retinal haemorrhagia were observed in a total of 14 (22.22%) dogs in the present study. Regarding pathogenesis of ocular lesions in association with CME has not been investigated. However, CME is frequently associated with thrombocytopenia and widespread immune complex formation/deposition (23,24). Intraocular inflammation caused by immune-mediated mechanisms and bleeding tendencies due to thrombocytopenia may lead to ocular lesions in CME.

Thrombocytopenia and anaemia most common clinical signs in this study and showed similarity to those previously reported by Rodriguez- Vivas et al. (13), Borin et al. (25), M'Ghirbi et al. (6), Carlos et al., (7). Thrombocytopenia is observed in the all stage of the disease but in the chronic phase; thrombocytopenia is more severe as a result of bone marrow hypoplasia (2,26). Thrombocytopenia may be due to destruction and consumption of platelets, increased hepatic or splenic platelet sequestration, decreased platelet production following bone marrow hypoplasia and production of antiplatelet

antibodies (1,17). Thrombocytopenia was detected in 77% of dogs with ehrlichiosis in a retrospective serological study in the United States of America (27). In Israel, ehrlichiosis is more commonly observed in contrast to the United States of America whereas in a serological study only 27% of dogs had thrombocytopenia (28). In our study thrombocytopenia was observed among 63.49% of *E. canis* seropositive dogs. The varieties among seroprevalence may be due to differences of etiological agent pathogenicity or sampling diversity as reported by Dagnone et al., (20).

The prevalence of anemia among dogs with ehrlichiosis showed varieties such as 41 to 90% (20,26-28). Several mechanisms such as the effects of the mononuclear phagocytic system, suppression of erythropoiesis at the bone marrow and cell lysis mediated by the complement system may lead to anaemia (7). In the present study, anaemia was determined in 46.03% of dogs enrolled. In our opinion, the diversity of the prevalence of anaemia may be related to differences in strain pathogenicity or the phase of the disease. Cell lysis mediated by the complement system and suppression of erythropoiesis at the bone marrow may lead to anaemia (7).

Pancytopenia detected in *Ehrlichia canis* infections may occur in chronic phase due to bone marrow aplasia (29). Mylonakis et al. (30), determined pancytopenia in 17 out of 19 dogs (90%) with chronic ehrlichiosis. In our study pancytopenia was evident in 14 dogs (22.22%), which might be related to the chronic phase of the disease.

In conclusion, taking into consideration of the endemic status of *E. canis* in Aegean region, canine monocytic ehrlichiosis must be on the list of differential diagnosis in dogs referred to the clinic with the presence of tick, anorexia, lymphadenopathy, pale mucous membranes and fever and with laboratory analysis such as thrombocytopenia, anaemia or pancytopenia. Therefore clinically based, detailed laboratory

analysed studies with large dog populations are necessary to understand the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis better and to provide novel treatment application.

## REFERENCES

- Fonseca JP., Bruhn FRP., Ribeiro MJM., Hirsch C., Rocha CMBM., Guedes E., Antônio Marcos Guimarães AM., 2017. Haematological Parameters and Seroprevalence of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in Dogs. *Cienc Anim Bras*, 18, 1-9.
- Ansari-Mood M., Khoshnegah J., Mohri M., Rajaei SM., 2015. Seroprevalence and risk factors of *Ehrlichia canis* infection among companion Dogs of Mashhad, North East of Iran, 2009–2010. *J Arthropod Borne Dis*, 9, 184-194.
- Neer TM., Breitschwerdt EB., Greene RT., Lappin MR., 2002. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *J Vet Intern Med*, 16, 309-315.
- Bhadesiya CM., Raval SK., 2015. Hematobiochemical changes in ehrlichiosis in dogs of Anand region, Gujarat. *Vet World*, 8, 713-717.
- Moonarmart W., Sungpradit S., Rawangchue T., Suphaphiphat K., Suksusieng S., Jirapattharasate C., 2014. Clinical history and haematological findings among canines with monocytic ehrlichiosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 45, 157-166.
- M'ghirbi Y., Ghorbel A., Amouri M., Nebaoui A., Haddad S., Bouattour A., 2009. Clinical, serological, and molecular evidence of ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs in Tunisia. *Parasitol Res*, 104, 767-774.
- Carlos RSA., Carvalho FS., Wenceslau AA., Almosny NRP., Albuquerque GR., 2011. Risk factors and clinical disorders of canine ehrlichiosis in the South of Bahia. *Rev Bras Parasitol Vet*, 20, 210-214.
- Karagenç T., Hoşgör M., Bilgiç H., Paşa S., Kırılı G., Eren H., 2005. Ege Bölgesinde köpeklerde *E. canis*, *A. phagocytophila* ve *A. platys*' in prevalansının nested-PCR ile tespiti. In, *Proceedings of the XIV National Parasitology Congress (Ulusal Parazitoloji Kongresi)*, İzmir, 18-25.
- Abranches P., Silva-Pereira MC., Conceicao-Silva FM., Santos-Gomes GM., Janz JG., 1991. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *J Parasitol*, 77, 557-561.
- Kırılı G., 2006. Ege Bölgesi'ndeki köpeklerde Babesiosis'in yaygınlığı. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye
- Shkap V., Baneth G., Pipano E., 1994. Circulating antibodies to *Hepatozoon canis* demonstrated by immunofluorescence. *J Vet Diagn Invest*, 6, 121-123.
- Watanabe M., Okuda M., Tsuji M., Inokuma H., 2004. Seroepidemiological study of canine ehrlichial infections in Yamaguchi prefecture and surrounding areas of Japan. *Vet Parasitol*, 124, 101-107.
- Rodriguez-Vivas RI., Albornoz REF., Bolio GME., 2005. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet Parasitol*, 127, 75-79.
- Davoust B., Bourry O., Gomez J., Lafay L., Casali F., Leroy E., 2006. Daniel parzy surveys on seroprevalence of canine monocytic ehrlichiosis among dogs living in the ivory coast and gabon and evaluation of a quick commercial test kit dot-ELISA. *Ann N Y Acad Sci*, 1078, 464-469.
- Sainz A., Roura X., Miro G., Estrada-Pena A., Kohn B., Harrus S., Solano-Gallego L., 2015. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasit Vectors*, 4, 75.
- Batmaz H., Nevo E., Waner T., Senturk S., Yilmaz Z., Harri S., 2001. Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet Rec*, 148, 665-666.
- Tuna GE., Ulutas B., 2009. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs. *Lucr şti*

- Med Vet, 42, 160-164.
18. Sari B., Taşkın G., Kılıç Y., 2013. Seroprevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* in Dogs in Iğdır Province, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 19, 735-739.
  19. Aktaş M., Özübek S., Altay K., İpek NDS., Balkaya İ., Utuk AE., Kirbas A., Şimsek S., Dumanlı N., 2015. Molecular detection of tick-borne rickettsial and protozoan pathogens in domestic dogs from Turkey. Parasit Vectors, 8, 157.
  20. Dagnone SA., Morais HSA., Vidotto MC., Jojima FS., Vidotto O., 2003. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in South Brazil. Vet Parasitol, 117, 285-290.
  21. Inokuma H., Ohno K., Yamamoto S., 1991. Serosurvey of *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* infection in dogs in Yamaguchi prefecture, Japan. J Vet Med Sci, 61, 1153-1155.
  22. Waner T., Harrus S., Jongejan F., Bark H., Keysary A., 2001. Cornelissen AW: Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. Vet Parasitol, 95, 1-15.
  23. Panciera RJ., Ewing SA., Confer AW., 2001. Ocular histopathology of ehrlichial infections in the dog. Vet Pathol, 38, 43-46.
  24. Komnenou A., Mylonakis ME., Kouti V., Tendoma L., Leontides L., Skountzoum E., Dessiris A., Koutinas AF., Ofri R., 2007. Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. Vet Ophthalmol, 10, 137-142.
  25. Borin S., Crivelenti L., Ferreira FA., 2009. Epidemiological, clinical, and haematological aspects of 251 dogs naturally infected with *Ehrlichia* spp. morulae. Arq Bras Med Vet Zoo, 61, 566-571.
  26. Troy GC., Vulgamott JC., Turnwald GH., 1980. Canine ehrlichiosis: a retrospective study of 30 naturally occurring cases. J Am Anim Hosp Assoc, 16, 181-187.
  27. Frank JR., Breitschwerdt EB., 1999. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. J Vet Intern Med, 13, 194-201.
  28. Baneth G., Waner T., Koplak A., Weinstein S., Keysary A., 1996. Survey of *Ehrlichia canis* Antibodies among Dogs in Israel. Vet Rec, 138, 257-259.
  29. Palacios M., Arteaga R., Calvo G., 2017. High-dose filgrastim treatment of nonregenerative pancytopenia associated with chronic canine ehrlichiosis. Top Companion Anim Med, 32, 28-30.
  30. Mylonakis ME., Koutinas AF., Baneth G.,
  31. Polizopoulou Z., Fytianou A., 2004. Mixed *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, and presumptive *Anaplasma phagocytophilum* infection in a dog. Vet Clin Pathol, 33, 249.





## Bozdoğan'da (*Falco columbarius*) Plexus lumbosacralis'i Oluşturan Spinal Sinirlerin Makroanatomik Yapısı

Mehmet Aydın AKALAN<sup>1a</sup>✉, Aysun ÇEVİK DEMİRKAN<sup>1b</sup>, İsmail TÜRKMEÑOĞLU<sup>1c</sup>, İbrahim DEMİRKAN<sup>2d</sup>

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

2. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0001-9924-2920<sup>a</sup>, 0000-0002-5824-5831<sup>b</sup>, 0000-0002-0775-2622<sup>c</sup>, 0000-0002-0908-83 31<sup>d</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
06.02.2018	22.05.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

Akalan MA, Çevik Demirkan A, Türkmenoğlu I, Demirkan I: Bozdoğan'da (*Falco columbarius*) Plexus lumbosacralis'i Oluşturan Spinal Sinirlerin Makroanatomik Yapısı. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 15-22, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.390820

**Öz:** Sunulan araştırmada 5 adet ergin erkek doğan (*Falco columbarius*)'ın plexus lumbosacralis'ini oluşturan spinal sinirlerin stereomikroskop altında diseksiyonu yapılarak; sinirli liflerinin seyirleri ve innerve ettikleri bölgeler ortaya konmuştur. Plexus lumbosacralis'in synsacrum'un ventral'inde yer alan altı (2-7) adet synsacral spinal sinirin ramus ventralis'lerinden oluşturulduğu gözlemlendi. Plexus lumbalis'in os ilium'un cranioventral'inde 2.- 4. spinal sinirlerin ventral dalları, plexus sacralis'in ise 4.- 7. spinal sinirlerin ventral dalları tarafından meydana geldiği tespit edildi. Truncus cranialis ve truncus medianus'un fossa renalis'de birleşerek tek bir kök halini aldığı saptandı. Truncus caudalis'in ise foramen ischiadicum düzeyinde diğer iki truncus'a katıldığı ve n. ischiadicus'u oluşturduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Bozdoğan, *Falco columbarius*, Morfoloji, Plexus lumbalis, Plexus sacralis.

## Macroanatomic Structure of Spinal Nerves Forming the Plexus Lumbosacralis in the Merlin (*Falco columbarius*)

**Abstract:** In this study, in five adult Merlin (*Falco columbarius*) it was aimed to identify the branches and innervation areas of spinal nerves that compose plexus lumbosacralis by dissecting under stereomicroscope. It was observed that plexus lumbosacralis was formed by six ramus ventralis of synsacral spinal nerves (2-7) located ventral to synsacrum. Plexus lumbalis was formed by ramus ventralis of 2-4 spinal nerves that settled at the cranioventral aspect of the ilium whereas ramus ventralis from 4th to 7th spinal nerves generated the plexus sacralis. Truncus cranialis and truncus medianus merged as a single root around the fossa renalis. Truncus caudalis further joined two truncus at the level of foramen ischiadicum to form n. ischiadicus.

**Keywords:** *Falco columbarius*, Merlin, Morphology, Plexus lumbalis, Plexus sacralis.

✉ Mehmet Aydın AKALAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.

e-posta: makalan@aku.edu.tr

## GİRİŞ

**B**ozdoğan, doğangiller (*Falconidae*) familyasının en küçük ve hızlı uçan avcı kuş türü olup, 27-32 cm uzunluğundadır. Erkeğin üst kısımları ve kuyruk üstü açık mavimsi gridir. Kuyruğun ucunda kalın siyah bir bant bulunur. Alt tarafı açık portakal renginde ve boyuna koyu çizgilidir. Dişilerin üst kısımları kahverengi, alt kısımlar boyuna çizgili olup bu çizgiler erkeğinkinden daha kalındır ve kuyruğunda enine bantlar bulunur. Amerika, Avrupa ve Asya'nın kuzey bölgeleri ile Ortadoğu ve Orta Asya da yaşayan bir türdür (1).

Plexus lumbosacralis, pelvis bölgesi, arka bacak ve kuyruğun innervasyonundan sorumlu mix bir sinir ağıdır (2). Plexus lumbalis ve plexus sacralis sinirleri fossa renalis'de yer alan böbrekleri uzaklaştırınca ventral'den görülür (3,4)

Lumbal sinirler, os lumbosacrale'nin 3. foramen vertebrale laterale'sinden çıkan ve plexus lumbalis'i şekillendiren sinirlerdir. Sacral sinir ise os lumbosacrale'nin orta foramen vertebrale laterale'sinden çıkan sinirler kabul edilir (5). Plexus lumbalis ilk ikisi gerçek lumbal sinir olan üç spinal sinirin ventral dalları tarafından oluşturulur. Plexus sacralis ise genellikle altı spinal sinirin ventral dalını içerir. Bu dalların sonuncusu n. bigeminus olarak bilinir (2,6). Plexus lumbalis'den ayrılan dallar kalça eklemine cranial'ini, plexus sacralis'den ayrılan dallar ise foramen ischiadicum yoluyla pelvis'ten geçerek kalça eklemine caudal kısmının innervasyonunu gerçekleştirir (7).

Plexus lumbalis'den ayrılan n. iliohypogastricus ve ilioinguinalis karın kaslarının caudal kısmının innervasyonunu sağlar (2). Nervus obturatorius, foramen obturatum'dan geçtikten hemen sonra m. obturatorius externus (8)'u ve n. cutaneus femoris ise m. sartorius'u innerve eder (9). Nervus cutaneus femoris kalın bir gövdeye sahiptir (2,9). Nervus femoralis plexus lumbalis'in en kalın siniridir. Nervus saphenus, diz eklemine ve baldırın iç yüzeyinin derisini innerve eder (2,6).

Plexus sacralis'den ayrılan spinal sinirler, n. gluteus caudalis, n. cutaneus femoris caudalis, n. ischiadicus, n. tibialis ve n. peroneus'dur (2). Bu plexus'dan orjin alan sinirler arasında en büyüğü n. ischiadicus'dur (4).

Bölgede yapılacak klinik muayene ve cerrahi operasyon işlemlerinde kullanılacak literatür bilgisine katkı sağlamak amacıyla bozdoğan'da plexus lumbosacralis'i oluşturan spinal sinirler, bu sinirlerin vermiş oldukları dallar ve innerve ettikleri kaslar morfolojik bakımdan incelendi.

## MATERYAL ve METOT

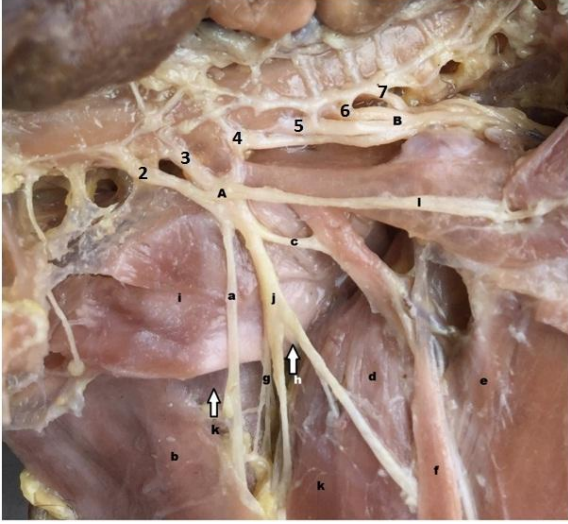
Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi hayvan hastanesine tedavi amaçlı getirilen, kanadı kırık, gözü yaralı fakat kurtarılamayan 5 adet ergin erkek doğan (*Falco columbarius*) kullanıldı. Tedavi edilemeyecek durumda olan bu kuşlar Cerrahi Anabilim Dalı tarafından ketamin ve xylazine kombinasyonu (60 mg/kg, 6 mg/kg) ile ötanazi edildi. Hayvanlar %10'luk formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi. Plexus lumbalis ve sacralis'i incelemek için, stereomikroskop (Olympus optical Co. Ltd. Tokyo. Japonya) altında kadavraların diseksiyonu yapıldı. Elde edilen bulgular dijital fotoğraf makinesi (Sony DSC F 717 Japon) ile görüntülendi. İsimlendirmelerde Nomina Anatomica Avium (1993) esas alındı (7).

## BULGULAR

Plexus lumbosacralis'in synsacrum'un ventral'inde yer alan altı (2-7) adet synsacral spinal sinirin ramus ventralis'lerinin birleşmesiyle oluştuğu gözlemlendi.

Plexus lumbalis'in (Şekil 1/A) os ilium'um ventrocranial'inde, sağda dalağın caudadorsal'inde, solda ise böbreğin cranial lobunun dorsal'inde yer alan 2., 3. ve 4. spinal sinirden ince bir dal olarak bu sinirlerin ramus ventralis'lerinin birleşmesiyle meydana geldiği tespit edildi. Plexus lumbalis'den köken alan sinirlerin, n. cutaneus femoris lateralis ve

medialis (n. saphenus), n. cutaneus femoralis cranialis, n. coxalis cranialis, n. femoralis ve n. obturatorius olduğu saptandı.



**Şekil 1.** Plexus lumbosacralis'i oluşturan spinal sinirlerin medial görüntüsü (sol taraf).

A-Plexus lumbalis, 2.-4. synsacral spinal sinirlerin ramus ventralis'leri B-plexus sacralis, 4.-7. synsacral spinal sinirlerin ramus ventralis'leri a- n.cutaneus femoris lateralis, b- m. iliotibialis cranialis, c-n. saphenus, d-m. femorotibialis medialis, e-m. femorotibialis internus, f-m. ambiens, g-n. cutaneus femoris cranialis, h-n. coxalis cranialis, i-m. iliotrochantericus cranialis, j-n. femoralis, k-m. iliotibialis lateralis, l-n. obturatorius.

**Figure 1.** Medial image of the spinal nerves forming the plexus lumbosacralis (left side).

A-Plexus lumbalis, 2.-4. synsacral spinal sinirlerin ramus ventralis'leri B-plexus sacralis, 4.-7. synsacral spinal sinirlerin ramus ventralis'leri a- n.cutaneus femoris lateralis, b- m. iliotibialis cranialis, c-n. saphenus, d-m. femorotibialis medialis, e-m. femorotibialis internus, f-m. ambiens, g-n. cutaneus femoris cranialis, h-n. coxalis cranialis, i-m. iliotrochantericus cranialis, j-n. femoralis, k-m. iliotibialis lateralis, l-n. obturatorius.

N. cutaneus femoris lateralis'in (Şekil 1/a), plexus lumbalis'in cranial'inden çıkan ilk spinal sinir olduğu gözlemlendi. Sinirin plexus'tan çıktıktan sonra cranioventral yönde seyrederek dorsal ve ventral iki dala ayrıldığı tespit edildi. Dorsal dalın os femoris'in craniomedial'ine ilerlediği ve m. sartorius'a ince bir

dal verdikten sonra femur'un lateral yüzünün derisine dağıldığı tespit edildi. Ventral dalın ise tekrar iki ince dala ayrılarak m. iliotibialis cranialis'in (Şekil 1/b) lateral'inde seyrettiği ve femur'un craniolateral derisine dağıldığı gözlemlendi.

N. cutaneus femoris medialis'in (n. saphenus) (Şekil 1/c), plexus lumbalis'in caudal'inden ayrılan bir dal olduğu, m. ambiens'e (Şekil 1/f) doğru ilerleyip onun lateral yüzünden aşağıya doğru biri kısa diğeri uzun iki dal verdiği belirlendi. Kısa dalın foramen ilioischadicum'a uzandığı ve karın kaslarına dallar verdiği saptandı. Uzun dalın ise m. femorotibialis internus (Şekil 1/e) ile m. ambiens arasından aşağıya doğru seyrederek m. femorotibialis internus'a küçük bir dal verip m. ischiofemoralis medialis üzerinden, diz eklemi innerve ettiği belirlendi.

N. cutaneus femoralis cranialis (Şekil 1/g), plexus lumbalis'in cranial'inden ayrılan ikinci sinir olup, üç dala ayrıldığı gözlemlendi. Bunlardan birinci ve ikinci dalın kendi arasında tekrar iki dala ayrıldığı saptandı. Bu dalların femur'un ön kısmının derisi ile m. iliotibialis lateralis'i (Şekil 1/k) innerve ettiği tespit edildi.

N. coxalis cranialis (Şekil 1/h), plexus lumbalis'in n. femoralis'i (Şekil 1/j) oluşturmadan hemen önce lateral'e ayrılan bir dalı olup bu sinirin m. iliotrochantericus cranialis (Şekil 1/i) ve m. iliofemoralis externus'u innerve ettiği saptandı.

N. femoralis'in, plexus lumbalis'den ayrılan en kalın sinir olduğu gözlemlendi. Sinirin kısa bir seyirden sonra biri cranial ve diğeri caudal'e giden iki dala ayrıldığı belirlendi. Cranial dal kendi arasında lateral ve medial iki dala ayrıldı. Lateral dalın m. iliotibialis lateralis ile m. femorotibialis medialis'in (Şekil 1/d) craniodorsal'inden lateral'e doğru ilerleyerek m. tensor fascia lateralis'i innerve ettiği tespit edildi. Medial dalın ise iki dala ayrılarak m. femorotibialis medialis' in içine dağıldığı belirlendi. Caudal dalın kendi arasında biri kısa ve ince diğeri ise kalın ve uzun olmak üzere iki dala ayrıldığı gözlemlendi. Kısa ve ince olan dalın m. femorotibialis medialis'e dağıldığı saptandı. Uzun ve kalın olan dalın ise doğrudan m.



femorotibialis medialis ve m. ambiens arasından venral'e doğru ilerlediği ve m. quadriceps femoris'in caudal kenarında sonlandığı tespit edildi.

N. obturatorius (Şekil 1/l), plexus lumbalis'in caudal ve proximal'inden ayrılan uzun bir sinirdir. Musculus iliofemoralis interna üzerinde ilerleyen sinirin for. obturatum'a girmeden önce m. obturatorius medialis'e dallar verdiği gözlemlendi. Sinirin for. obturatum'u geçtikten sonra m. obturatorius lateralis'e dallar verdiği saptandı.

Plexus sacralis'in, 4.-7. spinal sinirlerin ramus ventralis'lerinin kendi aralarında birleşmesiyle oluştuğu tespit edildi (Şekil 1/B). Plexus sacralis'in oluşumuna katılan ilk dal olan 4. spinal sinirin cranial yönde plexus lumbalis'e ince bir dal verdikten sonra truncus cranialis'in oluşumuna katıldığı gözlemlendi. Dördüncü ve 5. spinal sinirlerin ramus ventralis'lerinin fossa renalis'de birleşerek truncus cranialis'i oluşturduğu tespit edildi. Truncus medianus'un 6. spinal sinirin ramus ventralis'i tarafından şekillendirildiği gözlemlendi. Truncus caudalis'in ise 7. spinal sinirin ramus ventralis'i tarafından meydana geldiği belirlendi. Truncus cranialis ve truncus medianus'un fossa renalis'de birleşerek tek bir kök halini aldığı gözlemlendi. Truncus caudalis ise foramen ischiadicum (Şekil 2/a) düzeyinde diğer iki truncus'a katıldığı tespit edildi. Bu üç kökün n. ischiadicus'u (Şekil 2/b) oluşturduğu tespit edildi.

N. ischiadicus'un, kalın bir kök olduğu ve foramen ischiadicum'dan v. ve a. ischiadicum ile birlikte geçtikten sonra dallara ayrıldığı saptandı. İlk olarak n. ischiofemoralis'i verdikten sonra n. coxalis caudalis, n. cutaneus femoralis caudalis, ramus muscularis ve n. cutaneus suralis'i verdiği gözlemlendi. Sinirin daha sonra caudal'de n. tibialis'e cranial'de ise daha kalın olan n. peroneus'a ayrıldığı tespit edildi.

N. ischiofemoralis'in (Şekil 2/c), n. ischiadicus'dan ayrılan ilk dal olduğu ve m. ischiofemoralis'i innerve ettiği saptandı.



**Şekil 2.** N. ischiadicus ve dallarının lateral'den görüntüsü (sağ taraf).

a-foramen ischiadicum, b-n. ischiadicus, c-n. m. ischiofemoralis, d-n. coxalis caudalis, e-n. cutaneus femoralis caudalis, f-ramus muscularis, g-n. cutaneus suralis, i-n. peroneus, h-n. tibialis, j-ansa iliofibularis, f-n. peroneus tertius, k-n. peroneus superficialis, l-n. peroneus profundus.

**Figure 2.** Lateral view of n. ischiadicus and its branches (right side).

a-foramen ischiadicum, b-n. ischiadicus, c-n. m. ischiofemoralis, d-n. coxalis caudalis, e-n. cutaneus femoralis caudalis, f-ramus muscularis, g-n. cutaneus suralis, i-n. peroneus, h-n. tibialis, j-ansa iliofibularis, f-n. peroneus tertius, k-n. peroneus superficialis, l-n. peroneus profundus.

N. cutaneus femoralis caudalis'in (Şekil 2/e), n. ischiadicus'un caudal'inden çıkarak m. iliofibularis'in altından geçtiği, m. flexor cruralis'e ince bir dal verdikten sonra femur'un caudal kısmının derisini innerve ettiği gözlemlendi.

Ramus muscularis'in (Şekil 2/f), n. ischiadicus'un proximal 1/3'lük kısmından çıkarak m. iliofibularis içerisine dağıldığı saptandı.

N. cutaneus suralis (Şekil 2/g)'in n. ischiadicus'un iki dala ayrıldığı noktanın yaklaşık 1 cm üzerinde n. ischiadicus'dan ayrılarak m. iliofibularis'in distalinden geçtiği ve uyluğun caudal derisine dağıldığı belirlendi.

N. tibialis (Şekil 2/h), n. ischiadicus'un ikiye ayrılmasıyla oluşan ve caudal'e uzanan bir dalıdır. N. ischiadicus'dan ayrıldıktan sonra m. iliofibularis'in tendosu altından geçerek m. gastrocnemius içerisine 3 ramus muscularis verdiği ve m. flexor perforati digiti III ve IV'e dallar verip sonlandığı tespit edildi.

N. peroneus'un (Şekil 2/i), n. ischiadicus'dan ayrıldıktan sonra yaklaşık 1cm civarında ansa iliofibularis'i (Şekil 2/j) geçtiği ve hemen sonra n. peroneus tertius'u verdikten sonra n. peroneus superficialis et profundus'a ayrıldığı saptandı.

N. peroneus tertius'un (Şekil 2/f), m. flexor perforati digiti III ve IV arasından aşağıya ilerleyip n. plantaris lateralis ve ramus muscularis'e ayrıldığı gözlemlendi.

N. peroneus superficialis'in (Şekil 2/k), n. peroneus'dan ayrıldıktan sonra 3 dala ayrılarak m. extensor digitorum longus'a, m. flexor perforata digiti IV'e dallar verdiği saptandı.

Nervus peroneus profundus'un (Şekil 2/l; 3/a), cranioventral yönde, m. flexor digiti IV ve m. flexor digitorum pedis profundus'a kollar verdiği gözlemlendi. Sinirin distal yönde seyrederek m. fibularis longus (Şekil 3/c), m. tibialis cranialis, m. extensor digiti II ve m. hallucis brevis'e ramus muscularis (Şekil 3/b) verdiği ve daha sonra n. metatarsalis dorsalis (Şekil

3/d) adını alarak phalanx'ların üzerine doğru ilerlediği tespit edildi.



**Şekil 3.** N. peroneus profundus'un dallanması (sağ taraf).

a-n. peroneus profundus, b-ramus muscularis, c-m. fibularis longus, d-n. metatarsalis dorsalis.

**Figure 3.** Branches of n. peroneus profundus (right side).

a-n. peroneus profundus, b-ramus muscularis, c-m. fibularis longus, d-n. metatarsalis dorsalis.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Plexus lumbosacralis terminolojik olarak plexusa katkıda bulunan tüm omurilik sinirlerini ifade etmez, fakat sıklıkla bu şekilde kullanılır (7). Bu araştırmada isimlendirme Nomina Anatomica Avium'a (1993) göre yapılmıştır. Symsacrum'un ventrolateral'inde yer alan plexus lumbosacralis Japon bıldırcınında (9) ve güvercinde (8,10) yedi (2.-8.) adet Bentley'e (11) göre bıldırcınında sekiz (1-8) adet spinal sinirin ramus ventralis'inden oluştuğu bildirilmiştir. Bozdoğan'da ise bu yapının altı (2-7) adet spinal sinirin ramus ventralis'i tarafından oluşturulduğu saptandı.

Pelvis'in cranial'inde kalça eklemine doğru dağılan plexus lumbalis'in (7), atmaca (12), kaya keklığı (13), güvercin (8), ve diğer kanatlılarda (2) olduğu gibi doğan türünde de 3 adet spinal sinirin ventral dalı tarafından şekillendiği gözlemlendi. Bu yapının devekuşu (14) ve Japon bıldırcınında (15) dört spinal sinir tarafından oluşturulduğu bildirilmiştir.

Plexus sacralis'in, kazda 6, hindi (16), güvercin (8), puhu kuşunda (17) 5, kaya keklığı (18) ve

devekuşunda ise 7 (14) adet spinal sinirin ramus ventralis'leri tarafından meydana geldiği bildirilmiştir. Bozdoğan'da ise Japon bıldırcınında (9) bildirildiğine benzer olarak 4 adet spinal sinirin ramus ventralis'i tarafından şekillendiği tespit edildi. Truncus cranialis'in puhu kuşunda 6. symsacral spinal sinir, truncus medialis'in 7. symsacral sinir ve truncus caudalis'in ise 8. ve 9. symsacral spinal sinirlerin ramus ventralis'i tarafından şekillendiği bildirilmiştir (17). Sülünde truncus cranialis'i ilk üç sacral spinal sinir, truncus medianus'u 4. ve truncus caudalis'i ise 5. sacral spinal sinirin dalları şekillendirmektedir (19). Japon bıldırcınında truncus cranialis'i 5., truncus medianus'u 6., truncus caudalis'i 7. ve 8. symsacral sinirin caudal dalının (9) oluşturduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda ise bu yapılardan truncus cranialis'in 4. ve 5., truncus medianus'un 6. ve truncus caudalis'in ise 7. symsacral spinal sinirin kolları tarafından oluşturulduğu tespit edildi.

Literatürde (6) evcil kanatlılarda plexus lumbalis'ten; n. iliohypogastricus, n. ilioinguinalis, n.

obturatorius, n. cutaneus femoris, n. femoralis n. gluteus cranialis ve n. saphenus'un ayrıldığını bildirmiştir. Deve kuşunda yapılan çalışmada ise aynı yapıdan n. coxalis cranialis, n. cutaneus femoris cranialis ve lateralis, n. femoralis, n. obturatorius'un ayrıldığı rapor edilmiştir (14). Bozdoğan'da ise devekuşundan farklı olarak n. cutaneus femoris medialis'in de ayrıldığı tespit edildi.

Plexus lumbalis'den ilk ayrılan sinirin Japon bıldırcınında (9) ve güvercinde (8) n. ilioinguinalis olduğu, deve kuşunda (14) ise n. coxalis cranialis olduğu bildirilmiştir. Bozdoğan'da ise sülünde (12) olduğu gibi ilk çıkan dalın n. cutaneus femoris olduğu tespit edildi.

N. cutaneus femoris, güvercinde (8) m. iliotibialis cranialis'e ince bir dal verirken, bozdoğan'da m. sartorius'a ince bir dal verdiği saptandı.

N. cutaneus femoris medialis evcil kanatlılara (2) paralel olarak diz eklemine ve baldırın iç yüzeyinin derisini innerve ettiği görüldü.

N. coxalis cranialis'in Japon bıldırcınında (9) m. gluteus medius'a dağılarak sonlandığı bildirilmesine karşın bu sinirin bozdoğan'da m. iliofemoralis externus'ta sonlandığı belirlendi.

N. femoralis, deve kuşu (14) ve diğer evcil kanatlılarda (2,6) olduğu gibi bozdoğan'da da plexus lumbalis'in en kalın dalıdır. Bu sinirin deve kuşunda (14) altı, Japon bıldırcını (9) ve atmacada (12) üç dala ayrıldığı bildirilirken, bozdoğan'da güvercinde (8) olduğu gibi cranial ve caudal iki dala ayrıldığı tespit edildi.

N. obturatorius'un, bozdoğan'da plexus lumbalis'in caudal'inden ayrılan bir sinir olduğu ve güvercin (8), deve kuşu (14) ve atmacada (12) olduğu gibi obturator kaslarını innerve ettiği gözlemlendi.

Plexus sacralis'i, evcil kanatlılarda (2) genellikle 6, deve kuşunda (14) 7, sülünde (19), puhu kuşunda (17), hindide (16) ve kaya kekliğinde (18) 5 adet spinal sinirin ventral dalları oluşturmaya karşın bozdoğan'da Japon bıldırcınında (9) olduğu gibi 4 adet spinal sinirin ventral dalları tarafından şekillendiği saptandı. Plexus sacralis'in oluşumuna katılan

truncus cranialis'in deve kuşunda (14) 1-5., beyaz hindide (20) 1-3., atmacada (12) ise 6. synsacral spinal sinir tarafından olduğu bildirilmiştir. Bozdoğan'da bu yapıyı kaya kekliğinde (18) olduğu gibi ilk iki dalın şekillendirdiği gözlemlendi. Truncus medianus'u, atmaca (12), güvercin (8), beyaz hindi (20), ve sülündekine (19) benzer şekilde tek bir dalın meydana getirdiği saptanmıştır. Truncus caudalis'in ise deve kuşu (14), puhu kuşu (17) ve japon bıldırcınında (9) iki kökün birleşmesiyle olduğu bildirilirken, sülünde (19) ise araştırmamıza benzer şekilde tek kökten olduğu bildirilmiştir.

N. ischiadicus'un ilk dalının güvercinde (8) n. coxalis caudalis, deve kuşunda ise (14) n. iliotibialis olduğu bildirilmiştir. Bozdoğan'da ise ilk ayrılan dalın puhu kuşunda (17) olduğu gibi n. ischiofemoralis olduğu belirlendi.

N. ischiadicus'un dalı olan n. coxalis caudalis'in bozdoğan'da japon bıldırcını (9) ve sülünde (19) olduğu gibi ikinci dal olarak ayrıldığı ve m. gluteus superficialis ile m. iliofibularis'e dallar verdiği saptandı.

N. cutaneus femoralis caudalis'in güvercin (8) ve diğer evcil kanatlılarda (2) olduğu gibi m. flexor cruralis'e ince bir dal verdikten sonra femur'un caudal kısmının derisini innerve ettiği tespit edildi.

Evcil kanatlılarda (2,6,21) n. tibialis'in ramus lateralis ve ramus medialis olarak iki kol verdiği ve bu kolların m. popliteus, m. gastrocnemius ile ayağın yüzlek ve derin flexor'larına dağıldığı bildirilmiştir. Bizim araştırmamızda ise n. tibialis'in m. iliofibularis'in tendosu altından geçerek m. gastrocnemius içerisine 3 ramus muscularis verdiği ve m. flexor perforati digiti III ve IV 'e dallar vererek sonlandığı gözlemlendi.

Evcil kanatlılarda (2) bildirildiği gibi bozdoğan'da da n. peroneus'un diz eklemine ansa iliofibularis'i geçtikten hemen sonra n. peroneus tertius'u verdiği tespit edildi. Bu sinirin Japon bıldırcını (9), bıldırcın (15) ve güvercinlerde (8) n. paraperoneus olarak, deve kuşu (14) ve puhu kuşunda (17) ise n. parafibularis olarak n. tibialis'den ayrıldığı bildirilmiştir. Ayrıca atmacada (22) n. paraperoneus

n. peroneus'dan ayrılan ince bir dal olduğu belirtilmiştir. N. peroneus'un daha sonra kuşlar (7), evcil kanatlılar (2) ve bizim araştırmamızda da son dal olarak n. peroneus superficialis ve profundus'a ayrıldığı saptandı.

Sonuç olarak bozdoğanın plexus lumbosacralis'ini oluşturan spinal sinirlerin ventral dalları ayrıntılı olarak incelendi ve diğer kuş türleri arasındaki benzerlik ve farklılıklar tespit edildi. Bu bilgilerin bölgede yapılacak muayene, görüntüleme ve cerrahi özellikle nöroşirurji girişim benzeri klinik uygulamalarda araştırmacılara, klinisyenlere ve veteriner hekimlere referans sağlayacağı kanaatine varıldı.

#### KAYNAKLAR

1. Gooders J., 1995. Field Guide to the Birds of Britain and Europe. 5th Ed., Houghton Mifflin Company, London.
2. Nickel R., Schummer A., Seiferle E., 1977. Anatomy of the Domestic Birds. Parey Im Mvs, Berlin.
3. Hazıroğlu RM., Çakır A., 2018. Veteriner Anatomi Konu Anlatımı ve Atlası. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara.
4. McLelland J., 1990. A Color Atlas of Avian Anatomy. Wolfe Publishing Ltd., England.
5. Doğuer S., Erençin Z., 1964. Evcil Kuşların Komparatif Anatomisi. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, Türkiye.
6. Dursun N., 2002. Evcil Kuşların Anatomisi. Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye.
7. Baumel JJ., King SA., Breazile JE., Evans HE., Vanden- Berge J., 1993. Handbook of Avian Anatomy. Nomina Anatomica Avium. 2nd ed., Nuttall Ornithological Club, Massachusetts.
8. Balkaya H., Özüdoğru Z., 2013. Güvercin (*Columba livia*) plexus lumbosacralisi ve dalları üzerinde makroanatomik ve subgros bir çalışma. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 8, 21-33.
9. Can M., Özdemir D., 2011. Japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*) plexus lumbosacralis'i üzerinde makro-anatomik araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 6, 31-45.
10. Huber JF., 1936. Nerve roots and nuclear groups in the spinal cord of the pigeon. J Comp Neurol, 65, 43-91.
11. Bentley MT., Poole TJ., 2009. Neurovascular anatomy of the embryonic quail hindlimb. Anat Rec, 292, 1559-1568.
12. Balkaya H., Özüdoğru Z., 2016. Macroanatomical Aspects of the lumbar plexus and branches in the sparrowhawk. Anat Histol Embryol, 45, 67-72.
13. Can M., Özdemir D., 2012. Kaya kekliği (*Alectoris graeca*) plexus lumbalis'i üzerinde makro-anatomik araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 7, 123-129.
14. El-Mahdy T., El-Nahla SM., Abbott LC., Hassan SA., 2010. Innervation of the pelvic limb of the adult ostrich (*Struthio camelus*). Anat Histol Embryol, 39, 411-425.
15. Fitzgerald TC., 1969. The coturnix Quail, Anatomy and Histology. The Iowa State University Press, Iowa.
16. Serbest A., Yıldız B., Yıldız H., Eren G., 2000. Kaz ve hindilerde plexus brachialis'in oluşumuna katılan ramus ventralisler'deki sinir demetlerinin morfolojik ve morfometrik incelenmesi. Uludağ Üniv Vet Fak Derg, 19, 65-73.
17. Akbulut Y., Demiraslan Y., Aslan K., Coban A., 2016. The macroanatomy of the sacral plexus and its nerves in Eurasian Eagle Owls (*Bubo bubo*). Anat Histol Embryol, 45, 367-372.
18. Can M., Özdemir D., 2012. Kaya kekliği (*Alectoris graeca*) plexus sacralis'i üzerinde makro-anatomik araştırmalar. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 18, 141-146.
19. İstanbullugil FR., Karadağ H., Sefergil Ş., Gezer-İnce N., Alpak H., 2013. Formation of the plexus sacralis in pheasants (*Phasianus colchicus mongolicus*) and macroanatomic investigation of the nerves originating from the plexus sacralis. Turk J Vet Anim Sci, 37, 160-163.
20. İstanbullugil FR., 2008. Beyaz Hindi'de plexus sacralis oluşumu ve plexus sacralis'ten çıkan

sinirlerin makroanatomik ve subgros incelenmesi.  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Türkiye.

21. Al-Sadi S., 2012. Comparative morphometric study of shank bone in the tom (*Meleagris gallopavo*) and local cock (*Gallus banikaval*). *Iragi J Vet Sci*, 26, 57-64.
22. Balkaya H., Özudoğru Z., 2016. Macroanatomical aspects of the sacral plexus and its branches in sparrowhawk. *J. Applied Anim Res*, 44, 77-82.



## Kars'ta Evde Bakılan Kedilerde *Toxoplasma gondii*'nin Yaygınlığı\*

Nasibe Ezgi ERCAN<sup>1a</sup>, Ali Haydar KIRMIZIGÜL<sup>1b</sup>✉

1. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
ORCID: 0000-0001-7216-6366<sup>a</sup>, 0000-0002-6660-2149<sup>b</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.02.2018	04.06.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
Ercan NE, Kırmızıgül AH: Kars'ta Evde Bakılan Kedilerde *Toxoplasma gondii*'nin Yaygınlığı. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 23-28, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.389049

**Öz:** Bu çalışma Kars'ta evde bakılan kedilerde *Toxoplasma gondii*'nin yaygınlığını belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmanın hayvan materyalini evde bakılan, farklı ırklarda, 1-6 yaşlarında, 52 dişi ve 48 erkek olmak üzere toplam 100 kedi oluşturdu. Bu kedilerden 5mL kan alınarak serumları ayrıştırıldıktan sonra Sabin-Feldman Dye Testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorları yönünden değerlendirildi. *T. gondii* antikorları araştırılan 100 kediden 65'inin (%65) 1/16 ve üzerindeki titrelerde olduğu belirlendi ve pozitif olarak değerlendirildi. Bu 100 kediden 35'inin ise (%35) 1/16'nın altında titrede olduğu tespit edildi ve negatif olarak değerlendirildi. Yaşa ve cinsiyete göre kedilerdeki pozitiflik durumu karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemsiz ( $P>0.05$ ) olduğu belirlendi. Seropozitif olan kedilerin 43'ünde antikor titresini 1/16, 19'unda 1/64, 3'ünde ise 1/256 olarak belirlendi. Sonuç olarak; bu çalışmada Kars'ta evde bakılan kedilerdeki *T. gondii* prevalansının %65 olduğu tespit edildi. Bu oranın yüksek bulunmasında kedilerin büyük çoğunluğunun daha önce sokaktan alınmış olmasının etkili olduğu düşünüldü. Elde edilen bu sonuçlara göre halk sağlığı açısından gerekli tedbirlerin alınması ve bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kars, Kedi, *Toxoplasma gondii*.

### Prevalance of *Toxoplasma gondii* Indoor Cats in Kars

**Abstract:** This study was aimed at determining the prevalence of *Toxoplasma gondii* in pet cats in the Kars province. Overall 100 pet cats, including 52 females and 48 males, which were aged 1-6 years and were of various breeds, constituted the material of the study. Sera, extracted from 5 mL blood samples taken from each cat, were assayed for the presence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies using the Sabin-Feldman Dye Test. Out of the 100 cats tested for *T. gondii* antibodies, 65 (65%) were determined to have an antibody titre of 1/16 and higher, and were considered to be seropositive. Out of the 100 cats, 35 (35%) were determined to have an antibody titre below 1/16 and were considered to be seronegative. The assessment of the rate of seropositivity for age and sex demonstrated that the differences between the age groups were statistically insignificant ( $P>0.05$ ). Of the seropositive cats, 43 had an antibody titre of 1/16, 19 had an antibody titre of 1/64, and 3 had an antibody titre of 1/256. In result, this study demonstrated that the prevalence of *T. gondii* was 65% in pet cats in the Kars province. This high prevalence was attributed to the majority of the pet cats being adopted stray cats. On the basis of the results obtained, it was concluded that the necessary public health measures should be taken and further more detailed research should be conducted on toxoplasmosis.

**Keywords:** Cat, Kars, *Toxoplasma gondii*

✉ Ali Haydar KIRMIZIGÜL

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
e-posta: ahkirmizigul@hotmail.com

\*Bu makale "Kars'ta Evde Bakılan Kedilerde *Toxoplasma gondii*'nin Yaygınlığı" adlı yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

## GİRİŞ

**H**astalığın etkeni Toxoplasmatidae ailesi, Toxoplasma soyunda yer alan *Toxoplasma gondii*'dir. Hastalığın trofozoit, bradzoit ve sporozoit olmak üzere üç enfektif formu vardır. Kediler enfeksiyonun hem son konağı hem de ara konağı olup, bu üç formdan biriyle enfekte olduktan sonra ookist üretmeye başlarlar ve diğer memeliler için tehlike oluştururlar (1-3). Hastalık tüm memeliler ve kanatlılarda görülebilen zoonoz bir enfeksiyondur (1,4,5). Etken obligat intrasellüler bir protozoon olup sistemik bozukluklara neden olabilmekte ve dünyada yaygın olarak görülebilmektedir (6-9). İlk olarak 1908 yılında Nicolle tarafından yabancı bir kemirgen olan *Ctenodactylus gondii*'de bulunmuş, daha sonra pek çok hayvanda enfeksiyon yapma yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir (10,11).

Hastalığa yaygın olarak rastlanmasına rağmen klinik vaka sayısı çok azdır (12). Asemptomatik akut toksoplazmozis insan ve koyunlarda kongenital bozukluklara neden olması açısından oldukça önemlidir. Hastalık kedilerde çok yaygın olmakla birlikte klinik enfeksiyon çok nadirdir. Köpeklerde ise klinik olarak solunum, sindirim ve sinir sistemine ait belirtiler gösterdiği bildirilmiştir (1,13).

Hastalık, hayvansal üretime vermiş olduğu zararlardan (koyun ve keçilerde prenatal ölümler, abort, neonatal ölümler) dolayı ekonomik, insan sağlığında ise abort ve neonatal dönemde meydana getirdiği komplikasyonlardan dolayı toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır (14,15). Bu çalışmada, Kars'ta evde bakılan kedilerde *Toxoplasma gondii*'nin yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini evde bakılan, farklı ırklarda, 1-6 yaş aralığında 52 dişi ve 48 erkek olmak üzere toplam 100 kedi oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen kedilerin *Vena cephalica*'larından 5 ml kan alındı. Alınan bu kanlar soğutmalı santrifüjde (Hettich, Rotina 380R) 3000 devirde 10 dakika

santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Elde edilen serumlar test yapılıncaya kadar -20°C' de saklandı. (Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu 2017-051 tarih sayılı izni alınarak yapılmıştır).

### Sabin-Feldman Dye Testi

Bütün numuneler toplandıktan sonra elde edilen serumlar anti-Toxoplasma gondii antikorları yönünden Sabin-Feldman Dye Testi (SFDT) ile incelendi. SFDT'de 1/16 ve üzerindeki titreler pozitif olarak değerlendirildi. SFDT Toxoplasma gondii'nin serolojik tanısında en önemli tanı yöntemi olarak bildirilmektedir. Test antijen-antikor reaksiyonunda komplement gibi bir bağlayıcı etkiye sahip, insan kan serumundan elde edilen ve aktivatör olarak isimlendirilen bir maddenin varlığında, antikorla muamele edilmiş T. gondii metilen mavisi ile boyanma özelliğini kaybetmesine dayanır (16).

Testte kullanılan canlı protozoonlar, daha önce antijen ile enfekte edilen farelerin periton sıvısından elde edilmektedir. Test antikor içeren serum ile yapılırsa parazitler metilen mavisi ile boyanmaz ve pozitif sonuç verir. Eğer serumda antikor yoksa, parazitler koyu mavi renge boyanır ve negatif sonuç verir. Bunun yanı sıra mikroskop sahasında parazitin %60 veya daha fazlasının boyanması, sonucun negatif olması için yeterli olup dilüsyonlardan sonra titrenin 1/16 veya daha yüksek olması pozitiflik için yeterlidir (16).

Sabin-Feldman Dye Testine başlamadan önce toplanan bütün numuneler 56°C'de 30 dakika süreyle sıcak su banyosunda bekletilerek inaktive edildi. İnaktivasyonu takiben serumlardan 1/16, 1/64, 1/256 ve 1/1024 oranlarında dilüsyonlar hazırlandı. Pozitif kontrol ile negatif kontroller ve dilüe edilen serumlar tüplere konduktan sonra örneklerin üzerlerine eşit miktarda eksudat-aktivatör karışımından ilave edildi. Bu aşamadan sonra tüpler vorteksle iyice karıştırılarak 37°C'de su banyosunda 50 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben bütün

tüplerin üzerine pH:11 olan tamponlu metilen mavisi boyasından 0.025 mL ilave edilerek karıştırıldı. Bu işlemi takiben buzdolabında 10 dakika bekletildikten sonra, karışımdan 0.020 mL alınarak lam üzerine konuldu. Lam üzerine konan karışım lamelle kapatılarak ışık mikroskopunda 10x40 büyüklükte incelendi. Değerlendirme sonucunda, *T. gondii* trofozoitlerinin boya alma durumlarına göre boyanmış olanlar negatif, boyanmamış olanlar ise pozitif olarak değerlendirildi (16).

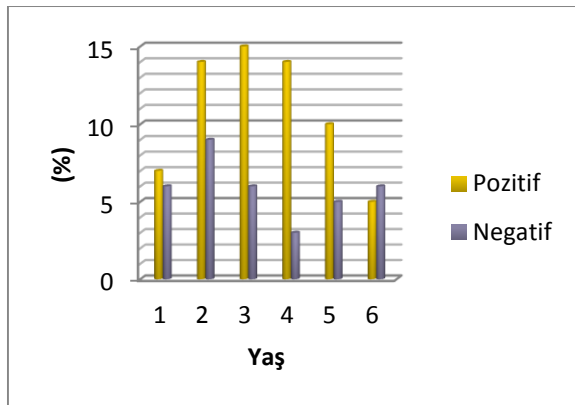
### İstatistiksel Analiz

Çalışmada SFDT'de ile değerlendirmeler sonucunda 1/16 ve üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edildi. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 20.0 istatistik programında Ki-kare ( $\chi^2$ ) testi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede  $P < 0.05$  önemli olarak değerlendirildi.

### BULGULAR

Kars il merkezinde evde bakılan kedilerde yapılan bu çalışmada *T. gondii* antikorları araştırılan 100 kediden 65'inin (%65) 1/16 ve üzerindeki titrelerde olduğu görüldü ve pozitif olarak değerlendirildi. Bu 100 kediden 35'inin ise (%35) 1/16'nın altında titrede olduğu belirlenerek negatif olarak değerlendirildi.

Yaşa göre pozitiflik istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın önemsiz olduğu belirlendi ( $P > 0.005$ ). Ayrıca yaşa göre pozitiflik ve negatiflik oranları Şekil 1' de verilmiştir.



**Şekil 1:** Yaşa göre pozitiflik ve negatiflik oranları.

**Figure 1:** Positive and negative rates according to age.

Dişiler kendi aralarında orantısız olarak değerlendirildiğinde pozitiflik oranının %66 olduğu belirlenirken, erkeklerde bu oran %63 olarak tespit edildi. Dişi ve erkeklerdeki pozitiflik istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın anlamsız ( $P > 0.05$ ) olduğu belirlendi.

Pozitif ve negatif hayvanların cinsiyet ve yaşa göre dağılımları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1:** Cinsiyet ve yaşa göre pozitif ve negatif hayvanların dağılımı.

**Table 1:** Distribution of positive and negative animals by gender and age.

Yaş	Dişi		Erkek	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
1	4	2	3	4
2	7	3	7	6
3	11	5	4	1
4	6	2	8	1
5	5	3	5	2
6	1	2	4	4
Toplam	34	17	31	18

Seropozitif olan kedilerin 43'ünde antikor titresi 1/16, 19'unda 1/64, 3'ünde ise 1/256 olarak belirlendi. Yaş ve cinsiyete göre titrelerin oranları Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2:** Yaş ve cinsiyete göre titrelerin oranları.

**Table 2:** Rates of titration by age and sex.

Yaş	Dişi (Titre)			Erkek (Titre)		
	1/16	1/64	1/256	1/16	1/64	1/256
1	4			2	1	
2	6	1		5	2	
3	7	3	1	2	2	
4	3	2	1	5	3	
5	2	3		3	1	1
6	1			3	1	



## TARTIŞMA ve SONUÇ

Toksoplazmozis, insanlar da dahil olmak üzere tüm memeliler ve kanatlılarda görülebilen önemli bir zoonoz hastalıktır (1). Dünyada oldukça yaygın olarak görülmektedir (15,17-19). Hastalık yaygın olarak görülmesine rağmen genellikle subklinik olarak seyretmektedir. Özellikle kedilerde çok yaygın olmakla beraber klinik enfeksiyon çok nadirdir (1). Hastalık insan sağlığına verdiği zararların yanı sıra hayvansal üretimde de ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (14,15). Toksoplazmozisin kedilerdeki yaygınlığı coğrafik bölge, yaş, kedilerin dış ortamla olan ilişkisi ve teşhis yöntemlerine göre farklılık göstermektedir (20). Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen prevalans bilgileri hem halk sağlığı hem de çevre kontaminasyonunun değerlendirilmesinde önemli bilgiler sağlamaktadır (18,21,22). Bu çalışmada hastalığın prevalansının %65 olarak yüksek bir değerde bulunması Kars'ta enfeksiyonun ciddi boyutlarda olduğunu göstermiştir. Kars'ta gebe kadınlarda yapılan bir çalışmada toksoplazma IgG antikorlarına bakılmış ve %20.3 pozitiflik belirlenmiştir (23). Bu durum halk sağlığı açısından önemli bir sonuçtur ve çalışmamızı destekler niteliktedir.

Değişik ülkelerde yapılan çalışmalarda pozitiflik oranları farklılık göstermekte ve %10-80 arasında değişmektedir (24). Ülkemizde yapılan çalışmalarda immün florasan antikor testi (IFAT), İndirekt Hemagglütinasyon testi (IHA) ve SFDT yöntemleri uygulanmış ve değişik oranlarda pozitiflikler belirlenmiştir. Özkan ve ark. (25), Ankara yöresinde IFAT yöntemi ile kedilerde yaptıkları bir çalışmada %34.3'lük seropozitiflik olduğunu bildirmişlerdir. Babür ve ark. (26), IHA testi ile Kırıkkale'de %69.8 ve Sivas'ta %78'lik pozitiflik olduğunu bildirmişlerdir. Kedilerde SFDT ile yapılan çalışmalarda Ankara'da %40.3 (25), Elazığ'da %55.5 (26) ve Niğde'de %76.4 (24) oranında pozitiflik belirlenmiştir. Kars yöresinde hem evde bakılan hem de sokakla ilişkili kedilerde yapılan bir çalışmada *T. gondii* seroprevalansının %44.1 olduğu bildirilmiştir (27). Bu çalışmada ise, kedilerde yapılan diğer çalışmalara yakın sonuçlar

bulunmasına rağmen daha önce Kars'ta yapılan çalışmaya göre daha yüksek oranda bir pozitiflik görülmüştür.

Yapılan bazı çalışmalarda, yaşın *T. gondii* prevalansı bakımından önemli olduğu ve yaş artışıyla birlikte pozitifliğin arttığı bildirilmekte (17,25,28,29) ise de bunun aksine yaş artışıyla enfeksiyonun prevalansı arasında bir ilişkinin olmadığı da ileri sürülmektedir (26,27,30). Bu çalışmada da yaşa göre pozitifliğin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Bir literatürde, dişi kedilerde erkek kedilere oranla toksoplazmozisin daha yaygın görüldüğü bildirilmiş olup bunun da hastalığın prevalansını arttırdığı ileri sürülmüştür (31). Bunun aksine diğer çalışmalarda ise cinsiyetin toksoplazmozisin yaygınlığı açısından önemli olmadığı bildirilmiştir (17,24,26,27,29,30). Bu çalışmada da cinsiyete göre pozitifliğin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada Kars'ta evde bakılan kedilerde *T. gondii* prevalansı %65 olarak bulunmuştur. Oranın yüksek bulunmasında kedilerin büyük çoğunluğunun daha önce sokaktan alınmış olmasının, enfeksiyona maruz kalma olasılığını artırmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Sonuçlara göre halk sağlığı açısından gerekli tedbirlerin alınması ve bu konuda çalışma alanlarının genişletilmesi kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Dumanlı N., Aktaş M., Altay K., 2013. Toxoplasmosis. In "Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları", Ed., MA Özcel, 1095-1101, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir, Bornova.
2. Mor N., Arslan MÖ., 2007. Kars yöresindeki koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 13, 165-170.
3. Zhang K., Lin G., Han H., Li J., 2016. Serological diagnosis of toxoplasmosis and standardization. Clin Chim Acta, 461, 83-89.

4. Aly I., Taher EE., EL Nain G., EL Sayed H., Mohammed FA., Hamad RS., Bayoumy EM., 2018. Advantages of bioconjugated silica-coated nanoparticles as an innovative diagnosis for human toxoplasmosis. *Acta Trop*, 177, 19-24.
5. Yongzhen P., Xuehui j., Changguo L., Shujing G., 2018. Dynamics of a model of Toxoplasmosis disease in cat and human with varying size populations. *Math Comput Simul*, 144, 52-59.
6. Dard C., Fricker-Hidalgo H., Brenier-Pinchart MP., Pelloux H., 2016. Relevance of and new developments in serology for toxoplasmosis. *Trends Parasitol*, 32, 492-506.
7. Munhoz AD., Hage SB., Cruz RDS., Calazans APF., Silva FL., Albuquerque GR., Lacerda LC., 2017. Toxoplasmosis in cats in northeastern Brazil: frequency, associated factors and coinfection with *Neospora caninum*, feline immunodeficiency virüs and feline leukemia virüs. *Vet Parasitol*, 8, 35-38.
8. Muz MN., Altuğ N., Karakavuk M., 2013. Hatay yöresi süt işletmelerindeki ruminantlar ve çoban köpeklerinde *Toxoplasma gondii* seroprevalansı ile kedi dışkılarında *T. gondii* benzeri ookist tespiti. *AVKAE Derg*, 3, 38-45.
9. Tian Y., Huang S., Miao Q., Jiang H., Yang J., Su C., Zhu X., Zou F., 2014. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* from cats in Yunnan province, Southwestern China. *Parasit Vectors*, 7, 178.
10. Altıntaş K., 1996. *Toxoplasma gondii* infections of animals in Turkey. *Acta Parasitol Turcica*, 20, 479-487.
11. Yasa Duru S., Kul O., 2016. Toksoplazmozis. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med*, 2, 58-62.
12. Brennan A., Donahoe SL., Beatty JA., Belov K., Lindsay S., Briscoe KA., Slapeta J., Barrs VR., 2016. Comparison of genotypes of *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Australia with latent infection or clinical toxoplasmosis. *Vet Parasitol*, 228, 13-16.
13. Shuralev EA., Shamaev ND., Mukminov MM., Nagamune K., Taniguchi Y., Saito T., Kitoh K., Arleevskaia MI., Fedotova AY., Abdulmanova DR., Aleksandrova NM., Efimova MA., Yarullin AI., Valeeva AR., Khaertynov KS., Takashima Y., 2018. *Toxoplasma gondii* seroprevalance in goats, cats and human in Russia. *Parasitol Int*, 67, 112-114.
14. Dubey JP., Jones JL., 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol*, 38, 1257-1278.
15. Jittapalpong S., Nimsupan B., Pinyopanuwat N., Chimnoi W., Kabeya H., Maruyama S., 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in stray cats and dogs in the Bangkok metropolitan area, Thailand. *Vet Parasitol*, 145, 138-141.
16. Bayrak N., 2004. Kars yöresindeki koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
17. Esteves F., Aguiar D., Rosado J., Costa ML., de Sousa B., Antunes F., Matos O., 2014. *Toxoplasma gondii* prevalence in cats from Lisbon and in pigs from centre and south of Portugal. *Vet Parasitol*, 200, 8-12.
18. Lopes AP., Cardoso L., Rodrigues M., 2008. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats from northeastern Portugal. *Vet Parasitol*, 155, 184-189.
19. Opsteegha M., Havemana R., Swarta AN., Mensink-Beerepoota ME., Hofhuisa A., Langelaara MFM., van der Giessena JWB., 2012. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats in The Netherlands. *Prev Vet Med*, 104, 317-326.
20. Dubey JP., Saville WJA., Stanek JF., Reed SM., 2002. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats from rural Ohio. *J Parasitol*, 88, 802-803.
21. Dubey JP., 2004. Toxoplasmosis-a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol*, 126, 57-72.
22. Lucas SR., Hagiwara MK., Loureiro V., Ikesaki JY., Birgel EH., 1999. *Toxoplasma gondii* infection in Brazilian domestic outpatient cats. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 41, 221-224.
23. Şahin L., Baykuş Y., Deniz R., Yavuz Y., Tazegün Z., Tazegün A., Acar O., 2015. The investigation of

- Toxoplasma gondii* seropositivity in pregnant women. J Eu Med, 3, 6-8.
24. Karatepe B., Babür C., Karatepe M., Kiliç S., Dündar B., 2008. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies and intestinal parasites in stray cats from Niğde, Turkey. Ital J Anim Sci, 7, 113-118.
  25. Özkan AT., Celebi B., Babür C., Lucio-Forster A., Bowman DD., Lindsay DS., 2008. Investigation of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cats of the Ankara region of Turkey using the sabin-feldman dye test and an indirect fluorescent antibody test. J Parasitol, 94, 817-820.
  26. Babür C., Aktaş M., Dumanlı N., Altaş MG., 1998. Elazığ yöresindeki kedilerde Sabin-Feldman Boya Testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. Vet Bil Derg, 14, 55-58.
  27. Erkilic EE., Mor N., Babur C., Kırmızıgül AH., Beyhan YE., 2016. The seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from the Kars Region, Turkey. IJVM, 71, 31-35.
  28. Alvarado-Esquivel C., Liesenfeld O., Herrera-Flores RG., Ramirez-Sanchez BE., Gonzalez-Herrera A., Martinez-Garcia SA., Dubey JP., 2007. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats from Durango City, Mexico. J Parasitol, 93, 1214-1216.
  29. Cardia DF., Camossi LG., Neto Lda S., Langoni H., Bresciani KD., 2013. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania spp.* infection in cats from Brazil. Vet Parasitol, 197, 634-637.
  30. Hong SH., Jeong YI., Kim JY., Cho SH., Lee WJ., Lee SE., 2013. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in household cats in Korea and risk factors. Korean J Parasitol, 51, 357-361.
  31. Hornok S., Edelhofer R., Joachim A., Farkas R., Berta K., Repasi A., Lakatos B., 2008. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection of cats in Hungary. Acta Vet Hung, 56, 81-88.



## Parietin HepG2 Hepatoselüler Karsinom Hücrelerinde Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Belirlenmesi

Alper Kürşat DEMİRKAYA<sup>1a</sup>, Gülşah GÜNDOĞDU<sup>2b</sup>✉, Yavuz DODURGA<sup>3c</sup>, Mücahit SEÇME<sup>3d</sup>, Köksal GÜNDOĞDU<sup>4e</sup>

1. Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Bilecik, TÜRKİYE.
  2. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
  3. Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli, TÜRKİYE.
  4. Erzurum Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-7994-7832<sup>a</sup>, 0000-0002-9924-5176<sup>b</sup>, 0000-0002-4936-5954<sup>c</sup>, 0000-0002-2084-760<sup>d</sup>, 0000-0001-6820-5625<sup>e</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
31.01.2018	14.08.2018	28.04.2019

### Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Demirkaya AK, Gündoğdu G, Dodurga Y, Seçme M, Gündoğdu K: Parietin HepG2 Hepatoselüler Karsinom Hücrelerinde Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 29-37, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.387311

**Öz:** Hepatoselüler karsinom (HCC) karaciğer hücrelerinden köken kansere bağlı ölümlerde de üçüncü sırada yer alan malign kanser türüdür. Parietin genellikle ışkın (*Rheum ribes* L.) gibi bazı bitkilerden izole edilen bir antrakinondur. Sitotoksik ve genotoksik testler karsinojenik ve kalıtsal risklerin değerlendirilmesinde önemli testlerdir. Bu çalışmada parietinin HepG2 hepatoselüler karsinom hücrelerinde sitotoksik ve genotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. HepG2 hücreleri uygun koşullarda kültüre edildi. Daha sonra hücrelere 25-1000 µM aralığında konsantrasyonda parietin uygulanarak 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. Hücre canlılık oranı XTT yöntemi ile doza ve zamana bağlı olarak belirlendi. Genotoksik etkisi ise komet yöntemi ile belirlendi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Parietin HepG2 hücrelerine IC50 değeri 48. saatte 25 µM olarak belirlendi. Komet analiz sonuçlarına göre DNA kuyruk uzunluğu, kuyruk yoğunluğu ve kuyruk momenti gibi parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmedi ( $p>0.05$ ). Bu çalışmada, parietinin HepG2 hücrelerinde düşük konsantrasyonda sitotoksik etki gösterdiği fakat genotoksik etki göstermediği gösterilmiştir. Sonuç olarak parietin, hepatoselüler karsinom tedavisinde diğer ilaçlarla birlikte kombine olarak faydalı bir ajan olabileceği öngörülmekle birlikte ve yapılacak olan daha detaylı çalışmalarla da desteklenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** HepG2 hücre hattı, Komet Analizi, Parietin.

## Determination of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Parietin in HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cells

**Abstract:** Hepatocellular carcinoma (HCC) originating from liver cells is the third leading cause of cancer-related death. Parietin is an anthraquinone, isolated from some plants such as *Rheum ribes* L. Cytotoxicity and genotoxicity tests have an important role in the assessment of heritable and carcinogenic risks. In this study, it was aimed to investigate the cytotoxic and genotoxic effect of parietin on HepG2 hepatocellular carcinoma cells. HepG2 cells were cultured in appropriate culture medium. Then, different concentrations of parietin (final concentrations in the well to be 25-1000 µM) were added to the cells and they were allowed to incubate for 24-48 hours. Cell viability and genotoxic effect were determined by using XTT method and comet assay, respectively. The IC50 concentration of parietin was detected as 25 µM at the 48 hour in HepG2 cells. According to the comet assay, there was no statistically significant increase DNA tail length, DNA tail intensity and DNA tail moment in parietin treated cell groups compared to control groups ( $p>0.05$ ). In this study, it has been shown that parietin has cytotoxic at low dose, but has not genotoxic effect in HepG2 cells, and as a result parietin was found to be useful in combination with other drugs in the treatment of HepG2 cells. However, this effect of parietin should be supported by further studies.

**Keywords:** Comet Assay, HepG2 cell line, Parietin.

✉Gülşah Gündoğdu  
Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
e-posta: gdemirkaya81@gmail.com

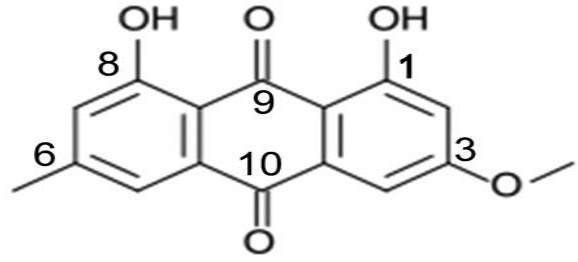
## GİRİŞ

**K**anser artan teşhis ve tedavi yöntemlerine rağmen başta gelişmiş ülkeler olmak üzere tüm dünyada en önemli sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Hastalıklara bağlı ölümler içinde kardiyovasküler hastalıklardan sonra en fazla ikinci ölüm oranına sahip olan kanser, sık görülmesi ve yol açtığı ölümler sebebiyle büyük bir halk sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2017 yılında yayınlamış olduğu "Kanserde Erken Teşhis Rehberi" raporunda, kansere bağlı ölümlerin temel sebebinin teşhiste yaşanan gecikmeler olduğunu ve aynı zamanda etkili tedavinin önemine vurgu yapılmıştır (2). Dünya Sağlık Örgütü'nün Türkiye ile ilgili yayınlamış olduğu bilgilere göre kansere bağlı ölümlerde 2000 yılında 89.4 bin olan hayatını kaybeden insan sayısının 2015 yılında 103.7 bine yükselerek %16 civarında arttığı bildirilmiştir (3). Kanser, diğer hastalıklarla karşılaştırıldığında kendini göstermesi, ilerlemesi ve sebep olduğu sonuçlar bakımından değişkenlik gösteren, genetik, kimyasal ve çevresel koşulların etkisiyle tetiklenen, hücrelerin kontrolsüz ve aşırı çoğalmaları, uzaktaki doku ve organlara metastaz yapmaları ile karakterize olan karmaşık bir hastalıktır (4). Kanser, genellikle tümör baskılayıcı genlerdeki inaktivasyon, onkogenlerdeki aktivasyon hücre bölünmesini kontrol eden genlerde ve DNA hasarının tespiti ve onarımında görev alan genlerde meydana gelen mutasyon veya anormal değişim sonucu oluşmaktadır (5). Normal hücrelerden anormal karakterli kanser hücresine dönüşüm için geçen süreç karsinogenez olarak isimlendirilir ve süreçte bazı temel hücresel değişikliklerde gözlemlenebilmektedir. Bunlar arasında, büyüme sinyalleri yönünden kendi kendine yeterlilik, büyüme baskılayıcı sinyallere karşı duyarsızlık, programlı hücre ölümü olarak adlandırılan apoptozdan kaçış, sınırsız replikasyon potansiyeli, doku istilası olarak bilinen invazyon yeteneği ve metastaz ile sürekli anjiyogenez sayılabilir (6,7). Kanser tedavisinde tespit edilen tümörün bulunduğu doku, karakteri ve

evresi ile hastanın fizyolojik durumuna göre çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmaktadır. Bunlar arasında, kemoterapi, radyoterapi, immunoterapi, monoklonal antikor terapileri, genetik terapi ve cerrahi müdahale gibi yöntemler bulunmaktadır (8,9). Günümüzde tıp ve teknolojiye gelişmeler kapsamında teşhis ve tedavide artan imkânlarla rağmen kanser ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Hepatoselüler karsinoma, dünya çapında kansere bağlı ölümler arasında üçüncü sırada yer alan bir kanser türüdür (10). Kemoterapi, cerrahi müdahale, rezeksiyon ve organ nakli gibi konvansiyonel tedavilerdeki başarı oranının çok yüksek olmaması, hastalığın nüksetmesi ve aynı zamanda tedavi kapsamında ortaya çıkan yan etkiler nedeniyle toksik etki göstermeyen ve etki mekanizması, biyoyararlanımı ve metabolizması tam anlamıyla aydınlatılmış bitkisel kökenli biyomoleküllerin tespiti ile tedavi aranması çalışmaları devam etmektedir (11-13). Hepatoselüler karsinomun oluşumunda ve gelişiminde genetik ve epigenetik olayların birikmesi sonucu oluşan kompleks ve çok aşamalı bir sürecin rol aldığı düşünülmektedir (14).

Gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerdeki geleneksel ilaçların üretimi ve kullanımı giderek yaygınlaşmakta olup bu durum artan bir ticari potansiyel oluşturmuştur (15). Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınlamış olduğu raporda 1970'li yıllardan bu yana yapılan epidemiyolojik çalışmalarda kanserden korunma noktasında beslenme ve diyetin oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır (3). Bu doğrultuda, meyve sebze ağırlıklı beslenme ve diyetin kolon, akciğer özafagus, mide, akciğer, karaciğer ve rektum kanserlerine yakalanma riski ile ters orantı olduğu rapor edilmiştir (16,17). Son yıllarda yapılan çalışmalar programlı hücre ölümü ve hücre döngüsünü düzenleyen onkogen ve tümör baskılayıcı genler üzerinde hepatokarsinogenez arasındaki ilişki üzerine odaklanarak tedaviye katkı sağlamaya ve yeni biyobileşiklere odaklanmaktadır (18). Eski tarihlerden

bu yana bitkiler ve likenler pek çok ülkede tıbbi amaçlı olarak geleneksel tedavi kapsamında ilaç olarak kullanılmıştır (19). Likenler, alg ve mantarların beraber bir araya gelerek oluşturdukları morfolojik ve fizyolojik birliktelik olarak bilinmektedir (20). Likenlerin sahip olduğu stistik asit, giroforik asit ve norstistik asit gibi sekonder metabolitler sayesinde tedavi etkiye sahip olduğu ve günümüzde de bu metabolitlerin kanser, artrit, diyabet, egzema, solunum ve dolaşım yolu gibi bazı hastalıklarda tedavi edici ajan olarak kullanımına yönelik çalışmalar mevcuttur (21,22). Mantar ve alglerin simbiyotik birlikteliği ile oluşan likenler, pek çoğu likenlere özgü olan çeşitli metabolitler sentezlemektedir (20,23). Liken sekonder metabolitlerinin antibakteriyal, antiviral, antioksidan ve antikanserojen olmak üzere pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu ve bu metabolitlerin tıbbi ve biyoteknolojik özellikleri nedeniyle tedavi amaçlı aday moleküller olabileceğine dair çalışmalar ortaya yapılmaktadır (24). Parietin, *Xanthoria parietina* gibi liken türlerinden elde edilen sekonder metabolit olup bir antrakinon pigmentidir (Şekil 1). Bu pigment likenlerin üst korteksinin en üst seviyesinde yer alan küçük ekstraselüler kristaller olarak lokalizedirler ve güneş ışınlarına karşı güçlü bir turuncu-kahverengimsi renk vermesinden dolayı koruyucu bir rol üstlenirler (25-27). Çeşitli çalışmalarda parietinin antifungal ve antibakteriyal aktiviteleri gösterilmiştir. Ayrıca, parietinin çeşitli kanser tiplerinde apoptozu indükleyerek anti-kanserojen etki gösterdiği rapor edilmiştir (28,29). Literatürde parietinin hepatoselüler karsinom hücreleri üzerinde antikanser mekanizmasını inceleyen bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle çalışmada *Rheum ribes* L'den izole edilen parietinin hepatoselüler karsinom hücreleri olan HepG2 hücre hattında sitotoksik ve genotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.



**Şekil 1.** Parietinin (1,8-dihydroxy-3-methoxy-6-methyl- 9,10-anthraquinone) yapısı (30).

**Figure 1.** Structure of parietinin (1,8-dihydroxy-3-methoxy-6-methyl- 9,10-anthraquinone) (30).

### MATERYAL ve METOT

Çalışmada, Fötal Sığır Serum (Sıcaklık ile inaktive edilmiş) (Biological Industries), Kristal Viyole (BioShop), Hoechst (Sigma), Penisilin/Streptomisin (Biological Industries), Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) (Biological Industries), Phosphate buffered saline (PBS) (Biological Industries), Tripan Mavis Boyası (%0.5 (w/v) fizyolojik tuz içinde), Dimetil sülfoksit (DMSO) (Roche) (Santa Cruz), DNAaz/RNAse free su (Invitrogen), Steril kültür kapları (Petri), (Greiner) 96 kuyucuklu hücre kültür kabı (Greiner) 96-Kuyucuklu PCR Array Plate (Qiagen) XTT proliferation Kit (Biological Industries), yüksek ve düşük erime noktalı Agaroz [Lonza, Sea Plaque®Agarose, İsviçre), Histopak-1077 (Sigma Aldrich®, ABD), Metanol (Sigma Aldrich®, ABD), Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) (Fischer BioReagents®, ABD)'den sağlanan kimyasallar ve kitler kullanıldı. Parietin, *Rheum ribes* L. bitkisinden izole edildi. İn vitro koşullarda HepG2 hücre hattı kullanıldı ve hücreler %10 fötal sığır serum (FBS), %1 L-glutamin, 100IU/ml penisilin ve 10mg/mL streptomisin içeren DMEM besiyerinde %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C'e sıcaklıkta etüvde inkübe edildi. Daha sonra parietinin HepG2 hücreleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için, farklı konsantrasyonlarda parietin (25µM–1000µM) uygulanarak 24 ve 48 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin ardından Cell Proliferation Assay with XTT Reagent-Cell Proliferation Kit analiz yöntemi ile hücre canlılığı

(sitotoksosite durumu) ve hücrelerin %50'nin yaşadığı doz değerlendirildi.

### XTT Analizi

Sitotoksik etkiler, sitotoksitenin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan enzimatik test yöntemlerinden biri olan XTT analiz yöntemi ile belirlendi. Çalışma üretici firmanın kit protokolüne göre yapıldı. Bu test suda eriyebilen bir bileşik olan XTT 2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide)'yi canlı hücrelerde turuncu renkli formazon bileşenlerine indirgenmesi prensibine göre işlemektedir. Formazan absorbansı ELISA reader (MicroQuant, Reader, BioTek, Winooski, VT, USA) ile 450nm dalga boyunda ve 630nm referans aralığında değerlendirildi. Ölçülen optik dansite değeri aşağıdaki formül kullanılarak doza ve zamana bağlı olarak tespit edildi.

% Hücre Canlılığı = (Ölçülen optik dansite değeri)/(Kontrol optik dansite değeri)x100

### Komet Analizi

HepG2 hücrelerinde parietinin genotoksik etkisini belirlemek için komet yöntemi kullanıldı. XTT yönteminde tespit edilen parietinin IC<sub>50</sub> dozu ve kontrol hücreleri 6 well plakalara her bir plakada 2x10<sup>5</sup> hücre olacak şekilde ekildi. IC<sub>50</sub> doz süresi sonucunda plakalardan hücreler toplandı ve komet analizi için kullanıldı. Deney öncesi lamlar %1.8'lik yüksek erime noktalı agaroz (HMA) çözeltisine maruz bırakılarak hazırlandı. Deney günü hücre ve düşük erime noktalı agaroz (LMA) karışımı lamlara damlatılıp, üzeri lamellerle kapatıldı ve agarozun katılaşması için buzdolabında bekletildi. Süre sonunda lameller çıkarılıp lizis çözeltisinde bekletildi ve sonra lamlar yıkanarak uygun akım, süre ve sıcaklıkta (1V/cm, 300mA, 20 dakika, 4°C) elektroforez aşaması gerçekleştirildi. Lamlar distile su ile yıkanıp sırayla nötralizasyon çözeltisi ve metonelde bekletildi. Hazır hale gelen preparatlar etidyum bromür ile boyandı ve Comet Assay IV Version 4.3.2 for Basler FireWire görüntü analiz programı kullanılarak Floresan Mikroskop (Nikon)

yardımıyla görüntü analizi gerçekleştirildi. Çalışma sonucunda kontrol ve doz grubu hücrelerin DNA kuyruk uzunluğu, DNA kuyruk yoğunluğu, DNA baş uzunluğu ve yoğunluğu DNA kuyruk momenti değerleri incelendi.

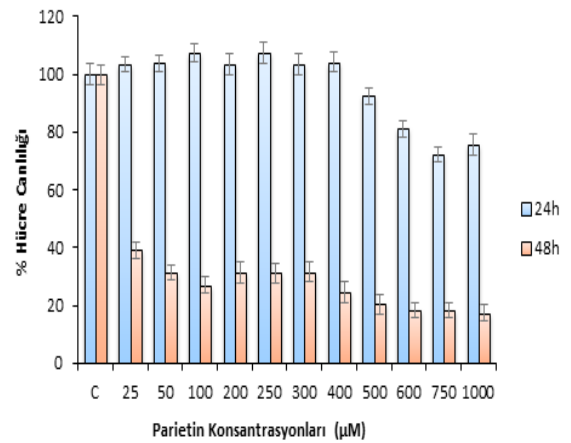
### İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama±standart hata olarak verildi. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırma student-t testi kullanılarak hesaplandı. Tüm hesaplamalar, istatistiksel analiz için SPSS 24 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel önemi göstermek için P<0.05 değerleri dikkate alındı.

## BULGULAR

### XTT Testi ile Sitotoksite Sonuçları

Parietinin HepG2 hepatoselüler karsinom hücrelerinde 24 ve 48. saatlerde 25 µM ve 1000µM arasındaki dozlarda hücre canlılığı üzerine olan etkisi ve IC<sub>50</sub> dozu belirlendi (Şekil 2). Bu kapsamda parietinin HepG2 hücrelerinde IC<sub>50</sub> dozu 48. saatte 25 µM olarak tespit edildi. Parietin HepG2 hücrelerinde doza ve zamana bağlı olarak hücre proliferasyonunu azalttığı tespit edildi.

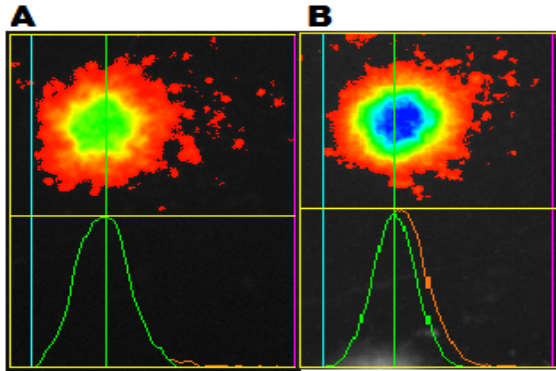


**Şekil 2.** HepG2 hücrelerinde çeşitli konantrasyonlardaki parietinin sitotoksik etkileri [C: kontrol (Herhangi bir madde ile tedavi edilmemiş hücre)].

**Figure 2.** The cytotoxic effects of parietin at various concentrations in HepG2 cell line [C: control (untreated cells)].

### Komet Testi ile Genotoksosite Sonuçları

HepG2 HCC hücre hattında parietinin DNA hasar ve genotoksitesini belirlemek için komet yöntemi kullanıldı. Çalışmada parietinin IC<sub>50</sub> dozu (48 saat için 25µM) kullanıldı. Komet yöntemi ile tedavi uygulanmamış kontrol hücreleri yuvarlak görünümünde iken, parietin uygulanan hücrelerde bir miktar kuyruk görüntüsü izlendi (Şekil 3).



**Şekil 3.** Komet yöntemi görüntüsü: A: Normal, tedavi edilmemiş HepG2 hücreleri; B: 48 saat süreyle 2 µM parietin ile tedavi edilen HepG2 hücreleri.

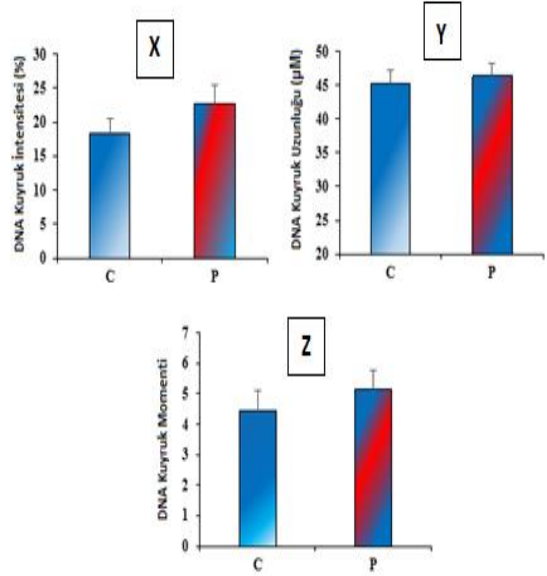
**Figure 3.** Comet assay images: A. Normal, untreated HepG2 cell; B. HepG2 cells treated with 25µM parietin for 48 hours.

Komet yöntemi sonuçlarına göre (Şekil 4), 48 saat süreyle 25µM parietin ile tedavi edilen HepG2 hücrelerde kontrol hücrelerine göre (normal, tedavi edilmemiş HepG2 hücreleri) DNA kuyruk intensitesi,

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada parietin adı verilen liken ve bitkisel metabolitin HepG2 hepatosellüler kanser hücrelerinde anti-proliferatif ve genotoksik etkinliği araştırılmıştır. HepG2 hücrelerinde hücre proliferasyonunun durdurduğu tespit edilmiş ve parietinin IC<sub>50</sub> dozu 48. Saatte 25µM olarak belirlenmiştir. Parietinin genotoksik etkisinin belirlenmesi için yapılan komet yönteminde ise kontrol grubu ve parietin muamele edilen grup arasında DNA kuyruk uzunluğu, DNA kuyruk yoğunluğu ve DNA kuyruk momenti gibi parametrelerde istatistiksel olarak herhangi bir

DNA kuyruk uzunluğu ve DNA kuyruk momentinde artış tesbit edildi, bu artış istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilmedi (P>0.05).



**Şekil 4.** 48 saat süre ile 25µM parietin ile tedavi edilen HepG2 hücrelerinin komet parametreleri. X: DNA kuyruk intensitesi, Y: DNA kuyruk uzunluğu, Z: DNA kuyruk momenti. [n=55, P>0.05; C: kontrol (tedavi edilmemiş hücre), P: 25µM Parietinin ile tedavi edilmiş hücre].

**Figure 4.** Comet parameters of HepG2 cells were treated with 25µM parietin for 48 hours. X: DNA tail intensity, Y: DNA tail length, Z: DNA tail moment. [n=55, P>0.05; C: control (untreated cells), P: cells treated with 25µM parietin].

anlamlılık tespit edilememiştir. Bu sonuç, düşük konsantrasyonlarda hücre proliferasyonunu azaltan parietinin bu hücrelerde genotoksik bir aktivite sergilemediği ve yapılacak olan çalışmalarda etkili bir ajan olabileceğini göstermiştir. Günümüzde sekonder metabolitlerin flavonoidlerin, fenolik bileşiklerin ve benzer biyomoleküllerin biyoyararlanımları ve etki mekanizmaları hakkında çalışmalar yapılmakla birlikte insanlardaki metabolik dönüşümleri göz ardı edildiğinden sağlık üzerine olan etkileri tam anlamıyla belirlenmemiştir. Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda bu bileşiklerin biyoaktiviteleri arasında farklılıkların olduğu yönünde sonuçlar rapor edilmesi



nedeniyle, araştırılan bu bileşiklerin biyoaktivite tespitleri için biyoyararlanımları, emilimleri ve metabolizmalarının net olması önem arz etmektedir. Bununla birlikte sekonder metabolitler antikanserojen, antibakteriyal, antifungal, antiviral, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-diyabetik, hepatoprotektif faaliyetler gibi önemli güçlü biyolojik aktivite ve özelliklere sahiptirler (31-33). Ülkemizde ve tüm dünyada bitkisel bileşiklerin farmasötik özelliklerinden faydalanılarak halk arasında tamamlayıcı tedavi kapsamında tıbbi yönlerinden faydalanılmıştır. Likenlerden de elde edilen pek çok metabolik bileşik bu amaçla kullanılmaktadır. Liken metabolitleri ile yapılan çalışmalarda tümör hücrelerine karşı anti-proliferatif etki gösterdiğine yönelik çeşitli araştırmalar olsa da mevcut veriler oldukça kısıtlıdır (20). Bununla birlikte, Liken sekonder metabolitlerinden usnik asit [2, 6 -diasetil - 7, 9 – dihidroksi - 8, 9 b – dimetil - 1, 3 (2H9bH) dibenzofurandion], anti-tümöral etkinliği ve insan meme adenokarsinom hücre hattı olan MCF-7 hücrelerinde, HTC-116 insan kolon adenokarsinomunda ve HeLa serviks kanseri hücrelerinde anti-proliferatif etkisi tespit edilmiştir (34). Bu bileşiğin A549 akciğer adenokarsinom hücre hatlarında G0/G1-siklin D1 siklin-bağlı kinazlar (CDKs) ve siklin-bağlı kinaz inhibitör (CDK1) protein ifade düzeyi üzerinde hücre döngüsünün durdurulmasını ve mitokondriyal membran potansiyelini etkileyerek apoptozu indükleyerek hücre büyümesinin inhibe ettiği bildirilmiştir (35). Bir diğer bileşik olan Atranorin sekonder metaboliti ile yapılan in vitro anti-tümöral etki çalışmalarında insan ovariyum A2780, HT-29 kolon kanseri, LNCaP ve DU-145 prostat kanser hücrelerinde sitotoksik etki göstererek apoptozu sürüklediğine yönelik sonuçlar elde edilmiştir (28,36). Galanty ve ark. (37), tarafından yapılan çalışmada Usnic acid ve atranorin melanoma HTB-140, prostate cancascid-145 ve PC-3 hücrelerinde de sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Basile ve ark. (38), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, bir liken türü olan *Xanthoria parietina*'dan izole edilen parietinin aseton ekstraktının antifungal, antimikrobiyal etki gösterdiği

ve hücre proliferasyonunun da azalttığı ortaya koyulmuştur. MCF-7 ve MDA-MB231 insan meme kanseri hücre hatlarında parietinin hücre çoğalmasını durdurduğu ve apoptozu indüklediği ve bunu da hücre döngüsünün regülasyonunda görev alan p16, p27, siklin D1 ve siklin A gibi genlerin ekspresyonunu azaltarak ve ayrıca iç ve dış apoptotoik yollarda görev alan TRAIL ve Bcl-2 gibi genlerin ekspresyonlarını değiştirerek yaptığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada parietinin in vitro fotodinamik antibakteriyal etki gösteren bir etkili foto-tarama pigmenti olduğu belirtilmiştir (25). Triggiani ve ark. (39), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada parietin içeren *Xanthoria parietina* ekstraktının fare miyelom hücrelerinde (P3X63Ag8.653) hücre proliferasyonunu %75 oranında düşürerek ve hücre canlılığını anlamlı derecede azalttığı belirtilmiştir. A2780, HeLa, MCF-7, SK-BR-3, HT-29, HCT-116 p53+/+, HCT-116 p53-/- ve HL-60 gibi aynı anda çok fazla hücre hatlarında yapılan bir in vitro çalışmada liken metabolitlerinde parietin, atranorin, usnic asit ve gyrophoric asitin proliferatif ve sitotoksik etkinliği incelenmiş ve hücre proliferasyonu hücre döngüsünün kontrolü ve apoptozis, çekirdek morfolojisi üzerinde doza ve zamana bağlı olarak etki gösterdiği belirtilmiştir (40). Özellikle kanser alanında liken sekonder metabolitleri ile yapılan çalışmalar, kanser hücrelerinde programlı hücre ölümünün ve hücre döngüsünün engellenmesi, VEGF sinyali üzerinden anjiyogenezin baskılanması, telomeraz aktivitesini inhibe ederek hücre ölümsüzlüğünün durdurulması üzerine yapılmaktadır. İmmünojenetik araştırmalar ise invazyon metataz gibi hücre basamaklara etkisi, genom stabilitesi, büyüme faktörlerinin hedeflenerek hücre gelişiminin durdurulması gibi birçok hücre ve moleküler biyolojik mekanizmalara etkisinin aydınlatılması üzerine yapılmaktadır (41). Likenler ve bitkiler, geçmişten günümüze, içermiş olduğu güçlü antioksidan ve biyaktif bileşiklerle fitokimyasal ve farmakolojik açıdan dikkatleri üzerine çeken bir hedef olarak araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmalarla ilgi uyandırmış çeşitli hastalıkların tedavisinde ve

özellikle günümüzde kanser araştırmalarında oldukça önemli bir potansiyel olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda özellikle bitkisel, fungal veya liken ilişkili bileşiklerle yapılan çalışmalarda ve tedaviye yönelik temel araştırmalarda ümit vaat eden sonuçlar ortaya çıkması bu konuda yapılacak daha detaylı çalışmaları destekleyecek ve onlar için temel ön bilgi oluşturacaktır. Özellikle kanser ile ilişkili çalışmalarda sinyal iletim yolağı gibi önemli moleküler düzeyde mekanistik çalışmalarla ve genişletilmiş in vitro ve in vivo araştırmalarla likene dayalı bileşiklerin kullanılarak klinik denemelere geçilmesi ve tedavide önemli çözümlere potansiyel oluşturması açısından liken biyoaktif bileşenlerinin önemi daha da artacaktır.

Sonuç olarak, parietinin hepatoselüler karsinom hücre hattı olan HepG2 hücrelerinde ilk defa sitotoksik ve genotoksik etkinliği araştırılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Tüm bu veriler parietinin tekli ve kombine olarak çeşitli ajanlarla birlikte etkinliği yüksek bir biyoaktif bileşik olabileceği ve yapılacak olan daha detaylı çalışmalarla etki mekanizmalarının da aydınlatılarak bu alana katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Kutluk T., Kars A., 2001. Kanser konusunda güncel Bilgiler. T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Kanser ve Savaş Daire Başkanlığı, Ankara.
2. WHO, 2017. Guide to cancer early diagnosis. World Health Organization Document Production Services, Geneva, Switzerland.
3. IARC, 2014. Bernard WS, Chistoper PW. World Cancer Report, IARC Press, Lyon.
4. Merlo LM., Pepper JW., Reid BJ., Maley CC., 2006. Cancer as an evolutionary and ecological process. *Nat Rev Cancer*, 6, 924-935.
5. Guyton AC., Hall JE., 2017. Protein sentezi, hücre fonksiyonu ve hücre çoğalmasının genetik kontrolü. In "Tıbbi Fizyoloji", Ed., BÇ Yeğen, 13th ed., 27-43, Güneş Tıp Kitapevi Ltd şti, Ankara.
6. Hanahan D., Weinberg RA., 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144, 646-674.
7. Lodish H., Berk A., Kaiser CA., Krieger M., Scott MP., Bretscher A., Ploeg H., Matsudaira P., 2008. *Molecular Cell Biology*. 6th Ed., 1107-1108, WH Freeman and Company, New York.
8. Türker FA., Kayaalp SO., 2002. Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. In "Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji", Ed., SO Kayaalp, 380-415, Feryal Matbaacılık, Ankara.
9. Tozkoparan B., Aytaç SP., 2007. Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar. *Hacettepe Üniv Ecz Fak Derg*, 27, 139-164.
10. Jemal A., Bray F., Center MM., Ferlay J., Ward E., Forman D., 2011. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 61, 69-90.
11. Athar M., Back JH., Tang X., Kim KH., Kopelovich L., Bickers DR., Kim AL., 2007. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol Appl Pharmacol*, 224, 274-283.
12. Venugopal R., Liu RH., 2012. Phytochemicals in diets for breast cancer prevention: The importance of resveratrol and ursolic acid. *Food Sci Human Welln*, 1, 1-13.
13. Singh CK., George J., Ahmad N., 2013. Resveratrol-based combinatorial strategies for cancer management. *Ann NY Acad Sci*, 1290, 113-121.
14. Kojiro M., Roskams T., 2005. Early hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules. *Seminars in Liver Dis*, 25, 133-142.
15. Roy-byrne PP., Bystritsky A., Russo J., Craske MG., Sherbourne CD., Stein MB., 2005. Use of herbal medicine in primary care patients with mood and anxiety disorders. *Psychosomatics*, 46, 117-122.
16. Steinmetz KA., Potter JD., 1991. Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanisms. *Cancer Causes Cont*, 2, 427-442.
17. Ziegler RG., Colavito EA., Hartge P., McAdams MJ., Schoenberg JB., Mason TJ., Fraumeni JF., 1996. Importance of alpha-carotene, beta-carotene, and other phytochemicals in the etiology of lung

- cancer. *Natl Cancer Inst*, 9, 612-615.
18. Villanueva A., Newell P., Chiang DY., Friedman SL., Llovet JM., 2007. Genomics and signaling pathways in hepatocellular carcinoma. *Seminars in Liver Dis*, 27, 55-76.
  19. Shibata S., Ukita T., Tamura T., Miura Y., 1948. Relation between chemical constitutions and antibacterial Effects of usnic acid and derivatives. *Jap Med J*, 1, 152-155.
  20. Özenoğlu S., Aydoğdu G., Dinçsoy AB., Taghidizaj AA., Derici K., Yılmaz E., Aras S., Cansaran-Duman D., 2013. Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 70, 215-226.
  21. Asahina Y., 1967. Lichenologische Notizen. *J Jap Bot*, 42, 289-294.
  22. Huneck S., Yoshimura I., 1996. Identification of Lichen Substances. e-Book. 1th Edition. 304-349, Springer-Verlag, Hiedelberg, Berlin.
  23. Miao V., Legal MFC., Brown D., Sinnemann S., Donaldson G., Davies J., 2001. Genetic Approaches to Harvesting Lichen Products. *Trends in Biotech*, 19, 349-355.
  24. Şekerli M., Kılıç N., Cansaran-Duman D., 2017. Liken metabolitlerinin antikanser aktivite etkisinin moleküler düzeydeki mekanizmaları. *Turk Hij Den Biyol Derg*, 74, 95-102.
  25. Comini L., Vieyra FEM., Mignone RA., Paez PL., Mugas ML., Konigheim BS., Cabrera JL., Montoya SCN., Borsarelli CD., 2017. Parietin: an efficient photo-screening pigment in vivo with good photosensitizing and photodynamic antibacterial effects in vitro. *Photochem Photobiol Sci*, 16, 201-210.
  26. Solhaug K., Gauslaa Y., 1996. Parietin, a photoprotective secondary product of the lichen *xanthoria parietina*. *Oecologia*, 108, 412-418.
  27. Gauslaa Y., Ustvedt EM., 2003. Is parietin a UV-B or a blue-light screening pigment in the lichen *xanthoria parietina*?. *Photochem Photobiol Sci*, 2, 424-432.
  28. Backorova M., Jendzelovsky R., Kello M., 2012. Lichen secondary metabolites are responsible for induction of apoptosis in HT-29 and A2780 human cancer cell lines. *Toxicol in Vitro*, 26, 462-468.
  29. Basile A., Rigano D., Loppi S., Di Santi A., Nebbioso A., Sorbo S., Conte B., Paoli L., De Ruberto F., Molinari AM., Altucci L., Bontempo P., 2015. Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *Int J Mol Sci*, 16, 7861-7875.
  30. Edwards HGM., Newton EM., Wynn-Williams DD., Coombes SR., 2003. Molecular spectroscopic studies of lichen substances 1: parietin and emodin. *J Mol Struct*, 648, 49-59.
  31. Gibellini L., Pinti M., Nasi M., Montagna JP., Biasi SD., Roat E., Bertocelli L., Cooper EL., Cossarizza A., 2011. Quercetin and cancer chemoprevention. *Evid Based Complement Alternat Med*, 1-15.
  32. Viskupicova J., Ondrejovic M., Sturdik E., 2008. Bioavailability and metabolism of flavonoids. *J Food Nutr Res*, 47, 151-162.
  33. Mitrovic T., Stamenkovic S., Cvetkovic V., Tosic S., Stankovic M., Radojevic I., Stefanovic O., Comic L., Dacic D., Curcic M., Markovic S., 2011. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. *Int J Mol Sci*, 12, 5428-5448.
  34. Brisdelli F., Perilli M., Sellitri D., 2013. Cytotoxic activity and antioxidant capacity of purified lichen metabolites: an in vitro study. *Phytother Res*, 27, 431-437.
  35. Singh N., Nambiar D., Kale RK., Singh RP., 2013. Usnic acid inhibits growth and induces cell cycle arrest and apoptosis in human lung carcinoma A549 cells. *Nutr Cancer*, 65, 36-43.
  36. Russo A., Caggia S., Piovano M., 2012. Effect of Vicanicin and on human prostate cancer cells: role of Hsp70 protein. *Chem Biol Interact*, 195, 1-10.
  37. Galanty A., Koczurkiewicz P., Wnuk D., Paw M., Karnas E., Podolak I., Wegrzyn M., Borusiewicz M., Madeja Z., Czyz J., Michalik M., 2017. Usnic acid and atranorin exert selective cytostatic and anti-invasive effects on human prostate and

- melanoma cancer cells. *Toxicol in Vitro*, 40, 161-169.
38. Basile A., Rigano D., Loppi S., Di Santi A., Nebbioso A., Sorbo S, Conte B., Paoli L., De Ruberto F., Molinari AM., Altucci L., Bontempo P., 2015. Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *Int J Mol Sci*, 16, 7861-7875.
  39. Triggiani D., Ceccarelli D., Tiezzi A., Pisani T., Munzi S., Gaggi C., Loppi S., 2009. Antiproliferative activity of lichen extracts on murine myeloma cells. *Biologia*, 64, 59-62.
  40. Backorova M., Backor M., Mikes J., Jendzelovsky R., Fedorocko P., 2011. Variable responses of different human cancer cells to the lichen compounds parietin, atranorin, usnic acid and gyrophoric acid. *Toxicol in Vitro*, 25, 37-44.
  41. Kim H., Keun KK., Hur JS., 2015. Anticancer activity of lichen metabolites and their mechanisms at the molecular level. In "Recent Advances in Lichenology", Ed., DK Upreti. 201-208, Springer, India.





## Ruminant Ön Bacağında Anatomik Modellerin Oluşturulması\*

Burcu ONUK<sup>1a</sup>, Ahmet ÇOLAK<sup>2b</sup>

1. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.
  2. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0001-8617-3188<sup>a</sup>, 0000-0002-1564-9377<sup>b</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
08.02.2018	06.10.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
**Onuk B, Çolak A:** Ruminant ön bacağına anatomik modellerin oluşturulması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 38-44, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.392036

**Öz:** Türkiye’de veteriner anatomi eğitimi teorik ve uygulamalı olmak üzere iki aşamalı gerçekleştirilmektedir. Öğrenciye teorik derslerde didaktik bir eğitim sunulurken, uygulamalı derslerde ise maket, model ve kadavra kullanılarak öğrenme pekiştirilmektedir. Ancak günümüzde ticari olarak temin edilen maketler ders materyali olarak yetersiz hazırlanmıştır. Bundan dolayı yapılan bu çalışma ile akademik olarak desteklenmiş, ruminant ön ekstremite kemik-eklem-kas-sinir modelleri oluşturulması amaçlanmıştır. Kemik modelleme için yaklaşık 100 kg kilden 80 adet dikdörtgen prizma şeklinde kil hazırlanmış, üzerine karbon kağıt kullanılarak şemalar çizilip modelleme yapılmıştır. Polyester döküm kemik modelleme için, hazırlanan modelden silikon kalıp alınıp polyester döküm ile çoğaltılarak maketler oluşturulmuştur. Eklem modellemede hazırlanan polyester modeller çelik konstrüksiyonla hareketli olarak birleştirilmiştir. Kas modelleme aşamasında renkli eva süngeri kullanılmıştır. Sinir modelleme için, yapılan ana model üzerinde ön bacak sinirleri yerleştirilmiştir. Böylece veteriner anatomi eğitiminde kullanılabilecek yeni alternatif modeller oluşturulmuştur. Çalışmada ortaya çıkan çıktıların veteriner fakültelerindeki eğitim sürecine farklı bir bakış açısı kazandıracağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Anatomi, Çizim, Kil Modelleme, Polyester Döküm, Veteriner.

## Composing Anatomical Models on Ruminant Forelimb

**Abstract:** The veterinary anatomy education is taught as two phased, which are theoretical and practical education in Turkey. While in theoretical class a didactical instruction is presented, in practical class the learning process is consolidated by using mockup, model and cadaver. Nevertheless at the present time the mockups which are provided by commercially are prepared insufficiently as class materials. Therefore with this study, it was determined to create ruminant forelimb bone-joint-muscle-nerve models which are supported academically. For bone modelling 80 pieces of rectangular parallelepiped were prepared by using approximately 100 kg of clay, then by using carbon paper schemas were drawn on them. For polyester moulding bone modelling, by taking silicon pattern from the prepared model and reproducing with polyester moulding the mockups were made. The polyester models which were prepared for joint modeling were put together with steel construction as (to be) movable. During the process of muscle-modeling, colorful eva paper is used. For the nerve-modeling, forelimb nerves were placed on the main model which had been made before. Thus new alternative models were created for the purpose of education of veterinary anatomy. We are of the opinion that outcomes obtained from the study will give a different point of view in training process in veterinary faculties.

**Keywords:** Anatomy, Clay Modelling, Drawing, Polyester Cast, Veterinary.

<sup>a</sup>Burcu ONUK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.  
e-posta: burcuonuk@omu.edu.tr

\* Bu çalışma Ruminant Ön Bacağında Anatomik Modellerin Oluşturulması konulu yüksek lisans tezinin bir kısmıdır ve PYO.VET.1904.16.015 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. 1. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & 10. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

## GİRİŞ

**G**örsel bir bilim dalı olan anatomi, hekimlikte temel bilimler başlığı altındaki eğitim-öğretim programları içerisinde önemli bir yere sahiptir. Öğretme-öğrenme sürecinde görsel yöntemlerin işitsel ve diğer yöntemlere oranla daha etkili olduğu, anatomi öğreniminde uygulamaların önemini ortaya koymaktadır (1). Anatomi eğitiminin başlıca amacı, öğrenci için gerekli bilgi ve becerileri kazandırmaktır. Bu amaç için teknolojinin de katkıda bulunduğu yöntemler kullanılmaktadır (2). Özellikle 3D anatomi modellerinin ve artırılmış gerçekçiliğin öğrenme üzerine olumlu etkileri olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (3,4,5). Tüm bu yöntemler öğrencinin motivasyonunu artırırken öğreniminde daha kalıcı hale gelmesini sağlamaktadır (2). Anatomi öğrenmede geleneksel yöntemlerin ve yenilikçi çözümlerin olumlu etkisinin yanı sıra radyolojik görüntülemelerin yorumlanmasına da katkı sağladığı vurgulanmaktadır (6). Son yıllarda dünyada anatomi eğitiminde kullanılmaya başlanan en yeni alternatif eğitim yöntemi ise kil modellemedir. Bu konuda yapılan araştırmalar kil modelleme deneyimi yapan öğrencilerin sınavlarda daha iyi performans gösterdiklerini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar kil modellemenin anatomi eğitiminde iyi bir alternatif olabileceğini göstermektedir (7).

Yapılan detaylı literatür taramalarında dünyada anatomi eğitiminde kullanılmaya başlanan kil modelleme yönteminin ülkemizde kullanıldığını gösteren herhangi bir veriye rastlanılmamıştır. Bundan dolayı yapılan bu çalışma ile akademik olarak desteklenmiş, ruminant ön ekstremitte kemik-eklem-kas-sinir modelleri oluşturulması amaçlanmıştır. Bu modelleme yönteminin ülkemiz veteriner anatomi eğitiminde bir ilk olacağı ve yeni destekleyici eğitim yöntemlerine öncülük yapacağı kanaatindeyiz.

## MATERYAL VE METOT

### Kil kemik modelleme

Yedi parçadan oluşan ön ekstremitte gurubu (scapula-skeleton brachii-skeleton antebrachii-ossa

carpi-ossa metacarpalia-phalanx proximalis-phalanx media-phalanx distalis) için yaklaşık 100 kg vakumlu gri seramik çamuru kullanıldı. 70 adet dikdörtgen prizma şeklinde kil hazırlandı. Kil üzerine karbon kağıt kullanılarak şemalar çizilip modelleme yapıldı. Kil üzerinde model şema oluşturulduktan sonra aslına yakın çamur model oluşturuldu. Bu modeller 1020 °C'lik seramik fırınında 12 saat pişirilerek dayanıklı porselen hale getirildi.

### Polyester döküm kemik modelleme

Uygulama öncesi orijinal kemiklerden bakılarak aslına uygun şekilde 11 parça kemik, kil kullanılarak %50 oranında küçültülmüş kemik modelleri yapıldı. Sonrasında bu modellerden silikon kalıplar oluşturuldu. Oluşturulan bu kalıplara polyester, kalsit (mermer tozu-0,5µ), kobalt ve mekperoksit karışımından oluşan sıvı döküm malzemeleri enjekte edildi (8). Oluşan plastik modeller akrilik boya ile bej ve siyah renklere boyandı. Üzerine mat koruyucu spreyn vernik atıldı.

### Eklem Modelleme

Önceden kemik modelleme için üretilmiş olan polyester modeller kullanılarak metal ve ahşap konstrüksiyonla birleştirildi. Eklem arasına elastik renkli oyun hamurları konularak belirgin hale getirildi.

### Kas Modelleme

Kemikler ve eklemler birleştikten sonra oluşan model üzerine uygulandı. Renkli eva süngerini uygun ölçüde kesildi. Her bir kas için kesilen eva süngerleri, origo ve insertio noktalarına bakılarak model üzerindeki uygun yere yapıştırıldı.

### Sinir Modelleme

Sinir modellemede her bir sinir ve dalları için farklı renkte yapışkanlı eva süngerleri 0.5 cm şeritler

halinde kesilerek hazırlandı. Bu şeritler sonrasında kas giydirmesi tamamlanmış kemik konstrüksiyona yapıştırıldı.

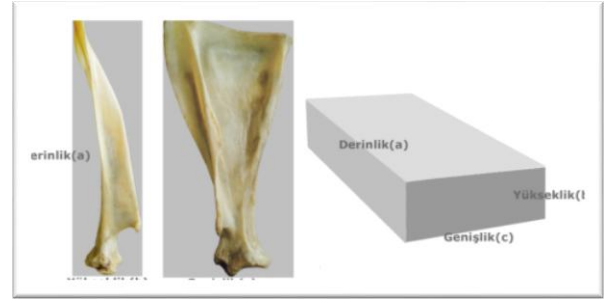
## BULGULAR

Ruminant ön bacağına kemik modelleme pişirilmiş kil modeller (seramik) ve polyester döküm (plastik) modeller olmak üzere iki şekilde tasarlandı. Kemik modeller oluşturulmadan önce Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğrenci uygulama salonundaki büyük ruminant ön bacağına ait gerçek kemikler baz alınarak yaklaşık ölçümler alındı ve Şekil 1’de gösterildiği gibi kemiklerin birbirlerine göre oranları belirlendi. Bu ölçüler dikkate alınarak 7 parçadan oluşan ön ekstremitenin için 70 adet dikdörtgen prizma şeklinde kil kütleler hazırlandı (Şekil 2). Aynı zamanda bu oluşturulan kil kütleler modellenen kemiğin eni, boyu ve derinliği dikkate alınarak yapıldı. Modellemeye başlamadan önce kil kütlelere aktarılmak üzere ön ekstremitenin gurubundaki her bir parça için dijital ortamda şablonlar hazırlandı (Şekil 3). Şablonu oluşturmak için kemiğin çevresi ve üzerindeki önemli yapılar en basit hali ile çizildi (Şekil 4). Hazırlanan şablonlar kağıtlardaki belirtilen yerlerden kesildi. Aynı boydaki karbon kâğıdı altına koyularak toplu iğne ile kil kütleyle sabitlendi. Daha sonra tükenmez kalem veya benzeri ile bastırarak çizildi. Bu yöntemle doğru, hızlı ve kolay bir şekilde şablonun kütleyle aktarılışı Şekil 5’A da gösterildi. Kil kesim aleti ile aktarılan şablonun çizgilerinden yararlanılarak dış çevresi kesildi. Daha sonra kazıma aleti kullanılarak kemik üzerindeki detaylar kil kütleleri üzerinde yapılan ince küretaj ile ortaya çıkarıldı (Şekil 5 B). Modelleme süreci tamamlanan tüm kemik modelleri açık bir şekilde kurutulmaya bırakıldı (Şekil 5 C). Tamamen kurutulmuş kemikler 1020 °C sıcaklığa 12 saatte ulaşacak şekilde pişirildi. Bu işlemden sonra modeller suya dayanıklı ve daha kullanışlı porselen hale geldi. Oluşan porselen kemiğin ağırlığı orijinal kemiğin ağırlığının 1.5 katı olarak ölçüldü.



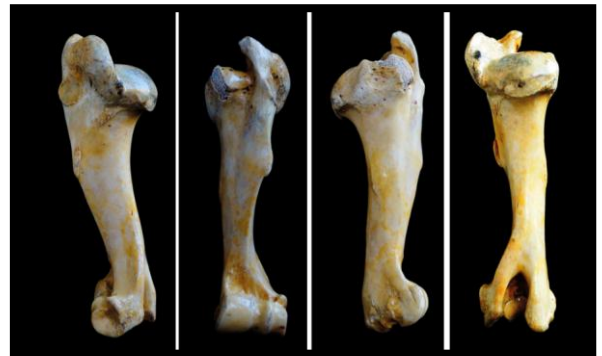
**Şekil 1.** Ön bacak kemikleri ve kemiklerin birbiriyle oranları.

**Figure 1.** Forelimb bones and their ratio.



**Şekil 2.** Model için kil prizmanın hazırlanış şeması.

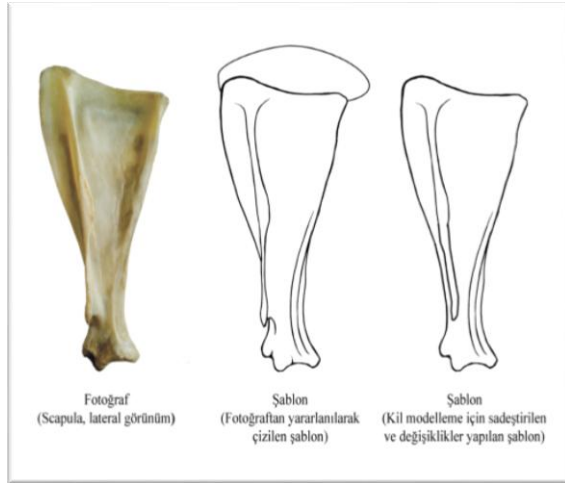
**Figure 2.** Schema of the clay prism for the prepering of the model.



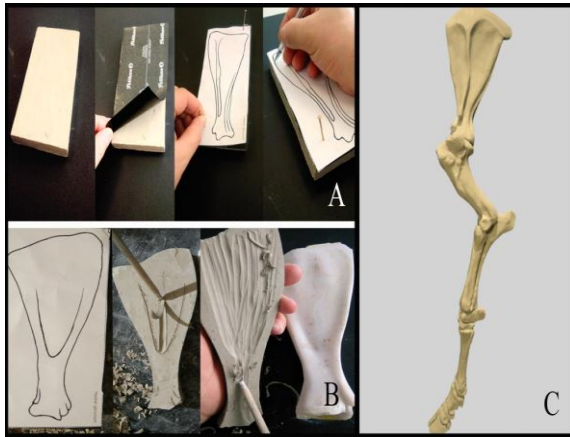
**Şekil 3.** Sırasıyla lateral, cranial, medial ve caudal yönlerden çekilmiş humerus fotoğrafı.

**Figure 3.** Photograph of humerus taken from lateral, cranial, medial and caudal directions respectively.





**Şekil 4.** Kemik model fotoğrafı ve şablonları.  
**Figure 4.** Bone model photographs and templates.

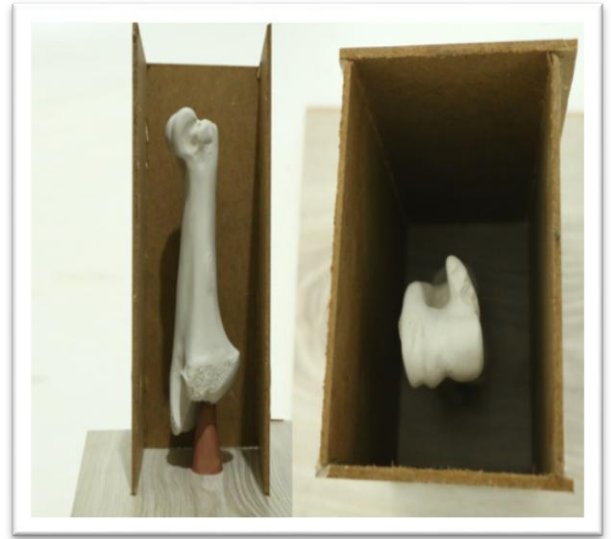


**Şekil 5.** Model şablonunun karbon kağıdı ile kil kütleye aktarılması (A), Kemik modelinin medial görünümü (B), tamamlanmış kemik model (C).

**Figure 5.** Transferring of the model template to the clay mass by using carbon paper (A) the view of median side of bone model (B), finished bone model (C).

Kil modeller kontrplak üzerine dik bir şekilde vida yardımıyla tutturuldu. Modelin altındaki vidanın etrafına ilerde döküm yolu olarak kullanılacak boşluğun kalması için polimer kil ile tampon yapıldı. Sıvı haldeki silikonun akması için kontrplak duvarlar yapıldı. Bu duvarları yapıştırmak için sıcak silikon kullanıldı. Bu sayede sızdırmaz bir kutu oluşturuldu. Sıvı kalıp silikonuna sertleştirici katılarak

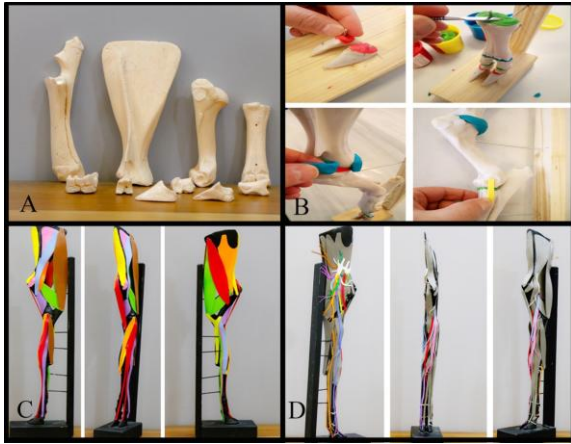
iyice karıştırıldı. (Şekil 6). Sıvı silikonun katılaşmış elastik bir kalıp haline gelmesi için 8 saat beklendi. Daha sonra maket bıçağı ile tek taraftan düz bir şekilde yarılarak içindeki kil model çıkarıldı. Bu aşamadan sonra oluşan kalıp üzerinden çok sayıda istenilen kemik, polyester olarak üretilebilme olanağına kavuştu. Böylece kalıplar oluştuktan sonra uygulama salonlarında kemik sıkıntısının önüne geçilebileceği düşünüldü.



**Şekil 6.** Dökümüne hazır kalıp.  
**Figure 6.** Ready to cast model.

Polyester döküme hazır hale getirilmiş elastik silikon kalıp döküm tezgâhına sabitlendi. Daha önceden kil modeli içinden çıkarmak için kesilen yarıktan döküm malzemesinin sızması için silikon kalıbın etrafına paket lastiği sarıldı. Sıvı halde bulunan polyester reçinenin sertleşmesi için biri Kobalt (hızlandırıcı), diğeri de mekperoksit (sertleştirici) olmak üzere 2 adet komponent kullanıldı. Önce polyester reçine (silikon kalıba döküleceğiniz miktarı belirlemek için) ölçü kabına konuldu. Bu miktara katkı maddesi olarak (döküm malzemesini ekonomik çoğaltmak ve kemik görüntüsünü vermek için) polyester miktarı kadar kalsit ( $\text{CaCO}_3$ ) toz karıştırıldı. Bu iki karışımdan elde edilen miktarın %5'i kadar kobalt eklendi ve karıştırıldı. Bu karışımın donması için %2 oranında mekperoksit konularak 30 sn

karıştırıldı. 60 ml'lik enjektör kullanılarak bu karışım silikon kalıbın döküm deliğinden enjekte edildi. Döküm malzemesinin donma süresi boyunca döküm ve hava deliğinden akmaması için bu bölümler oyun hamuru ile kapatıldı. Toplam 8 saat sonra katılaştıran kemik model kalıptan çıkarıldı. Üzerindeki döküm hatalarından kaynaklanan çıkıntılar ve pürüzler zımpara yapılarak giderildi (Şekil 7A). Tiner ile temizlenen modeller boyama için kurumaya bırakıldı. Tüm bu aşamalar tekrarlanarak 11 parçalık ön ekstremité'den 10 takım üretildi. Akrilik boya ile bej ve siyah renklere boyandı. Üzerine mat koruyucu sprey vernik atıldı. Oluşturulan modeller ile orijinal kemikler hassas terazide tartıldı. Modelin gramajının orijinal kemik ile aynı olduğu belirlendi.



**Şekil 7.** Polyester döküm kemik modeller (A), Oyun hamuru ve eva süngerini kullanarak eklem ve ligament (B), kas (C) ve sinir (D) modellenmesi.

**Figure 7.** Polyester casting bone models (A) modeling of joints and ligaments (B), muscle (C) and nerve (D) using the game hawks and eva sponges.

Önceden kemik modelleme için üretilmiş olan polyester modeller kullanılarak metal ve ahşap konstrüksiyonla sökölüp takılabilir olarak birleştirildi. Eklem modellemeye ilk olarak phalanx distalis'in ahşap kaide üzerine montajı ile başlandı. Daha sonra metal pimler yerleştirildi. Renkli oyun hamuru ile eklem yapıldı. Bu işlemler sırasıyla diğer parçalar için de uygulanarak ön bacak tamamlandı. Yapışkanlı sarı eva süngerinden 1 cm ve 0.5 cm genişliğinde şeritler

kesilerek ligamentler oluşturuldu ve yapıştırıldı (Şekil 7B).

Kemikler ve eklemler birleştikten sonra oluşan model üzerine kas model uygulandı. Lateral ve medial omuz kasları, ön ayak bilek eklemi kasları ve dirsek eklemi kasları olmak üzere üç grupta toplam 21 kas belirlendi. Bu kasların daha önce modellenen ön bacak maketine uygun ölçülerde dijital ortamda çizilerek şablonları hazırlandı. Karbon kağıt kullanılarak yapışkanlı eva süngerini üzerine çizilerek kesildi. Her bir kas için farklı renklerde kesilen yapışkanlı eva süngerleri, origo ve insertio noktalarına bakarak model üzerindeki uygun yerlere yapıştırıldı (Şekil 7C).

Plastik model kemikler üzerine eklem ve kas giydirme işlemi yapıldıktan sonra plexus brachialis yapışkanlı eva süngerinden kesilerek yapıştırıldı. Daha sonra bu ağdan ayrılan sinirler ve bunlara ait kollar farklı renklerdeki yapışkanlı eva süngerleri 0.5 cm'li şeritler halinde kesilerek modele giydirdi (Şekil 7D).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Anatomi eğitiminde materyal hazırlanmasında geçmişten günümüze diseksiyon (9,10) latex uygulamaları, polyester resin döküm yöntemi (11), plastinasyon (12), 3D modeller (3,5), yüksek teknoloji içermeyen simülasyonlar (6,13), Artırılmış Gerçeklik (AR) (4,13), vücut boyama (14,15) gibi birçok yöntemin kullanıldığı bilinmektedir.

Dünyada anatomi eğitiminde kullanılmaya başlanan bir diğer alternatif eğitim yönteminin kil modelleme olduğu literatürlerde bildirilmektedir (7,16,17,18,19). Bu literatürlerden bazıları kil model yönteminin öğrencilerin öğrenmesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalardır (7,16,19). Motoike ve ark. (7)'nin yaptığı çalışmada öğrencilerin aktif olduğu kil modelleme çalışması sonrasında öğrencilerin sınav başarılarının arttığı ve kaslarını öğrenmede bu yöntemin kısa sürede etkili olduğu ortaya konulmuştur. Oh ve ark. (17) ise renkli killerle organ kesitleri oluşturmuş ve bu sayede karmaşık organ yapılarının anlaşılmasını kolaylaştırdığını rapor

etmiştir. Ayrıca tıp anatominin öğrencilere anlatılmasında aktif katılımlı kullanılacak kil anatomi setlerinin varlığından Monsour, (18) tarafından yapılan bir derlemede söz edilmektedir. Bu setlerin öğretici rehberliğinde kullanıldığında öğrencilerin kemikleri tanımlama, kas sistemi oluşturma, sinirsel yolları öğrenme ve kardiyovasküler sistemi oluşturma da yaratıcılıklarını kullanarak öğrenme imkanı bulduklarından söz edilmektedir. Bareither ve ark. (19) ise kil modelleme yöntemi ile yazılı modüllerin öğrenme üzerinde önemli derecede etkili olduğunu bildirmektedir. Yapılan çalışma ile ruminant ön bacağına ait kil modeller üretilmiş fakat öğrenciler bu çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu kil modellerin öğrencilerin öğrenimlerine etkileri konusunda bu aşamada bir sonuç elde edilmemiş ancak ilerideki çalışmalarda elde edilen çıktılarının öğrenme sürecine katkısının araştırılması hedeflenmektedir. Elde edilen kil modellerin gerçek oranda hazırlanmaması kil modellerin ağırlığı nedeniyledir. Küçük hayvanların kil kemik modellerinde böyle bir sorun olmadığı için daha kolaylıkla yapılabilir olduğu ancak kemik boyutu büyüdükçe gerçek boyutta kil modeli yapmanın taşıma ve maliyet olarak dezavantajlı olacağı görülmüştür. Fakat oluşturulan plastik modellerde böyle bir sorun bulunmamaktadır. Hatta bir kemiğin plastik modeli oluşturulduktan sonra bu modellerin sayısının artırılması hem kolaylaşmış hem de ekonomik hale gelmiştir. Şimdilik sadece ruminant ön ekstremiteler için hazırlanmış bu kalıpların gelecekte diğer tüm iskelet sistemi unsurları için oluşturulması planlanmaktadır.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışma ile veteriner anatomi eğitiminde kullanılmak üzere hazırlanmış 10 takım kil ruminant ön bacak kemik modeli ile 10 takım ruminant ön bacak kemik-eklem-kas-sinirlerini gösteren modüler plastik modeller oluşturulmuştur. Bu tez sonunda ortaya çıkan çıktılarının ülkemiz veteriner fakülteleri için farklı bir bakış açısı kazandıracığı, veteriner fakültesi öğrenci ve akademisyenleri için bir model oluşturacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

1. Özdemir S., 2003. Tıp eğitimi ve yetişkin öğrenmesi. Uludağ Univ Tıp Fak Derg 29, 25-28.
2. Kurt E., Yurdakul E., Ataç A., 2013. An overview of the technologies used for anatomy education in terms of medical history. *Procedia Soc Behav Sci*, 103, 109-115.
3. Azer AS., Azer S., 2016. 3D anatomy models and impact on learning: A review of the quality of the literature. *Heal Prof Educ*, 2, 80-98.
4. Küçük S., Kapakin S., Göktaş Y., 2016. Learning anatomy via mobile augmented reality: Effects on achievement and cognitive load. *Anat Sci Educ*, 9, 411-421.
5. Peker T., Gülekon İN., Özkan S., Anıl A., Turgut HB., 2014. Karmaşık anatomik yapıların üç boyutlu anaglif stereo yöntemi kullanılarak öğrencilere anlatılması. *Acta Odontol Turc*, 31, 80-85.
6. Vertemati M., Rizzetto F., Vezzulli F., Sampogna G., Cassin S., Cenzato F., Elli M., 2018. Teaching anatomy in a modern medical course: an integrated approach at Vialba Medical School in Milan. *MedEdPublish*, 7, 15.
7. Motoike HK., O’Kane RL., Lenchner E., Haspel C., 2009. Clay modeling as a method to learn human muscles: A community college study. *Anat Sci Educ*, 2, 19-23.
8. Göktürk T., Aksu Y., 2010. Böceklerin kolleksiyon tekniklerinden yeni bir metod polyster içine hapsedme. III. Ulusal Karadeniz Ormanlık Kongre Kitabı IV, 1397-1402.
9. Dinsmore CE., Daugherty S., Ziitz HJ., 1999. Teaching and learning gross anatomy: dissection, prosection, or “both of the above?”. *Clin Anat*, 12, 110-114.
10. Willan PLT., Humpherson JR., 1999. Concepts of variation and normality in morphology: important issues at risk of neglect in modern undergraduate medical courses. *Clin Anat*, 12, 186-190.
11. Onuk B., Hazıroğlu RM., Kabak M., 2009. Gross anatomy of the respiratory system in goose

- (Anser anser domesticus): Bronchi and sacci pneumatici. Ankara Univ Vet Fak Derg, 56, 165-170.
12. Üstün Ç., 2002. Plastinasyon bir bilim mi yoksa garip bir gösteri mi? ADÜ Tıp Fak Derg, 3, 37-42.
  13. Mıdık Ö., Kartal M., 2010. Simülasyona dayalı tıp eğitimi. Marmara Med J, 23, 389-399.
  14. McMenamin PG., 2008. Body painting as a tool in clinical anatomy teaching. Anat Sci Educ, 1, 139-144.
  15. Finn GM., McLachlan JC., 2010. A qualitative study of student responses to body painting. Anat Sci Educ, 3, 33-38.
  16. Waters JR., Meter PV., Perrotti W., Drogo S., Cyr RJ., 2005. Cat dissection vs. sculpting human structures in clay: an analysis of two approaches to undergraduate human anatomy laboratory education. Adv Physiol Educ, 29, 27-34.
  17. Oh CS., Kim JY., Choe HY., 2009. Learning of cross-sectional anatomy using clay models. Anat Sci Educ, 2, 156-159.
  18. Monsour C., 2013. Classroom materials reviews. Am Biol Teach, 73, 188.
  19. Bareither ML., Arbel V., Growe M., Muszczyński E., Rudd A., Marone JR., 2013. Clay modeling versus written modules as effective interventions in understanding human anatomy. Anat Sci Educ, 6, 170-176.





## Konya Merinosunun Arteria Celiaca'sı ve Dalları Üzerine Makroanatomik Bir Çalışma

Zekeriya ÖZÜDOĞRU<sup>1a</sup>, Derviş ÖZDEMİR<sup>2b✉</sup>, Hülya BALKAYA<sup>2c</sup>, Hülya KARA<sup>2d</sup>

1. Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE.

2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-0789 3628<sup>a</sup>, 0000-0002-6038-0485<sup>b</sup>, 0000-0001-6164-158X<sup>c</sup>, 0000-0002-7678-6471<sup>d</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
21.05.2018	07.10.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

Özüdoğru Z, Özdemir D, Balkaya H, Kara H: Konya Merinosunun Arteria Celiac'ası ve Dalları Üzerine Makroanatomik Bir Çalışma. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 45-51, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.425567

**Öz:** Çalışma, Konya merinosunun a. celiaca'sı ve dallarının makroanatomik olarak incelenmesi amacıyla yapıldı. Araştırmada 10 adet Konya merinosu kullanıldı. Materyallere latex enjeksiyon metodu uygulandı. A. celiaca'nın, aorta abdominalis'in ventral yüzünden ilk ana damar olarak orijin aldıktan sonra a. lienalis ve a. hepatica ile a. gastrica sinistra'nın ortak kökü olmak üzere iki dala ayrıldığı gözlemlendi. A. lienalis, ilk olarak pancreas'a giden rami pancreatici'yi verdi. Daha sonra damarın ramus epiploicus, a. ruminalis sinistra ve a. ruminalis dextra'yı verdiği tespit edildi. A. hepatica, a. gastrica sinistra ile ortak bir kök halinde a. celiaca'dan ayrıldı. A. hepatica'nın porta hepatis hizasında a. gastrica dextra ve a. cystica'yı verdikten sonra a. gastroduodenalis olarak seyrine devam ettiği saptandı. A. gastrica sinistra'nın a. celiaca'nın verdiği dalların en kalını olduğu ve seyri esnasında a. reticularis, a. gastroepiploica sinistra, a. reticularis accessoria'yı verdikten sonra abomasum'un curvatura minor bölgesinde a. gastrica dextra ile anastomozlaştığı belirlendi. Sonuç olarak, a. celiaca'nın mide, dalak, pankreas, karaciğer, safra kesesi ve duodenum'un başlangıç kısımlarının arteriel vaskülarizasyonunu sağladığı tespit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Anatomi, Arteria celiaca, Konya merinosu.

## A Macroanatomical Study on the Arteria Celiaca and Branches of the Konya Merino

**Abstract:** This study was carried out in Konya Merino for the purpose of macroanatomical examination of a. celiaca and its branches. In the study, 10 Konya merinos were used. Latex injection method was applied to the materials. After the origin of the a. celiaca, the ventral origin of the abdominal aorta as the first main vessel, which a. lienalis and a. hepatica and a. gastrica sinistra were divided into two branches as common root. A. lienalis first gave rami pancreatici to pancreas. Thereafter, the vessel was found to give ramus epiploicus, a. ruminalis sinistra and a. ruminalis dextra. As a common root which A. hepatica and a. gastrica sinistra left from a.celiaca. In the porta hepatis line, a. hepatica was give off a. gastrica dextra and a. cystica, then it was continued as a. gastroduodenalis. Arteria gastrica sinistra was found to be the thickest branches of the a. celiaca and anastomosed with a. gastrica dextra in the curvatura minor region of abomasum after giving arteria reticularis, a. gastroepiploica sinistra, and a. reticularis accessoria during course. As a result, It was determined that a. celiaca was found to provide arterial vascularization of the stomach, spleen, pancreas, liver, gall bladder and initial part of duodenum.

**Keywords:** Anatomy, Arteria celiaca, Konya merino.

✉ Derviş ÖZDEMİR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

e-posta: dozdemir@atauni.edu.tr

## GİRİŞ

**K**onya Merinosu, G2 ve G3 düzeyindeki Alman et merinosu ile Akkaraman melezi koyun ve koçların birleşiminden elde edilmiştir. %90 civarında merinos geni taşırlar. Vücut, baş ve kuyruk kılları beyazdır. Kuyruk ince ve uzundur. Koyunlar ve koçları boynuzsuzdur.

Konya Tarım İşletmesindeki çalışmalar sonucu üretilen Konya merinosu saf olarak yetiştirilmekle beraber Akkaraman koyununun ıslahı içinde kullanılmaktadır. Konya merinosu Orta Anadolu Bölgesinde yetiştirilmektedir.

Merinos Koyununun Anadolu'da yetiştirilmesi 1933 yıllarından itibaren başlamıştır. Anadolu'da bulunan çeşitli koyun ırkları ile melezleme yapılarak yöreye uyumu sağlanmıştır. Yapağı verimi ve kaliteli yünü ile her zaman gündemde olan merinos koyununun yapağısı birinci sırada halen dokumacılıkta kullanılmaktadır (1,2).

Arteria celiaca, son thoracal ve birinci lumbal vertebra (3-5) veya 1. ve 2. lumbal vertebra (6,7) düzeyinde, arteria mesenterica cranialis'in orijininden hemen önce aorta abdominalis'in ventral duvarından çıkar. Bazı yazarlar (8-10), bu damarın arteria mesenterica cranialis ile ortak bir kök oluşturarak orijin alabileceğini bildirmişlerdir.

Arteria celiaca, arteria gastrica sinistra, arteria hepatica ve arteria lienalis olmak üzere üç ana dal vererek karaciğer, dalak, pankreas, mide ve duodenum'un başlangıç kısmını besler (3,8,11-13). Bazı hayvan türlerinde ise arteria celiaca'nın, arteria hepatica ve arteria lienalis olarak iki dal verdiği belirtilmiştir (14,15).

Bazı koyun türlerinde (4,5,8,9,16) a. celiaca'nın anatomisi ile ilgili çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, Türkiye'nin yerli ırkı olan Konya merinosunun a. celiaca'sı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yapılan bu çalışma ile bahsedilen koyun ırkının a. celiaca ve dallarının makroanatomik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Araştırmada Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Deney Hayvanları Ünitesi Birimi'nden temin edilen 10 adet Konya merinos koyunu kullanıldı. Aorta abdominalis %10'luk tuzlu su ile yıkandıktan sonra içerisine kumaş boyası ile renklendirilmiş latex enjekte edildi. Daha sonra materyaller %10'luk formaldehit solüsyonunda bir gün bekletildi ve diseksiyonları yapıldı. Uygun şekilde diseksiyonları yapılan arteria celiaca ve dalları fotoğraflanarak çalışmada sunuldu. Çalışmada kullanılan terimlerde Nomina Anatomica Veterinaria (N.A.V.) esas alındı (17). Çalışma için gerekli izin Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Tarih: 14.05.2018, sayı: 2018/53).

## BULGULAR

A. celiaca'nın (Şekil 1,2/1,3/1), aorta abdominalis'in (Şekil 1/1), hiatus aorticus'tan cavum abdominis'e geçişinden hemen sonra, son thoracal ve birinci lumbal vertebra arasında a. mesenterica cranialis'ten (Şekil 1,2/3), hemen önce ventrale doğru verdiği ilk dal olduğu tespit edildi. A. celiaca, aa. phrenicae caudales'i verdikten sonra a. lienalis ve a. hepatica ile a. gastrica sinistra'nın ortak kökünü verdi.

A. lienalis (Şekil 1/4,2/6,3/2), ilk olarak pancreas'a giden rami pancreatici'yi (Şekil 1/9,2/7), verdi. Daha sonra damarın seyri sırasında omentum majus'un beslenmesini sağlayan ramus epiploicus'u (Şekil 1/10,2/8) ve bu damarla aynı seviyede ama ters yöne doğru a. ruminalis sinistra'yı verdiği belirlendi. Damarın a. ruminalis dextra'yı verdikten sonra a. lienalis olarak seyrine devam ettiği ve hilus lienalis'te iki dala ayrılarak sonlandığı gözlemlendi.



**Şekil 1.** Arteria celiaca'nın orijini ve verdiği dallar.  
**Figure 1.** Origin and branches of arteria celiaca.  
 1- aorta abdominalis, 2- a. celiaca, 3- a. mesentericea cranialis, 4- a. lienalis, 5- a. gastrica sinistra ile a. hepaticanın ortak kökü, 6- a. hepatica, 7- a. gastrica sinistra, 8- a. reticularis 9- rami pancreatici, 10- ramus epiploicus 11- a. ruminalis sinistra, 12- a. ruminalis dextra

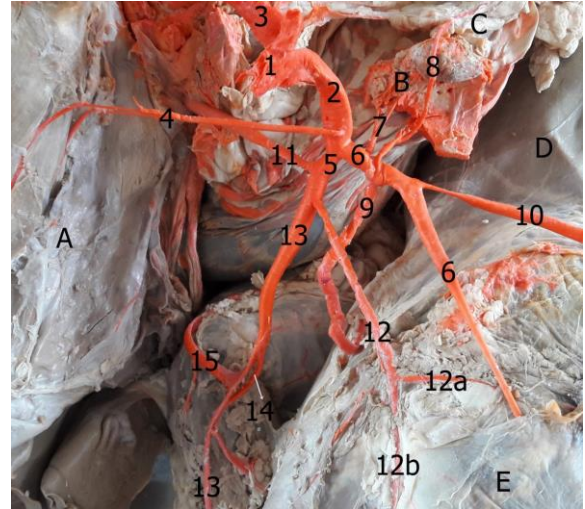
A. ruminalis sinistra (Şekil 1/11,2/9,3/6), a. lienalis'in sol yüzünden orijin aldıktan sonra caudoventral yönde seyretti ve atrium ruminis'in sağ yüzüne ulaştı. Damar'ın daha sonra rumen'in sulcus cranialis'inden geçerek sulcus longitudinalis sinister içinde caudodorsal olarak seyrine devam ettiği ve seyri esnasında saccus cecus craniodorsalis ve saccus cecus cranioventralis'in parietal yüzünü besleyen dallar vererek sonlandığı belirlendi.

A. ruminalis dextra (Şekil 1/12,2/10), a. lienalis'in sağ yüzünden çıktı ve caudoventral yönde seyrederek rumenin visceral yüzüne ulaştı. Bu bölgede sulcus longitudinalis dexter'in içinde seyrederek sulcus caudalis'e ulaştı ve bu oluktan rumen'in parietal yüzüne geçerek burada sonlandı. Seyri esnasında rumen'in parietal ve visceral yüzünde saccus cecus'ları besleyen coroner arterler verdiği tespit edildi.

A. gastrica sinistra'nın (Şekil 1/7,2/13,3/3), a. hepatica ile ortak bir kök halinde a. celiaca'dan orijin aldığı ve damarın devamı niteliğinde olduğu tespit

edildi. Adı geçen damarın a. celiaca'nın verdiği dalların en kalını olduğu belirlendi. Bu damarın seyri esnasında ilk olarak a. reticularis'i verdiği daha sonrada omasumla reticulum arasındaki oluğa kadar seyrine devam ettiği gözlemlendi. Bu bölgede ilk olarak a. gastroepiploica sinistra'yı daha sonra da a. reticularis accessoria'yı verdikten sonra omasum'un visceral yüzü üzerinde sağlı sollu dallar vererek seyrine devam etti ve abomasum'un curvatura minor bölgesinde a. gastrica dextra ile anastomozlaşarak sonlandı.

A. reticularis'in (Şekil 1/8,2/12,3/5), çalışmada kullanılan materyallerin tamamında a. gastrica sinistra'dan orijin aldığı tespit edildi. Damar, sulcus reticuloruminalis içerisinde atrium ruminis'in beslenmesini sağlayan ramus ruminalis'e (Şekil 2/12a), ve reticulum'un caudal yüzünün beslenmesini sağlayan ramus reticularis'e (Şekil 2/12b), ayrılarak sonlandı.



**Şekil 2.** Arteria celiaca ve dalları.

**Figure 2.** Arteria celiaca's branches.

1-aorta abdominalis, 2- a. celiaca, 3- a. mesentericea cranialis, 4- aa. phrenicae caudales, 5- a. gastrica sinistra ile a. hepatica'nın ortak kökü, 6- a. lienalis, 7- rami pancreatici, 8- ramus epiploicus 9- a. ruminalis sinistra, 10- a. ruminalis dextra, 11- a. hepatica, 12- a. reticularis, 12a- ramus ruminalis, 12b- ramus reticularis, 13- a. gastrica sinistra, 14- a. gastroepiploica sinistra, 15- a. reticularis accessoria. A-Diaphragma B- Pancreas C- omentum D- Rumen E- Lien



A. gastroepiploica sinistra (Şekil 2/14,3/7), atrium ruminis bölgesinde a. gastrica sinistra'dan cranioventral yönde orijin aldı. Damar orijininin sonra sulcus reticulo-oması'den geçerek abomasum'un curvatura major bölgesinde a. gastroepiploica dextra ile anastomozlaşarak sonlandı. A. gastroepiploica sinistra'nın seyri esnasında reticulum, omasum, abomasum ve omentum majus'a dallar verdiği saptandı.

A. gastrica sinistra, a. gastroepiploica sinistra'ya verdikten hemen sonra a. reticularis accessoria'yı (Şekil 2/15,3/8), verdi. Bu damar da reticulumun visceral yüzü ile omasum'un parietal yüzünü besleyen dallar vererek sonlandı.

A. hepatica (Şekil 1/6,2/11,3/4), a. gastrica sinistra ile ortak bir kök halinde a. celiaca'dan ayrıldıktan sonra sağ tarafa yöneldi ve karaciğerin visceral yüzünden porta hepatis'e doğru seyretti. Bu damarın a. lienalis ve a. gastrica sinistra'dan daha ince bir damar olduğu tespit edildi. A. hepatica'nın porta hepatis hizasında a. gastrica dextra, a. cystica ve rami pancreatici'yi (Şekil 3/11), verdikten sonra a. gastroduodenalis olarak seyrine devam ettiği saptandı. A. gastroduodenalis'in, a. pancreaticoduodenalis cranialis'i verdikten sonra a. gastroepiploica dextra (Şekil 3/14), ismiyle abomasum'un curvatura minor'unda a. gastroepiploica sinistra ile anastomozlaştığı gözlemlendi.

A. gastrica dextra (Şekil 3/9), karaciğerin visceral yüzünde seyrederek karaciğerin caudal lobuna a. lobi caudati (Şekil 3/13) isimli dalı verdikten sonra abomasum'un curvatura minor'u üzerinde seyrederek a. gastrica sinistra ile anastomozlaşarak sonlandı. Seyri sırasında abomasum'un curvatura minor kısmını ve omentum minus'u besleyen dallar verdiği gözlemlendi.

A. cystica (Şekil 3/10), a. hepatica'dan ayrıldıktan sonra karaciğerin visceral yüzünde seyrederek vesica fellea'ya dağılılarak sonlandı.

A. hepatica'nın devamı durumundaki damar olan a. gastroduodenalis, a. pancreaticoduodenalis cranialis'i verdikten sonra abomasum'un curvatura major'u üzerinde a. gastroepiploica dextra olarak

seyrine devam etti ve a. gastrica sinistra'nın a. gastroepiploica sinistra'sı ile anastomozlaşarak sonlandı. Seyri esnasında abomasum'un curvatura major bölgesini ve omentum majus'un beslenmesini sağladığı tespit edildi.



**Şekil 3.** Arteria gastrica sinistra ve arteria hepatica'nın dalları.

**Figure 3.** Arteria gastrica sinistra and arteria hepatica's branches.

1-a. celiaca, 2- a. lienalis 3- a. gastrica sinistra, 4- a. hepatica, 5- a. reticularis, 6- a. ruminalis sinistra, 7- a. gastroepiploica sinistra, 8- a. reticularis accessoria, 9- a. gastrica dextra, 10- a. cystica, 11- rami pancreatici, 12- a. pancreaticoduodenalis cranialis, 13- a. lobi caudati, 14- a. gastroepiploica dextra, 15- a. gastroepiploica sinistra ile a. gastroepiploica dextra'nın yapmış olduğu anastomoz.

A- Rumen B- reticulum C- omasum D- abomasum E- duodenum F- vesica fellea G- hepar

A. pancreaticoduodenalis cranialis (Şekil 3/12), a. gastroduodenalis'ten orijin aldı. Orijininin sonra duodenum'un pars cranialis kısmına kadar seyretti ve burada duodenum ve pancreas'ı besleyen dallar verdikten sonra a. mesenterica cranialis'in a. pancreaticoduodenalis caudalis'i ile anastomozlaşarak sonlandı.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışmada a. celiaca'nın aorta abdominalis'in hiatus aorticus'tan cavum abdominis'e geçtikten hemen sonra son thoracal ve

birinci vertebra lumbalis arasında ventrale doğru verdiği ilk dal olduğu tespit edilmiştir. Dursun (3) ve Türkmenoğlu (5) ruminantlarda arteria celiaca'nın bulgumuza uygun şekilde son thoracal ve birinci vertebrae lumbales arasından orijin aldığını bildirirken, Mohamed ve ark. (16) ile Balkaya ve ark. (18) koyunda, Mohamed ve ark. (19) ile Youssef (20) keçi de birinci vertebrae lumbales, Alsafy (6) ile El Gendy (7) keçi de, 1. ve 2. vertebrae lumbales düzeyinde aorta abdominalis'in ventralinden çıktığını bildirmişlerdir.

Karadag (4), Karmona ve Kovachev (8), Langenfeld ve Patea (9) koyunda, Alsafy (6) keçi de ve Machado ve ark. (10) buffaloda yaptıkları çalışmada kullandıkları bazı materyallerde a. celiaca'nın, a. mesenterica cranialis ile ortak bir kök oluşturarak çıktığını ancak, çoğunlukla Mohamed ve ark. (16) koyunda, Mohamed ve ark.'nın (19) keçi de bildirdikleri gibi a. mesenterica cranialis'ten hemen önce aorta abdominalis'ten orijin aldığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada araştırmada kullanılan materyallerin tamamında a. celiaca'nın, a. mesenterica cranialis'ten hemen önce aorta abdominalis'ten orijin aldığı belirlenmiştir.

Sunulan çalışmada a. celiaca'nın a. lienalis ve a. gastrica sinistra ile a. hepatica'nın ortak kökü olmak üzere iki dala ayrılarak sonlandığı tespit edilmiştir. Bu bulgumuz Türkmenoğlu'nun (5) 8 koyun üzerinde yaptığı çalışmada 3 koyunda a. gastrica sinistra ile a. hepatica'nın ortak bir kök oluşturarak çıktığı ve Maala ve ark.'nın (21) keçi de a. celiaca'nın dallanmasının 6 şekilde olduğu ve bunlardan birisinde a. gastrica sinistra ile a. hepatica'nın ortak bir kök oluşturarak çıktığı bildirimleri ile uyusmaktadır.

Ancak, bazı yazarlar (4,8,9,11-13) arteria celiaca'nın, arteria gastrica sinistra, arteria hepatica ve arteria lienalis olmak üzere üç ana dal verdiğini bildirirken, Alsafy (6) keçi de, Mohamed ve ark. (16) koyunda, Perez ve ark. geyikte (22) adı geçen damarın arteria gastrica sinistra, arteria hepatica, arteria lienalis ve arteria ruminalis sinistra olmak üzere 4 dala ayrılarak sonlandığını bildirmişlerdir.

A. lienalis'in, Alsafy (6) keçi de, Machado ve ark. (10) buffaloda, Mohamed ve ark. (16) koyunda bildirdikleri gibi ramus epiploicus, a. ruminalis sinistra ve a. ruminalis dextra'yı verdikten sonra aynı isimle seyrine devam ettiği ve dalakta dağılarak sonlandığı tespit edilmiştir.

A. gastrica sinistra'nın a. celiaca'nın devamı niteliğindeki en kalın damar olduğu ile ilgili bulgumuz Mohamed ve ark. (16) ile Boccaletti ve Borelli (23) koyunda, Mohamed ve ark. (19) keçi de bildirdikleri ile uyum içerisindedir.

Dursun'nun (3) a. hepatica'nın arteria gastrica sinistra'dan daha kalın bir damar olduğu bildirimine karşın yapılan çalışmada adı geçen damarın arteria gastrica sinistra'dan daha ince olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmada a. cystica'nın keçi (6), ruminant ve sus'ta (24) bildirildiği gibi a. hepatica'dan orijin aldıktan sonra karaciğerin visceral yüzünde seyrettiği ve vesica fellea'ya dağılarak sonlandığı belirlenmiştir.

Türkmenoğlu (5) koyunda, Nayar ve ark. (25) keçi de, Machado ve ark. (10) buffaloda ve Smuts ve Bezuidenhout (13) deve de a. reticularis'in a. gastrica sinistra'dan, Mohamed ve ark. (16) koyunda a. gastrica sinistra'dan veya a. ruminalis sinistra'dan, Alsafy (6) keçi de a. ruminalis sinistra'dan, Koch and Berg (26) koyun ve keçi de a. ruminalis sinistra ile ortak bir kök oluşturarak a. celiaca'dan orijin alabileceğini bildirmişlerdir.

A. reticularis'in, çalışmada kullanılan materyallerin tamamında a. gastrica sinistra'dan orijin aldığı ve rumen'in atrium ruminis ile reticulum'un caudal yüzünün beslenmesini sağladığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, çalışmada kullanılan merinos koyunlarında a. celiaca'nın orijini ve dallanması ile ilgili olarak diğer koyun ırklarına göre bazı farklılıklar tespit edilmiştir. Bu farklılıkların ırk özelliğinden kaynaklandığı kanısına varılmış ve a. celiaca'nın mide, dalak, pankreas, karaciğer, safra kesesi ve duodenum'un başlangıç kısımlarının arteriel vaskülarizasyonunu sağladığı belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Akçapınar H., 1994. Koyun Yetiştiriciliği. Medisan Yayınevi, Ankara.
2. Sönmez R., Kaymakçı M., Eliçin A., Tuncel E., Wassmuth R., Taşkın T., 2009. Türkiye Koyun Islahı Çalışmaları. UÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 23, 43-65.
3. Dursun N., 2005. Veteriner Anatomi II. 11. Baskı, 128-63, Medisan Yayınevi, Ankara.
4. Karadag H., 1988. The anatomical comparative study on the celiac artery and its branches in Akkaraman sheep and ordinary goat. J Vet Sc, 12, 196-204.
5. Türkmenoğlu İ., 1996. Akkaraman Koyunu ve Ankara Keçisinde karın boşluğu arterleri üzerinde karşılaştırmalı makroanatomik araştırmalar. Selçuk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
6. Alsafy M., 2009. Celiac trunk and the variability of its branches in goats. J App Biolog Sci, 3, 65-70.
7. El Gendy SAA., 2007. Surgical anatomical approach of the abdomen in the goat. PhD thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria
8. Karmona KH., Kovachev G., 1985. Variability of the celiac artery and its branches in sheep. Vet Med Nauki, 22, 31-37.
9. Langenfeld M., Pastera E., 1977. Anatomical variants of the celiac artery in the sheep, with special reference to the celiomesenteric arterial trunk. Anat Anz, 142, 168-174.
10. Machado F., Miglino A., Didio A., Oliveira Borges C., 2002. The arterial supply of buffalo stomachs (*Bubalus Bubalis*). Buffalo J, 18, 257-265.
11. Dyce KM., Sack WO., Wensing CJG., 1987. Text Book of Veterinary Anatomy. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
12. McCarthy PH., 1984. Transruminial palpation of abdominal arteries of the permanently fistulated dairy cow. Am J Vet Res, 45, 1632-1637.
13. Smuts MMS., Bezuidenhout AJ., 1987. Anatomy of the Dromedary. Clarendon press, Oxford.
14. Yilmaz S., Atalar O., Aydin A., 2004. The branches of the arteria celiaca in badger," Indian Vet J, 81, 183-187.
15. Atalar, O., Yilmaz S., 2004. The branches of the arteria celiaca in the porcupine (*Hystrix cristata*)," Vet Med-Czech, 49, 52-56.
16. Mohamed R., Adogwa A., Driscoll M., Rampersad S., 2016. Arterial supply of the stomach of the barbados black belly sheep in Trinidad. Int J Vet Sci, 5, 142-147.
17. Anonymous., 2012. Nomina Anatomica Veterinaria, 5th. Ed. Copyright by the World Association of Veterinary Anatomists.
18. Balkaya H., Özüdoğru Z., Özdemir D., 2017. Güney Karaman koyununda arteria celiaca ve dallarının makroanatomik yapısı. I. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & X. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi 13-16 eylül 2017, May thermal otel & spa, Sandıklı/Türkiye sh: 131-132.
19. Mohamed R., Adam Z., Gad M., 2017. Arterial supply of the stomach of the Egyptian native goat. J Adv Vet Anim Res, 4, 80-87.
20. Youssef GA., 1991. Some anatomical studies on the coeliac, cranial mesenteric and caudal mesenteric arteries of goat. PhD Thesis, Faculty of Vet. Med. Moshtohor, Zagazig University; Benha, Egypt.
21. Maala CP., Reyes EV., Ducusin RJ., 1988. Some contributions to the anatomy of the arterial supply to the stomach of the goat. Philipp J Vet Med, 25, 47-52.
22. Perez W., Vazques N., Ungerfeld R., 2015. Arterial vascularization of the gastrointestinal tract of the pampas deer. Anat Histol Embryol, 45, 240-245.
23. Boccaletti D., Borelli V., 1981. Ramification of the celiac artery in sheep of Corriedale race. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, Sociedade Brasileira de Anatomia, pp: 47- 48.
24. Getty R., 1975. Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals. Vol.2, Fifth ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia, London.
25. Nayar KN., Singh MG., Singh Y., Singh P., Singh R., 1983. Comparative arteriographic anatomy of the abdominal viscera and lumbar region in goats, dogs, pigs and rabbits. Indian j Anim Sci, 53, 1310-1314.

26. Koch T., Berg R., 1985. Lehrbuch der Veterinar Anatomie. Band III. Die drossen Versorgungs- und Steuerungs-systems. Veb Gustav Fisher Verlag.





## Gebelikte Tütün Dumanı Maruziyetinin Anne Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Alfa Lipoik Asitin Etkilerinin İncelenmesi\*

Elif ERDEM GÜZEL<sup>1a</sup>, Nalan KAYA<sup>2b</sup>, Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU<sup>3c</sup>, Dürrin Özlem DABAK<sup>2d</sup>, Penbe Sema TEMİZER OZAN<sup>3e</sup>, İbrahim Enver OZAN<sup>2f</sup>

1. Mardin Artuklu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, Mardin, TÜRKİYE.

2. Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE.

3. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-2097-7818<sup>a</sup>, 0000-0001-8880-4932<sup>b</sup>, 0000-0001 6874 3669<sup>c</sup>, 0000-0001-7210-6873<sup>d</sup>, 0000-0002-2274-1999<sup>e</sup>, 0000-0002-7274-5138<sup>f</sup>

Geliş Tarihi/Received

21.03.2018

Kabul Tarihi/Accepted

07.10.2018

Yayın Tarihi/Published

28.04.2019

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Erdem Güzel E, Kaya N, Ozan Kocamüftüoğlu G, Dabak DÖ, Temizer Ozan PS, Ozan İE: Gebelikte Tütün Dumanı Maruziyetinin Anne Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Alfa Lipoik Asitin Etkilerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 52-63, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.407782

**Öz:** Çalışmada gebelikte tütün dumanına maruz kalan anne sıçanların böbrek dokusunda meydana gelen histopatolojik sonuçlar üzerine Alfa lipoik asitin etkilerinin deneysel olarak araştırılması amaçlandı. 28 adet dişi Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Gebe sıçanlar; Kontrol grubu, Tütün dumanı (TD) grubu, Tütün dumanı + Alfa lipoik asit (TD+ALA) grubu ve Alfa lipoik asit (ALA) grubu olmak üzere rastgele dört eşit gruba ayrıldı. TD ve TD+ALA grubundaki sıçanlar çiftleşmeden önce sekiz hafta ve gebelik süresince günde iki saat tütün dumanına maruz bırakıldı. TD+ALA ve ALA grubundaki sıçanlara ise çiftleşmeden önce sekiz hafta ve gebelik süresince gün aşırı gavaj yolu ile 20 mg/kg ALA verildi. Deney sonunda çıkarılan böbrek dokuları histolojik, immünohistokimyasal ve MDA düzeyi tayini metotları kullanılarak incelendi. TD grubuna ait böbrek kesitlerinde inflamatuvar hücre artışı, Bowman boşluğunda artış, tübül lümeninde hiyalin birikimi gibi histopatolojik bulgulara rastlandı. ALA uygulaması ile histopatolojik bulguların büyük bir çoğunluğunda azalma gözlemlendi. TD grubunda VEGF immünreaktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği, TD+ALA grubunda ise TD grubuna göre anlamlı derecede azaldığı belirlendi. MDA seviyelerinde ise TD grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı artış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, gebelik boyunca tütün dumanı maruziyetinin böbrek dokularında histopatolojik hasara ve damarlanmada artışa neden olduğu, ALA'nın ise bu etkilere karşı kısmen koruma sağladığı belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Alfa Lipoik Asit, Böbrek, Gebelik, Sıçan, Tütün Dumanı.

## Investigation of the Effects of Alfa Lipoic Acid on Changes in Maternal Rat Kidney Caused by Tobacco Smoke Exposure in Pregnancy

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the effects of alpha lipoic acid on histopathological results of kidney tissue of mothers exposed to tobacco smoke during pregnancy. Twenty-eight Sprague-Dawley female rats were used. Rats were randomly divided into four groups: control, tobacco smoke (TS), tobacco smoke + alpha lipoic acid (TS+ALA) and alpha lipoic acid (ALA). Rats in the TS and TS+ALA groups were exposed to TS twice a day for one hour starting from eight weeks before mating and during pregnancy. 20 mg/kg of ALA was administered by gavage to ALA and TS+ALA group. The kidney tissues were examined by histological, immunohistochemical and MDA levels. Histopathological findings such as inflammatory cell increase, enlargement Bowman distance and hyaline casts in the tubule lumen were observed in the TS group. ALA application was found to reduce the majority of histopathological findings. VEGF immunoreactivity was significantly increased in the TS group compared to the control group, whereas in the TS+ALA group, VEGF immunoreactivity was significantly lower than TS group. MDA levels were significantly increased in the TS group compared to the control group. As a result, it has been shown that exposure of tobacco smoke during pregnancy causes an increase in histopathologic damage and vascularity in kidney tissues and that alpha lipoic acid has a partially protective effect against this effects.

**Keywords:** Alpha Lipoic Acid, Kidney, Pregnancy, Rat, Tobacco Smoke.

✉ Elif Erdem Güzel

Mardin Artuklu Üniversitesi/Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü, MARDİN.

e-posta: elif192@hotmail.com

\* Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP)' nin TF. 16.06 proje no'lu kararı gereğince karşılanmıştır.

## GİRİŞ

**P**asif içicilik olarak da adlandırılan çevresel tütün dumanı (ÇTD) insan sağlığını olumsuz etkileyen durumların başında gelmektedir (1). Tütün dumanının 5.000'den fazla toksik kimyasal içerdiği ve bu içeriğin büyük bir kısmının kanserojen olduğu, diğer bir kısmının ise majör hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (2). Ayrıca bu toksik bileşenlerin, üriner sistemini etkilediği, genel popülasyonda tip II diyabet görülme riskini arttırdığı tespit edilmiştir (3). Özellikle tütün dumanının majör komponenti olan nikotinin katekolamin, kortizol gibi dolaşımdaki insülin antagonist hormon seviyelerini arttırarak ve sempatik sinir sistemini etkileyerek insülin hassasiyetini bozduğu ortaya koyulmuştur (4). Gebelikte tütün dumanı maruziyetinin ise anne sağlığı üzerine birçok yan etkisi vardır (5). Tütün dumanı kaynaklı reaktif oksijen türleri (ROS), dokularda oksidan-antioksidan dengesi bozarak oksidatif strese neden olur. Bu durum deoksiribonükleik asit (DNA) ve doku hasarına, ayrıca apoptozis yolu ile hücre ölümlerine yol açarak kanser gibi patolojik durumlarda önemli rol oynar (6).

Sigaranın böbrek damarlarında fonksiyonel bozukluğa yol açtığı ve bunun sonucu meydana gelen vasküler yataktaki endotelial hasarların böbrek ile ilişkili hastalıklarda önemli rol oynadığı bilinmektedir (7,8). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fizyolojik ve patolojik durumlarda görev alan en güçlü endotelial anjiyojenik büyüme faktörüdür. VEGF sinyali normal vasküler gelişim ve homeostazında gerekli olsa patolojik durumlarda damar büyümesini uyarak tümör gelişimine de katılır (9). Bu sinyal yolağının ROS üretimiyle uyardığı belirtilmiştir. Artan hücre içi ROS'un endotel, düz kas hücreleri ve makrofaj gibi birçok farklı hücre tipinde VEGF üretimini teşvik ettiği ortaya koyulmuştur (10,11). Bu nedenle gebelik süresince bilinçli kullanılan antioksidanlar, artan serbest radikaller üzerine bir tedavi olanağı sağlayabilir ve bu yolla gerek annede gerekse çocukta görülebilecek patolojik durumları azaltabilir. Alfa lipoik asit (ALA), ıspanak, brokoli ve

domates gibi bitkisel kaynaklarda yaygın olarak bulunan 1950 yılında ilk olarak sığır karaciğerinden, daha sonra patatesten izole edilen, kan-beyin bariyerini aşabilen, thioktik asit olarak da adlandırılan 8 karbonlu küçük bir moleküldür (12). Güçlü bir antioksidan olarak bilinen ALA'nın böbrek dokularında antioksidan koruma mekanizmalarında artış sağlayarak oksidatif stresi azalttığı rapor edilmiştir (13). Fakat ALA'nın gebelikte kullanımı üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada diyabetli gebe farelere uygulanan ALA'nın yenidoğan farelerde gözlenen kardiyovasküler ve iskelet sistem malformasyonları ile nöral tüp defektlerinde anlamlı oranda azalmalara neden olduğu ortaya koyulmuştur (14).

Bu çalışmada gebelikte tütün dumanı maruziyetinin anne böbrek dokularında oluşturacağı olası hasara karşı ALA'nın etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulu'nun 2018/03 sayılı 26 no'lu kararı gereğince etik yönden uygun bulunarak yapıldı.

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)'nden temin edilen ortalama ağırlığı  $160 \pm 10$  gr olan 28 adet 6 haftalık *Sprague-Dawley* cinsi dişi sıçanlar kullanıldı. Deneysel hayvanları FÜDAM hayvan laboratuvarında deney süresince sıçan pelet yemi ve musluk suyu ile 12 saat (07:00-19:00) aydınlık -12 saat (19:00-07:00) karanlık periyodunda,  $21 \pm 1$  °C ortam sıcaklığında beslendi. Dişi sıçanlar, erişkin erkek sıçanlar ile çiftleştirildi ve vajinal smearde spermin gözleendiği tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi. Gebe kalan sıçanlar; Kontrol grubu, Tütün dumanı (TD) grubu, Tütün dumanı + Alfa lipoik asit (TD+ALA) grubu ve Alfa lipoik asit (ALA) grubu olmak üzere rastgele dört eşit gruba ayrıldı (n=7). TD ve TD+ALA grubundaki sıçanlar, çiftleşmeden önce sekiz hafta ve gebelik süresince günde iki defa birer saat tütün dumanına maruz

birakıldı. TD+ALA ve ALA grubundaki sıçanlara ise çiftleşmeden önce sekiz hafta ve gebelik süresince 20 mg/kg dozunda serum fizyolojikte çözdürülmüş ALA gün aşırı gavaj yolu ile uygulandı (15). On bir hafta boyunca süren uygulamalar doğum ile birlikte durduruldu. Tüm gruplardaki anne sıçanlar doğumdan sonra yirmi birinci gün olarak belirlenen laktasyon dönemi sonrası ketamin (75mg/kg) ve xylazine (10mg/kg) anestezisi altında dekapite edilerek, böbrek dokuları çıkarıldı.

#### Deney Düzenegi ve Tütün Dumanının Verilmesi

Tütün dumanı uygulaması için 150x50x50 ebatlarında kapağı üstten açılabilir şekilde cam kafes yaptırıldı. Alt kısmına yakın yerde 1 cm genişliğinde delik açıldı. 10 cm çapında ve 12 cm yüksekliğinde teneke kutu alınarak içerisine 10 gr tütün tartılarak konuldu. Daha sonra kafes içerisindeki sıçanlar ile tütünün içinde bulunduğu teneke kutu cam kafes içerisine bırakıldı. Yaklaşık 25 cm uzunluğunda plastik bir akvaryum pompa hortumunun bir ucu teneke kutuya takılırken diğer ucu ise hava pompasına (AP-001 Xilong Aquarium Air Pump, China) takıldı. Tütün yakıldı ve alevlenebilmesi için hava pompasından hava verildi. Tütünden duman çıkmasıyla beraber cam kafesin kapağı kapatıldı ve dumanın kafesin her tarafına yayılması sağlandı. Bir saatin sonunda cam kafesin kapağı açıldı ve sıçanlar kafesleriyle birlikte dışarı alındı. Deney süresi olan on bir hafta boyunca bu işlemler her gün 9:00-10:00 ve 14:00-15:00 saatleri arası günde iki kere tekrarlandı.

#### Histolojik Takip ve Boyama

Histopatolojik değerlendirmeler için 24 saat süre ile %10'luk formaldehit içerisinde fikse edilen böbrek dokuları çeşme suyu altında yıkandı. Yıkanan dokular rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Hazırlanan preparatlar Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Periyodik Asit-Schiff (PAS) boyamaları ile boyanarak ışık mikroskobu altında (Novel N-800M x20) incelendi ve fotoğraflandı. Değişiklikler histopatolojik

durumlarına göre yok (0), hafif (1), orta (2) ve şiddetli (3) olarak değerlendirilerek histoskor tablosu çıkarıldı.

#### İmmunohistokimyasal Boyama

Böbrek dokusunda VEGF immünreaktivitesinin belirlenmesi için, soğutulmuş parafin bloklardan polilizinli lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinizasyon ve şeffaflaştırma işleminden sonra dokular azalan dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksit bloker (TA-125-HP Lot No: HP18180, Hydrogen Peroxide Block, Thermo Scientific) ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Ultra V Block, Thermo Scientific) uygulamasından sonra primer antikor (RB-9031-P lot No: 9031P1505A, Polyclonal Anti-VEGF Antibody) damlatılan dokular 60 dakika oda ısısında karanlık ve nemli ortamda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra dokular sekonder antikor (TP-060-BN, Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), Thermo Scientific) ile muamele edildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Novel N-800M) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmunohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde; immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor tablosu oluşturuldu.

#### Malondialdehit (MDA) Düzeyinin İncelenmesi

Dekapitasyondan sonra çıkarılan böbrek dokuları serum fizyolojik ile yıkanıp -20°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Çözdürülen doku örnekleri %1.15'lik KCl ile 1:100 oranında (ağırlık/hacim) sulandırılıp homojenizatör (Ultra-Turax T25, IKA-Labortechnik) yardımıyla doku tamamen parçalandı. Homejenat 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlarda malondialdehit (MDA) tayini Placer metoduna göre yapıldı (16). Bu metodun temeli lipid peroksidasyonu sonucu oluşan aldehit



ürünlerinden biri olan MDA ile tiobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonuna dayanmaktadır. Reaksiyon sonucunda pembe renkli bir kompleks oluşmakta ve çözeltinin absorbanansı 532 nm'de spektrofotometre (Shimadzu AA-680) cihazıyla ölçülerek, lipid peroksidasyonunun derecesi belirlenmektedir.

### İstatistiksel Analiz

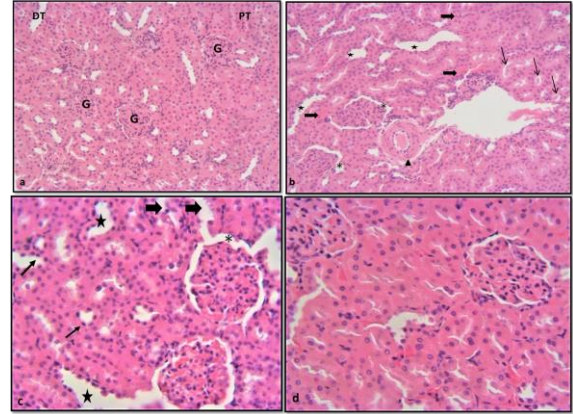
Tüm istatistiksel analizler SPSS 22.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programında yapıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma değerleri olarak sunuldu.  $P < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Normal dağılım gösteren çoklu grupların aralarındaki farklılıkları test etmek için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulandı. İkili karşılaştırmalar için ise Post-hoc Tukey testi kullanıldı.

### BULGULAR

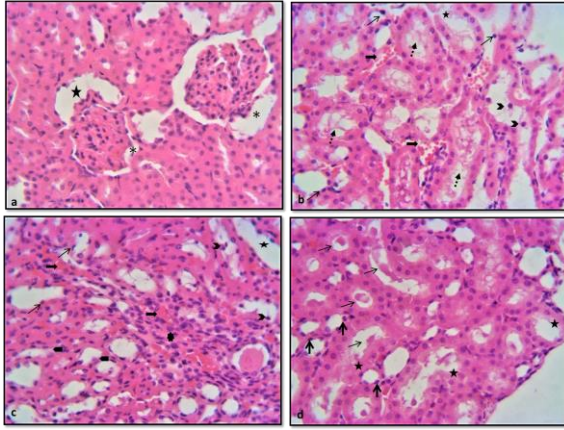
#### Histopatolojik Bulgular

Işık mikroskobu incelemelerinde kontrol grubuna ait böbrek dokularında, glomerül ve tübül yapıları normal olarak izlendi (Şekil 1a,3a). TD grubuna ait böbrek dokularında kortekste, glomerüllerde mezangial hücre ve matriks artışı, Bowman boşluğunda genişleme, glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma belirgin olarak görüldü. Ayrıca renal tübül epitellerinde deskuamasyon ve dejenerasyon, tübül epitellerindeki piknotik çekirdekli nekrotik hücreler, tübüllerde hiyalin birikimi, tübüler dilatasyon, peritübüler vasküler konjesyon, perivasküler ödem, proksimal tübüllere ait fırçamsı kenarda bozulmalar ve ayrılmalar, intertisyumda orta derecede mononükleer hücre infiltrasyonu ve duvar bütünlüğü bozulmuş olan dejenere Henle kulpu bulguları izlendi (Şekil 1b,2a,2b,2c,2d,3b). TD+ALA grubuna ait böbrek kesitlerinde ise histopatolojik bulguların devam ettiği fakat TD grubuna göre şiddetinin istatistiksel olarak azaldığı izlendi ( $P < 0.05$ ) (Şekil 1c,3c). ALA grubuna ait böbrek kesitlerinde ise yer yer konjesyon alanları dışında glomerül ve tübül yapılarının kontrole yakın olduğu gözlemlendi ( $P > 0.05$ ) (Şekil 1d,3d) (Tablo1).



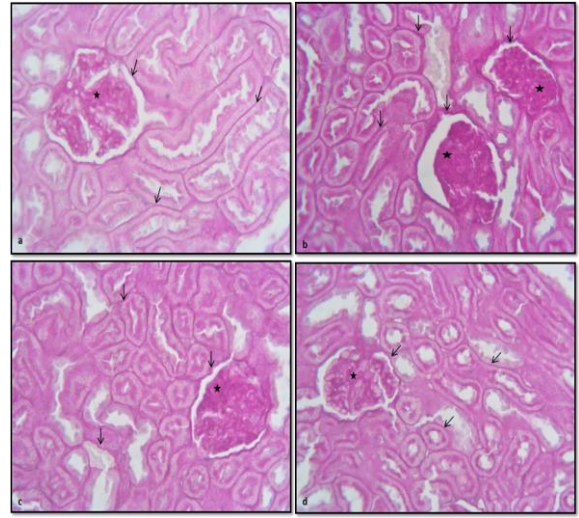
**Şekil 1:** a; Kontrol grubuna ait glomerül (G) ve tübül yapıları normal olarak ayırt edilmekte. DT: distal tübül, PT: proksimal tübül. Hematoksilen & Eozin, 200x b; TD grubuna ait tübüler dilatasyon (yıldız), tübüllerde hiyalin birikimi (ince ok), peritübüler vasküler konjesyon (kalın ok), Bowman boşluğunda genişleme (\*), perivasküler ödem (▲). Hematoksilen & Eozin, 200x c; TD+ALA grubuna ait glomerüller ve tübül yapılarıdaki histopatolojik bulguların TD grubuna kıyas ile şiddetli olmadığı gözlenmektedir. Tübül epitellerindeki piknotik çekirdekli nekrotik hücreler (ince ok), renal tübüllerde dilatasyon (yıldız), Bowman boşluğunda genişleme (\*), renal tübül epitellerinde dejenerasyon (ok başı). Hematoksilen & Eozin, 400x d; ALA grubuna ait yer yer konjesyon alanları dışında glomerül ve tübül yapılarının kontrole yakın olduğu ayırt edilmekte. Hematoksilen & Eozin, 400x.

**Figure 1:** a; Glomerular (G) and tubular structures of the control group are normally distinguished. DT: distal tubule, PT: proximal tubule. Hematoxylin & Eosin, 200x b; tubular dilatation (star), hyaline accumulation in the tubules (thin arrow), peritubular vascular congestion (thick arrow), enlargement of Bowman's space (\*), perivascular edema (▲) belonging to the TS group. Hematoxylin & Eosin, 200x c; The histopathological findings in the glomerular and tubular structures of the TS+ALA group are not severe compared to the TS group. Necrosis of the renal epithelium with pyknotic nucleate (thin arrow), dilatation in the renal tubules (star), enlargement of Bowman's space (\*), degeneration in the renal tubule epithelium (arrowhead) belonging to the TS+ALA group. Hematoxylin & Eosin, 400x d; It is distinguished that the glomeruli and tubular structures are close to the control except some places of congestion of the ALA group. Hematoxylin & Eosin, 400x.



**Şekil 2:** a; TD grubuna ait tübül dilatasyon (yıldız), Bowman boşluğunda genişlemeler (\*), b; TD grubuna ait renal tübül epitellerinde deskuamasyon (➤) ve dejenerasyon (yıldız), tübül epitellerindeki piknotik çekirdekli nekrotik hücreler (ince ok), peritübüler vasküler konjesyon (kalın ok), proksimal tübül epitellerine ait fırçamsı kenarlarında bozulma ve ayrılmalar (⚡) c; TD grubuna ait renal tübül epitellerinde deskuamasyon (➤), tübül dilatasyon (yıldız), tübül epitellerindeki piknotik çekirdekli nekrotik hücreler (ince ok), peritübüler vasküler konjesyon (kalın ok), intertisyumda orta derecede mononükleer hücre infiltrasyonu (●), duvar bütünlüğü bozulmuş olan dejenere Henle kulpu (◼) d; TD grubuna ait renal tübül epitellerinde dejenerasyon (yıldız), tübül epitellerindeki piknotik çekirdekli nekrotik hücreler (kalın ok), tübüllerde hiyalin birikimi (ince ok). Hematoksilin & Eozin, 400x.

**Figure 2:** a; tubular dilatation (star), enlargement of Bowman's space (\*) belonging to the TS group b; desquamation (➤) and degeneration (star) in the renal tubular epithelium, pyknotic nucleated necrotic cells in the tubule epithelium (thin arrow), peritubular vascular congestion (thick arrow), deterioration and separation on the brush border of proximal tubule epithelium (⚡) belonging to the TS group c; desquamation in the renal tubular epithelium (➤), tubular dilatation (star), peritubular vascular congestion (thick arrow), moderate mononuclear cell infiltration in the interstitium (●), degenerated Henle handle with deteriorated wall integrity (◼) belonging to the TS group d; Degeneration in the renal tubule epithelium (star), necrosis of the renal epithelium with pyknotic nucleate (thick arrow), accumulation of hyaline in the tubules (thin arrow) belonging to the TS group. Hematoxylin & Eosin, 400x.



**Şekil 3:** a; Kontrol grubuna ait glomerül ve tübül bazal membranları (ok) ve glomerüler mezangial matriks (yıldız) b; TD grubuna ait glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma (ok) ve glomerüllerde mezangial matriks artışı (yıldız) c; TD+ALA grubuna ait glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma (ok) ile mezangial matriks artışının (yıldız) devam ettiği, fakat TD grubuna kıyas ile bu artışın azaldığı gözlenmektedir d; ALA grubuna ait glomerül ve tübül bazal membranları (ok) ile glomerüler mezangial matriks (yıldız) kontrol grubuna yakın gözlenmektedir. PAS, 400x.

**Figure 3:** a; Glomerular and tubule basement membranes (arrow) and glomerular mesangial matrix (star) belonging to the control group b; Increase thickness of glomerular and tubular basement membranes (arrow) and increase glomerular mesangial matrix (star) belonging to the TS group c; It is observed that thickening glomerular and tubule basement membranes (arrow) and glomerular mesangial matrix increase (star) are continued in the TS+ALA group, but this increase is decreased compared to the TS group d; The glomerulus and tubule basal membrane (arrow) and the glomerular mesangial matrix (star) belonging to the ALA group are observed close the control group. PAS,400x.

**Tablo 1:** Böbrek dokusundaki histolojik değerlendirmelere ait histoskor tablosu.**Table 1:** Histoskore table of histological evaluations belonging to the renal tissue.

	Kontrol	TD	TD+ALA	ALA
Glomerül mezengial matris artışı	0.00±0.00	2.16±0.16 <sup>a</sup>	1.50±0.22 <sup>ab</sup>	0.16±0.16
Bowman boşluğunda genişleme	0.00±0.00	2.00±0.1 <sup>a</sup>	1.00±0.00 <sup>ab</sup>	0.28±0.48 <sup>b</sup>
Glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma	0.00±0.00	2.16±0.3 <sup>a</sup>	1.5±0.22 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
Renal tübül epitellerinde deskuamasyon ve dejenerasyon	0.00±0.00	2.14±0.69 <sup>a</sup>	1.28±0.48 <sup>ab</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
Tübüllerde hiyalin birikimi	0.00±0.00	2.14±0.37 <sup>a</sup>	0.5±0.22 <sup>ab</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
Tübüler dilatasyon	0.00±0.00	2.00±0.00 <sup>a</sup>	1.00±0.37 <sup>ab</sup>	0.16±0.16 <sup>b</sup>
Peritübüler vasküler konjesyon	0.00±0.00	1.83±0.16 <sup>a</sup>	0.5±0.22 <sup>b</sup>	0.33±0.31 <sup>b</sup>
Perivasküler ödem	0.00±0.00	1.5±0.53 <sup>a</sup>	0.66±0.21 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>
Piknotik çekirdekli hücre	0.00±0.00	2.66±0.21 <sup>a</sup>	1.5±0.22 <sup>ab</sup>	0.00±0.0 <sup>b</sup>
Fırçamsı kenarda bozulma/ ayrılma	0.00±0.00	2.33±0.2 <sup>a</sup>	1.16±0.3 <sup>ab</sup>	0.00±0.0 <sup>b</sup>
Mononükleer hücre infiltrasyonu	0.00±0.0	2.00±0.25 <sup>a</sup>	1.00±0.36 <sup>ab</sup>	0.33±0.21 <sup>b</sup>
Dejenere Henle kulpu	0.00±0.0	2.16±0.04 <sup>a</sup>	1.16±0.12 <sup>ab</sup>	0.00±0.0

<sup>a</sup>Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, <sup>b</sup>Tütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (P<0.05). Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

### İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler

VEGF immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubuna ait VEGF immünreaktivitesi böbrek tübüllerinde ve glomerül podosit hücrelerinde gözlemlendi (Şekil 4a). TD grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış vardı (P<0.05) (Şekil 4b). TD+ALA grubunda ise, TD grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi (P<0.05) (Şekil 4c). ALA grubuna ait VEGF immünreaktivitenin kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlendi (P>0.05) (Şekil 4d) (Tablo 2).

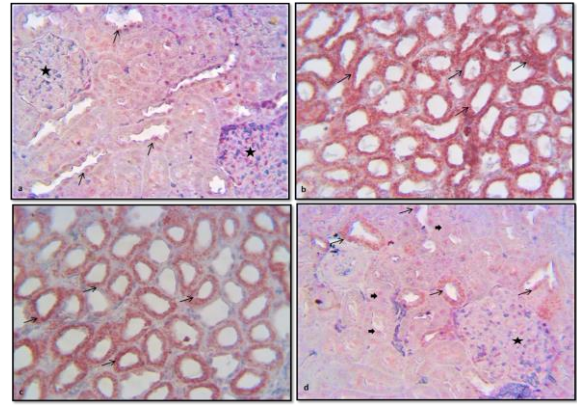
**Tablo 2:** Böbrek dokusundaki VEGF immünreaktivitesi.**Table 2:** VEGF immunoreactivity in kidney tissue.

GRUPLAR	HİSTOSKOR (yaygınlık x şiddet)
Kontrol grubu	1.13± 0.22
TD grubu	2.40±0.18 <sup>a</sup>
TD+ ALA grubu	2.00± 0.24 <sup>a b</sup>
ALA grubu	1.23± 0.20 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>Tütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 4:** a; Kontrol grubuna ait böbrek tübüllerinde (ok) ve glomerül podositlerinde (yıldız) VEGF immünreaktivitesi b; TD grubuna ait böbrek tübüllerinde (ok) artan VEGF immünreaktivitesi c; TD+ALA grubuna ait böbrek tübüllerinde (ok) VEGF immünreaktivitesi d; Kontrol grubuna ait böbrek distal tübüllerinde (ince ok), proksimal tübüllerinde (kalın ok) ve glomerül podositlerinde (yıldız) VEGF immünreaktivitesi (x400).

**Figure 4:** a; VEGF immunoreactivity in the kidney tubules (arrow) and glomerular podocytes (star) belonging to the control group b; Increased VEGF immunoreactivity in the renal tubules belonging to the TS group (arrow) c; VEGF immunoreactivity in the renal tubules belonging to the TS+ALA group (arrow) d; VEGF immunoreactivity in the distal tubules of the kidney (thin arrow), proximal tubules (thick arrow) and glomerular podocytes (star) belonging to the control group (x400).

### MDA Düzeyleri

Yapılan değerlendirmelerde lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeylerinin, TD grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı belirlendi ( $P<0.05$ ). TD+ALA grubunda ise TD grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı fakat kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artış olduğu saptandı ( $P<0.05$ )(Tablo 3).

**Tablo 3:** Böbrek dokusundaki MDA düzeyleri.

**Table 3:** MDA levels in kidney tissue.

GRUPLAR	MDA (nmol/g doku)
Kontrol grubu	51.531 ± 2.30
TD grubu	87.722± 1.13a
TD+ALA grubu	68.716 ± 1.47ab
ALA grubu	53.500± 1.85b

Değerler ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

\*Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>Tütün dumanı grubuna göre karşılaştırıldığında, ( $p<0.05$ ).

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Son yıllarda, sigaranın kronik böbrek hastalıkları ile olan ilişkisi üzerine çalışmalar oldukça fazladır (3,8,17). Sigara dumanı maruziyetinin diyabetik nefropati, iskemik nefropati, nefrolosklorozis, IgA nefropati gibi böbrek hastalıklarının gelişmesine ve ilerlemesine neden olduğu bildirilmiştir (17,18). Ayrıca sigaranın insülin direncine yol açarak metabolik sendrom ve tip2 diyabet riskini arttırdığı tespit edilmiştir (19). Bu hastalıkların patomekanizması oldukça kompleksdir ve sigara ile ilişkileri hala net olarak anlaşılamamıştır. Gebelik boyunca sigara veya tütün ürünleri maruziyetinin anne sağlığına kısa ve uzun vadede olumsuz etkilere yol açtığı birçok farklı çalışma ile kanıtlanmıştır (5,20). Bu nedenle gebelikte tütün dumanı maruziyetinin annenin böbrekleri üzerinde hasar oluşturabileceği ve bu hasarın gebelikte gözlenen ve patofizyolojisinde oksidatif stres ile endotelial disfonksiyonun rol oynadığı böbrek hastalıkları açısından risk oluşturabileceği kanaatindeyiz.

Pasif sigara dumanındaki toksik maddelerden biri olan nikotinin nefrotoksik etkisi olduğu ve nefropatiyi uyardığı bilinmektedir (21). Sigara indüklü renal hasarın akut etkisi özellikle sempatik sinir aktivasyonunun artması, kronik etkisi ise endotelial hücre disfonksiyonu üzerinden açıklanmıştır. Tübül fonksiyon bozukluğu, artan intraglomerüler kapiler basınç, insülin direnci, artan sempatik sinir aktivitesi, oksidatif stres, matriks birikimi, endotel ve mezengial hücre proliferasyonu sigara ile uyarılan renal hasarlarda rol alan patomekanizmalardan bazılarıdır (22). Sigara ile uyarılan böbrek hasarlarının patomekanizması bu çoklu nedenlere bağlı olabilir fakat majör sebebinin oksidatif stres olduğu düşünülmektedir (23). Sigara dumanı reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin üretimini uyararak hücrelerde oksidatif stres üretimine, inflamatuvar gen ekspresyonlarının artışına ve endotelial disfonksiyonuna yol açar (24). Artan ROS'un, mezengial hücrelerdeki ekstrasellüler matriks üretiminde ve proksimal tübül ile kapiller endotel hücrelerdeki geçirgenlik artışına neden olarak enerji üretimi ve hücrelerel transport için gerekli olan kapasiteyi ve yapısal bütünlüğü bozduğu ve bu yolla böbrek hasarlarının ilerlemesine yol açtığı ortaya koyulmuştur (16,25). Şahin ve ark. (26) yaptıkları çalışmada stres ile uyarılmış artan oksidatif stresin nefron tübüllerinde ve glomerüllerde nekrotik değişikliklere ve ciddi hücrelerel hasarlanmalara neden olduğunu ve bu hasarın, strese bağlı olarak tetiklenen lipit peroksidasyondaki artıştan kaynaklanmış olabileceğini rapor etmişlerdir. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda tütün bitkisinin renal korteks glomerüllerinde daralmaya, hemorajiye ve tübül dejenerasyona yol açtığı bildirilmiştir (27). Diyabetli ve diyabetli olmayan sigara içen hastalarda proksimal tübül hücre disfonksiyonu ve tübül hücre hasarı gözlenmiştir ki bu bulgular tübülointerstisyel hücre hasarı ve kronik böbrek hastalığının gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (28). Ayrıca oksidan kaynağı olan tütün dumanının hücre membranlarında hasar oluşturarak, membran geçirgenliğini arttırdığı ve sonunda hücrelerde ölüme yol açtığı bilinmektedir

(29). Bizim çalışmamızda tütün dumanı grubuna ait böbrek kesitlerinde oksidanların yol açtığı tübüler epitel hücrelerinde deskuamasyon ve dejenerasyon, piknotik çekirdekli nekrotik epitel hücrelerine ve perivasküler ödem alanlarına rastlanıldı. Ayrıca diğer çalışmalarla uyumlu olarak glomerüllerde mezengial matriks artışı, Bowman boşluğunda genişleme, bazal membran kalınlaşması, tübüllerde hiyalin birikmesi ve inflamasyon alanları gözlemlendi. Bu karakteristik değişikliklerin metabolizma atık ürünlerinin tutulmasına neden olabileceği ve böylesi anormalliklerin devam etmesi halinde böbrekteki duyarlı homeostatik mekanizmaların kaybına neden olabileceği bildirilmiştir (30). Ayrıca glomerüler mezengial hücreler herhangi bir inflamatuvar uyarı sonucu uyarıldıklarında serbest radikaller, sitokin, büyüme faktörü, eikosanoidler, nitrik oksit ve endotelin gibi birçok inflamatuvar mediatörün oluşumuna yol açarak glomerülde inflamatuvar cevabı başlatabilir. Ekstrasellüler matriks üretimine de katılarak mezengial hücrelerin aşırı artışına ve dolayısıyla glomerüloskleroza götüren bir tabloya yol açabilir. Bu nedenle tütün dumanı grubuna ait böbrek kesitlerindeki artan mezengial hücreler glomerüler patolojinin bir göstergesi olabilir. Bulgulardan bir diğeri olan Bowman boşluğundaki genişleme ise glomerüllerde hasarlanmayı gösterebilen erken bir bulgu olarak değerlendirilebilir. Ancak glomerül yapısındaki yapısal bozukluğun daha net ortaya koyulabilmesi için ultrastrüktürel bir incelemenin yapılması gereklidir. Bizim çalışmamızda histolojik değerlendirmeler sadece ışık mikroskobu altında yapılabildi. Ancak bulgularımız; MDA düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde başlıca patolojinin, ROS artışına bağlı olarak ortaya çıkan glomerüler hasar kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

VEGF-A olarak da adlandırılan VEGF, 34–46 kDa büyüklüğünde, embriyogenezde kan damarları oluşumunda görev alan ve bu özelliği ile dokularda anjiogenezisi başlatan birçok farklı hücre tipinde üretilen bir proteindir (31). İnsan ve kemiricilerin böbrek dokularında, glomerüler podositlerde, distal

ve proksimal toplayıcı tübüllerde ve toplayıcı kanallarda VEGF üretimi gerçekleşir (32,33). VEGF'in potansiyel anjiogenezisi uyarması nedeniyle renal hücre karsinomlarını teşvik ettiği bildirilmiştir (34). Sigara, vasküler hastalıklar ve çeşitli kanser türleri için önemli bir risk faktörüdür ve böbrekler, sigaranın yol açtığı hasarlar için önemli bir hedef organıdır (21,22,24). Birçok çalışmada ROS ile anjiogenezis arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir. Sigara dumanındaki hidrojen peroksit, nikotin ve majör metaboliti olan kotinin gibi toksik komponentlerin endotel ve vasküler düz kas hücrelerinden VEGF üretimini uyardığı, böylece anjiogenik yanıtları düzenlediği ortaya koyulmuştur (35,36). Bunun yanı sıra VEGF'nin endotel hücrelerindeki nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz aktivasyonu yolu ile ROS üretimini daha da arttırdığı bildirilmiştir (37). VEGF ekspresyonundaki bu artış ise tümör gelişimindeki neovaskülarizasyon ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca dokudaki artan VEGF seviyelerinin kapiler sızıntılara neden olarak ödeme yol açtığı da ortaya koyulmuştur (38). Bununla ilgili yapılan bir çalışmada Tip1 diyabetli hastaların serum VEGF düzeyleri ile kapiler geçirgenlik arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (39). VEGF inhibisyonunun diyabetle ilişkili glomerüler hiperfiltrasyonu, glomerüler hipertrofi ve idrar albümin boşaltımını metabolik kontrolü etkilemeden ortadan kaldırdığı ortaya koyulmuştur (40). VEGF, normal böbreklerde glomerüler geçirgenliği düzenlerken, patolojik durumlarda proteinüriyi uyarmaktadır. Örneğin fareler üzerinde yapılan bir çalışmada podosite spesifik VEGF-164'ün aşırı ekspresyonunun glomerüler lezyona yol açarak proteinüri, glomerulomegali, mesangial ve bazal membran kalınlaşması gibi mürin diyabetik nefropatide görülen benzer yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açtığı gözlenmiştir (41). Ayrıca, hipoksi veya herhangi bir hasarda tübüler hücrelerin VEGF üretimine yanıt vererek, tübüler hasarın üstesinden gelmek için, peritübüler kapiler proliferasyonunu uyardığı ortaya koyulmuştur (42). Çalışmada hipoksik ortam ile ilgili bir değerlendirme yapılmamıştır fakat tütün

dumanının dokulardaki oksijenizasyonu azalttığı ve damarlarda daralmaya yol açarak dokuların beslenmesini önlediği bilinmektedir (43). Bu bilgilerden yola çıkarak VEGF artışının bir nedeninin de bu tütün dumanı kaynaklı hipoksik ortamın olabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stres faktörü olan sigaranın antioksidan kapasiteyi azaltarak, insanlarda ve deneysel hayvan modellerinde çeşitli hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir (21,24). Tütün dumanına bağlı olarak artan ROS'un, hücrelerde hasara yol açan membran peroksidasyonuna ve MDA oluşumuna neden olduğu bilinmektedir. MDA, dokulardaki lipid peroksidasyonunu belirleyen bir belirteçdir. Sigara dumanındaki reaktif peroksil radikalleri ve asetaldehit içeriğinin lipid peroksidasyonu arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle sigara içenlerde peroksidasyon ürünü olan plazma ve doku MDA düzeyleri yüksek beklenmektedir (44). Çalışmada tütün dumanı grubuna ait böbrek dokularında MDA değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde arttığı tespit edildi. Bu da tütün dumanının böbrek dokusunda yol açtığı hasarların ROS kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

Oksidatif stres, organizmada zararlı serbest radikallerin oluşmasıyla ortaya çıkar. Serbest radikaller, normal bir metabolizmanın devamı ve hücrede enerji üretimi için gerekli olan birçok reaksiyon tarafından üretilebilmektedir. Toksik düzeydeki serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle etkileşerek membran bütünlüğünün kaybına, proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere ve genetik mutasyonlara sebebiyet vermektedir. Organizma bu zararlı radikallerin etkisiyle başa çıkabilmek için bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir (45). Enzimatik olmayan antioksidanlardan biri olan ALA, mitokondrilerin pürüvat dehidrogenaz ve alfa ketoglutarat dehidrogenaz enzimlerinin kofaktörü olarak görev alan güçlü bir antioksidandır. Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, metotretksat ile böbreklerde oluşturulan oksidatif hasara karşı ALA'nın, anti-

inflamatuvar ve anti-oksidan etkileri sayesinde, kısmen koruma sağladığı ortaya koyulmuştur (46). Çalışmamızda da ALA'nın antioksidatif etkisi ile tütün dumanı ile meydana gelen böbrek dokularındaki artan MDA düzeylerini ve histopatolojik bulguları azalttığı gözlemlendi.

Bu çalışmanın bulguları, önemli bir sosyal ve sağlık problemi oluşturan çevresel tütün maruziyetinin ve pasif içiciliğin özellikle gebelik boyunca annenin teneffüs etmesini önlemek ve bu kişileri korumak için önlemlerin alınmasının önemini tekrar vurgulamaktadır. Bu nedenle gebelik süresince kadınların sigara veya tütün ürünlerine olan maruziyetin önlenmesi annenin sağlığı açısından oldukça önem arz etmektedir.

Sonuç olarak gebelikte tütün dumanı kaynaklı oksidatif hasarın anneye ait böbrek dokularında hasara yol açtığı, güçlü bir antioksidan olan ALA uygulamasının ise bu hasarı kısmen engellediği gözlemlendi. Oksidatif strese bağlı olarak artan lipid peroksidasyonu ile meydana gelen glomeruler ve tübüler hasarların, kanın filtrasyonunda ve reabsorbsiyon mekanizmalarında, renal histopatolojisinde ve fizyolojisinde önemli bozulmalar meydana getirebileceğini, fakat bu etkinin mekanizmalarını açıklayabilecek daha ileri düzeyde biyokimyasal ve ultrastrüktürel çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Vanker A., Gie RP., Zar HJ., 2017. The association between environmental tobacco smoke exposure and childhood respiratory disease: a review. *Expert Rev Respir Med*, 11, 661-673.
2. Thielen A., Klus H., Muller L., 2008. Tobacco smoke: unraveling a controversial subject. *Exp Toxicol Pathol*, 60, 141-156.
3. Keith RJ., Rifai M., Defilippis AP., 2016. Tobacco use, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes: results from the multi-ethnic study of atherosclerosis. *PLoS ONE*, 11, 1-24.
4. Lucini D., Bertocchi F., Malliani A., Pagani M., 1996. A controlled study of the autonomic

- changes produced by habitual cigarette smoking in healthy subjects. *Cardiovascular Res*, 31, 633-639.
5. Karcaaltincaba D., Kandemir Ö., Yalvac S., Güvendağ Güven ES., Yildirim BA., Haberal A., 2009. Cigarette smoking and pregnancy: results of a survey at a turkish women's hospital in 1,020 patients. *J Obstet Gynaecol*, 29, 480-486.
  6. Niemann B., Rohrbach S., Miller MR., Newby DE., Fuster V., Kovacic JC., 2017. Oxidative stress and cardiovascular risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: Part 3 of a 3-part series. *J Am Coll Cardiol*, 70, 230-251.
  7. Blann AD., McCollum CN., 1993. Adverse influence of cigarette smoking on the endothelium. *Thromb Haemost*, 7, 707-711.
  8. Boor P., Casper S., Celec P., 2009. Renal, vascular and cardiac fibrosis in rats exposed to passive smoking and industrial dust fibre amosite. *J Cell Mol Med*, 13, 4484-4491.
  9. Shibuya M., 2008. Vascular endothelial growth factor-dependent and-independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep*, 41, 278-286.
  10. Wang Y., Zang QS., Liu Z., Wu Q., Maass D., Dulan G., Shaul PW., Melito L., Frantz DE., Kilgore JA., Williams NS., Terada LS., Nwariaku FE., 2011. Regulation of VEGF-induced endothelial cell migration by mitochondrial reactive oxygen species. *Am J Physiol Cell Physiol*, 301, 695-704.
  11. Ushio-Fukai M., Tang Y., Fukai T., Dikalov SI., Ma Y., Fujimoto M., Quinn MT., Pagano PJ., Johnson C., Alexander RW., 2002. Novel role of gp91(phox)-containing NAD(P)H oxidase in vascular endothelial growth factor-induced signaling and angiogenesis. *Circ Res*, 91, 1160-1167.
  12. Shay KP., Moreau RF., Smith EJ., Smith AR., Hagen TM., 2009. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*, 1790, 1149-1160.
  13. Takaoka M., Ohkita M., Kobayashi Y., Yuba M., Matsumura Y., 2002. Protective effect of alpha-lipoic acid against ischaemic acute renal failure in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 29, 189-194.
  14. Sugimura Y., Murase T., Kobayashi K., Oyama K., Hayasaka S., Kanou Y., Oiso Y., Murata Y., 2009. Alpha-lipoic acid reduces congenital malformations in the offspring of diabetic mice. *Diabetes Metab Res Rev*, 25, 287-294.
  15. Al Ghafli MHM., Padmanabhan R., Kataya HH., Berg B., 2004. Effects of  $\alpha$ -lipoic acid supplementation on maternal diabetes-induced growth retardation and congenital anomalies in rat fetuses. *Mol Cell Biochem*, 261, 123-135.
  16. Placer ZA., Cushmann LL., Johnson BC., 1966. Estimation of products of lipid peroxidation (as malondialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364.
  17. Ejerblad E., Fored CM., Lindblad P., Fryzek J., Dickman PW., Elinder CG., McLaughlin JK., Nyren O., 2004. Association between smoking and chronic renal failure in a nationwide population-based case-control study. *J Am Soc Nephrol*, 15, 2178-2185.
  18. Mercado C., Jaimes EA., 2007. Cigarette smoking as a risk factor for atherosclerosis and renal disease: novel pathogenic insights. *Curr Hypertens Rep*, 9, 66-72.
  19. Xie X., Liu Q., Wu J., Wakui M., 2009. Impact of cigarette smoking in type 2 diabetes development. *Acta Pharmacol Sin*, 30, 784-787.
  20. Bickerstaff M., Beckmann M., Gibbons K., Flenady V., 2012. Recent cessation of smoking and its effect on pregnancy outcomes. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*, 52, 54-58.
  21. Cooper RG., 2006. Effect of tobacco smoking on renal function. *Indian J Med*, 124, 261-268.
  22. Orth SR., 2000. Smoking--a renal risk factor. *Nephron*, 86, 12-26.
  23. Rahman MM., Laher I., 2007. Structural and functional alteration of blood vessels caused by cigarette smoking: an overview of molecular mechanisms. *Curr vasc Pharmacology*, 5, 276-292.
  24. Csiszar A., Podlutzky A., Wolin MS., Losonczy G.,

- Pacher P., Ungvari Z., 2009. Oxidative stress and accelerated vascula raging:implications for cigarette smoking. *Front Biosci*, 14, 3128-3144.
25. Fakhruddin S., Alanazi WA., Jackson KE., 2017. Diabetes-induced reactive oxygen species: mechanism of their generation and role in renal injury. *J Diabetes Res*, 1-30.
26. Şahin E., Demirci T., Gedikli S., 2017. Kronik stres ve böbrek: sıçan modeli üzerinde morfolometrik ve histopatolojik çalışma. *Sakarya Tıp Derg*, 7, 168-175.
27. Adedayo AD., Tijani AA., Adeniyi TD., 2011. Histological study of smoke extract of tobacco nicotiana on the heart, liver, lungs, kidney, and testes of male Sprague-Dawley rats. *Niger Med J*, 52, 217-222.
28. Hultberg B., Isaksson A., Brattström L., Israelsson B., 1992. Elevated urinary excretion of betahexosaminidase in smokers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 30, 131-133.
29. Kumari S., Badana AK., Murali MG., Shailender G., Malla R., 2018. Reactive oxygen species: a key constituent in cancer survival. *Biomark Insights*, 13, 1-9.
30. Stevens A., Lowe J., 2005. *Human Histology*. 3rd ed., 232, Elsevier Mosby Publication, Philadelphia.
31. Hayman SR., Leung N., Grande JP., Garovic VD., 2012. VEGF inhibition, hypertension, and renal toxicity. *Curr Oncol Rep*, 14, 285-294.
32. Cha DR., Kim NH., Yoon JW., Jo SK., Cho WY., Kim HK., Won NH., 2000. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 58, 104-112.
33. Whittle C., Gillespie K., Harrison R., Mathieson PW., Harper SJ., 1999. Heterogeneous vascular endothelial growth factor (VEGF) isoform mRNA and receptor mRNA expression in human glomeruli, and the identification of VEGF148 mRNA, a novel truncated splice variant. *Clin Sci*, 97, 303-312.
34. Dvorak HF., 2001. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol*, 20, 4368-4380.
35. Heeschen C., Jang JJ., Pathak A., Kaji S., Hu BS., Tsao P., Johnson F., Cooke JP., 2001. Nicotine is an agent of angiogenesis: a pathophysiological link to cancer and atherosclerosis. *Nat Med*, 7, 833-839.
36. Conklin BS., Zhao W., Zhong DS., Chen C., 2002. Nicotine and cotinine up-regulate vascular endothelial growth factor expression in endothelial cells. *Am J Pathol*, 160, 413-418.
37. Ushio-Fukai M., Alexander RW., 2004. Reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signaling:role of NAD(P)H oxidase. *Mol Cell Biochem*, 264, 85-97.
38. Kaner RJ., Ladetto JV., Singh R., Fukuda N., Matthay MA., Crystal RG., 2000. Lung overexpression of the vascular endothelial growth factor gene induces pulmonary edema. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 22, 657-664.
39. Brausewetter F., Jehle PM., Jung MF., Boehm BO., Brueckel J., Hombach V., Osterhues HH., 2001. Microvascular permeability is increased in both types of diabetes and correlates differentially with serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I) and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Horm Metab Res*, 33, 713-720.
40. de Vriese AS., Tilton RG., Elger M., Stephan CC., Kriz W., Lameire NH., 2001. Antibodies against vascular endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 12, 993-1000.
41. Veron D., Reidy KJ., Bertuccio C., Teichman J., Villegas G., Jimenez J., Shen W., Kopp JB., Thomas DB., Tufro A., 2010. Overexpression of VEGF-A in podocytes of adult mice causes glomerular disease. *Kidney Int*, 77, 989-999.
42. Schrijvers BF., Flyvbjerg A., Vriese AS., 2004. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int*, 65, 2003-2017.
43. Krueger JK., Rohrich RJ., 2001. Clearing the



- smoke: The scientific rationale for tobacco abstinence with plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*, 108, 1063-1073.
44. Kiral F., Ulutas PA., Fidanci UR., 2008. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rats exposed to cigarette smoke. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55, 145-148.
45. Phaniendra A., Jestadi DB., Periyasamy L., 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem*, 30, 11-26.
46. Çakır T., Polat C., Baştürk A., Gül M., Aslaner A., Durgut H., Şehirli AÖ., Aykaç A., Bahar L., Sabuncuoğlu MZ., 2015. The effect of alpha lipoic acid on rat kidneys in methotrexate induced oxidative injury. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19, 2132-2139.



## *Prunus laurocerasus* L. Meyve Ekstraktının Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Ülser Karşı Koruyucu Etkisi\*

Hamit USLU<sup>1a</sup>, Gözde ATILA USLU<sup>2b</sup>

1. Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri MYO, Sağlık Bakım Hizmetleri Bölümü, Kars, TÜRKİYE.  
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.  
ORCID: 0000-0002-3974-5814<sup>a</sup>, 0000-0002-2328-9164<sup>b</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.08.2018	16.12.2018	28.04.2019
<b>Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:</b> <b>Uslu H, Atila Uslu G:</b> <i>Prunus laurocerasus</i> L. Meyve Ekstraktının Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Ülser Karşı Koruyucu Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 64-70, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.450513		

**Öz:** Bu çalışmada *Prunus laurocerasus* meyve ekstraktının, non-steroid antiinflatuar ilaçlardan biri olan indometazin kaynaklı gastrik ülser modelinde koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Deney hayvanları dört gruba ayrıldı (Kontrol, *Prunus laurocerasus*, İndometazin ve Omeprazol grupları). I. ve III. gruba izotonik tuzlu su, II. gruba 500 mg/kg *Prunus laurocerasus* ekstraktı ve IV. gruba 5 mg/kg omeprazol oral olarak verildi. Çalışmanın 11. gününde II, III ve IV. gruplara tek doz 100 mg/kg indometazin oral olarak uygulandı. Siklooksijenaz - 2 (COX-2) ve C - reaktif protein (CRP) seviyeleri, indometazin grubunda önemli şekilde artarken (P<0.001), *Prunus laurocerasus* (sırasıyla P<0.05, P<0.001) ve omeprazol uygulamaları ile önemli şekilde azaldı (sırasıyla P<0.01, P<0.001). İndometazin grubunda interlökin - 6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör - alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeylerinde artış olduğu belirlendi (P<0.05). Hem *Prunus laurocerasus* hem de omeprazol uygulaması ile IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin azaldığı, ancak bu azalışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi. Sonuç olarak, *Prunus laurocerasus*'un, mide ülserinde CRP ve COX-2 seviyelerini düşürmede piyasadaki standart ilaçlardan biri olan omeprazol benzeri etki gösterdiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** C-reaktif protein, Gastrik ülser, Proinflamatuvar sitokinler, *Prunus laurocerasus*, Siklooksijenaz-2.

## Protective Effect of *Prunus laurocerasus* L. Fruit Extract Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats

**Abstract:** In the present study, it was aimed to investigate the protective effects of *Prunus laurocerasus* fruit extract in the indomethacin-induced gastric ulcer model, which one of the non-steroid anti-inflammatory drugs. Experimental animals were divided into four groups (Control, *Prunus laurocerasus*, Indomethacin and Omeprazole groups). The groups I and III was given isotonic saline, the group II was given 500 mg/kg *Prunus laurocerasus* extract and the group IV was given 5 mg/kg omeprazole orally. On the 11<sup>th</sup> day of the study, a single dose of 100 mg/kg indomethacin was administered orally to the II, III and IV groups. The levels of cyclooxygenase - 2 (COX-2) and C - reactive protein (CRP) increased significantly in indomethacin group (P<0.001), while significantly decreased with the application of *Prunus laurocerasus* (P<0.05, P<0.001 respectively) and omeprazole (P<0.01, P<0.001 respectively). It was determined that interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) levels were increased in the indomethacin group (P<0.05). It was detected that IL-6 and TNF- $\alpha$  levels decreased with both *Prunus laurocerasus* and omeprazole administration, but these decreases were not statistically significant. In conclusion, it has been detected that *Prunus laurocerasus* has an omeprazole-like effect, which is one of the standard drugs in the market, when lowering CRP and COX-2 levels in gastric ulcer.

**Keywords:** C - reactive protein, Cyclooxygenase - 2, Gastric ulcer, Proinflammatory cytokines, *Prunus laurocerasus*.

<sup>a</sup>Hamit USLU

Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri MYO, Sağlık Bakım Hizmetleri Bölümü, Kars, TÜRKİYE.  
e-posta: hamit\_uslu@hotmail.com

\* International Conference on Research in Education & Science'da (2018) Sözlü sunum (syf 189) olarak sunulmuştur.

## GİRİŞ

**S**indirim sistemi ülserleri genellikle asit ve pepsin sekresyonundaki artış, oksidatif stres, mukus ve bikarbonat sekresyonundaki azalmalar ile *Helicobacter pylori*'den kaynaklanmaktadır (1,2). Mide ülserasyonu bilinen en yaygın gastrointestinal rahatsızlık olup Dünyadaki her 15.000 komplikasyondan yaklaşık 15'inin ölümle sonuçlandığı belirtilmiştir (3,4). Ağrı, ateş ve inflamasyon tedavisinde Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ)'da yan etki olarak özellikle gastrointestinal sistemde kanama, mukozal erozyonlar, perforasyonlar ve ülserasyon gibi hasarlara neden olduğu bilinmektedir (5). Ayrıca bu ilaçların neden olduğu gastrointestinal toksisitenin yılda %4-8 gibi yüksek bir orana sahip olduğu, daha önce ülser hastalığı geçmişi olanlarda ise bu toksisite oranının daha da yükselebileceği belirtilmektedir (6). NSAİİ'lerden biri olan indometazin prostoglandin sentezine müdahale ederek asit salınımı ve H<sup>+</sup> iyonlarının difüzyonunun arttırarak ayrıca lökotrienlerin ve 5-lipoksigenaz yolağındaki diğer ürünlerin aşırı üretilmesine neden olarak mukozal hasara neden olmaktadır (7,8). Dahası Siklooksigenaz 1 (COX-1), prostaglandin E2 (PGE2), bikarbonat ve mukus gibi koruyucu faktörlerin salgılanmasını engellemek suretiyle gastrik hasarın daha da şiddetlenmesine neden olmaktadır (9).

*Prunus laurocerasus* L. (*Laurocerasus officinalis* Roem.) Rosaceae familyasına ait çok yıllık bitki olup, ağırlıklı olarak Karadeniz Bölgesi kıyılarında yetiştirilmekle birlikte İran, Irak ve Suriye'de de yayılım gösterebilmektedir (10,11). Türkiye'de yerel olarak Taflan, Karayemiş ve Laz kirazı olarak da adlandırılan *Prunus laurocerasus* genellikle taze meyve olarak tüketilmekle birlikte kurutulmuş ya da salamura şeklinde, reçel, pekmez ve marmelat yapılarak da tüketimi söz konusudur (12). *Prunus laurocerasus* hakkında yapılan araştırmalar günümüzde oldukça sınırlı sayıda olup, bu nedenle endüstri alanında kullanımı son derece sınırlı kalmaktadır. Ancak, Türkiye'de hem meyvesi hem de

tohumları halk arasında mide ülserleri, sindirim sistemi, bronşit, egzamalar, hemoroit şikâyetleri için kullanılmasının yanı sıra anti-diyabetik, analjezik ve diüretik ajan olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (11,13,14). *Prunus laurocerasus*'un tohum, meyve ve yapraklarının fonksiyonel içeriği, antioksidan kapasitesi ve anti-diyabetik etkinliğinin araştırılmasıyla ilgili çalışmalar bulunsa da oldukça sınırlı sayıdadır (15,16). Bu nedenle yapılan çalışmada *Prunus laurocerasus* L. meyve ekstraktının indometazin ile indüklenen mide ülseri üzerine gastroprotektif etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Ekstraksiyon yöntemi

*Prunus laurocerasus* meyveleri Trabzon İli Çarşıbaşı İlçesi'nden toplandıktan sonra gölgede kurutuldu. Ardından çekirdeklerinden ayrılan kurumuş meyveler iyice öğütülüp toz haline getirildi ve daha sonra su etanol karışımında (2:8) 1:5 (meyve:çözücü) oranında karıştırıldı. Daha sonra bu maserasyon çalkalamalı su banyosunda 2 gün oda sıcaklığında bekletildi. 2 gün sonunda maserasyon filtre kâğıdından süzülde ve ardından çözücüler indirgenmiş basınç altında evaporatörde 50 °C uçurulmak suretiyle meyve ekstraktı elde edildi. 250 ml'lik maserasyondan 24.24 g ekstrakt elde edildi.

### DeneySEL Dizayn

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2017-097 kodlu onayı ile 40 adet 2-3 aylık dişi Wistar albino cinsi sıçan kullanılarak Kafkas Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Tüm çalışma gruplarında 10 hayvan bulunmaktaydı. Sıçanlar standart şartlarda (sabit ısı ve havalandırma odalarında; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık olmak üzere) ve her gün altları temizlenen kafeslerde *ad-libitum* olarak beslendi.

Çalışma grupları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.

1. Kontrol Grubu (K) : Günlük oral olarak 500 µl serum fizyolojik,
2. İndometazin Grubu (İND) : Günlük oral olarak 500 µl serum fizyolojik + 11. gün 100 mg/kg tek doz indometazin,
3. *Prunus laurocerasus* + İndometazin Grubu (PL+İND) : 500 mg/kg *Prunus laurocerasus* meyve ekstraktı oral olarak 10 gün boyunca + 11. gün tek doz 100 mg/kg tek doz indometazin,
4. Omeprazol + İndometazin Grubu (O+İND) : 5 mg/kg omeprazol (standart ilaç) oral olarak 10 gün boyunca + 11. gün tek doz 100 mg/kg tek doz indometazin uygulandı.

Çalışma başlangıcından önce deney hayvanlarının birbirine ve ortama adapte olması için 7 gün beklenildi. Bu adaptasyon sürecinden sonra çalışma gruplarına 10 gün boyunca maddeler yukarıda belirtilen prosedüre uygun olarak oral gavaj ile verildi. 11. gün ise 8 saat aç bırakılan sıçanlara tek doz indometazin oral gavaj ile uygulandı. Kontrol ve indometazin grupları ile madde uygulanan gruplar arasındaki madde uygulamasına bağlı gelişebilecek stresi minimize etmek için bu gruplara da gavaj ile serum fizyolojik uygulandı.

#### Biyokimyasal ve Makroskopik Analizler

İndometazin uygulamasından 24 saat sonra sodyum pentobarbital (30 mg/kg) anestezisi altındaki hayvanların servikal dislokasyonunu takiben mide dokuları alındı. Alınan mide dokuları 1:9 oranında fosfat tamponunda (pH 7.4) homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Bu homojenizatlar ardından kit prosedürüne uygun olarak 5000 x g'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi ve süpernatant kısımları alınarak analizler için hazırlandı. Doku homojenizatlarında COX-2, CRP, IL-6 ve TNF-α düzeyleri ticari ELİZA kitleri (Elabscience-USA) kullanılarak belirlendi. Gastrik ülser skorunun hesaplanmasında ise öncelikli olarak tüm mide dokularında ülserli alanlar ile toplam alan mm<sup>2</sup> olarak hesaplandı. Ardından aşağıdaki formüle göre ülser indeksi % olarak belirlendi (17).

Ülser indeksi =[ülserli alan / toplam mide alanı] x 100

#### İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için SPSS 18 paket programı kullanıldı. Gruplar arasındaki değişkenlerin değerlendirilmesi için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Tukey testi uygulandı. P<0.05 olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Araştırma sonuçlarına ait değerler ortalama ± standart sapma olarak verildi.

#### BULGULAR

Yapılan makroskopik incelemelerde K grubunda ülseratif alana rastlanmamış olup tamamen normal görünümdeydi. Yalnız K grubu ile kıyaslandığında İND grubunda ülseratif alanlarının önemli oranda arttığı belirlendi (P<0.001). PL+İND ve O+İND grupları İND grubu ile kıyaslandığında ise her iki grupta da ülseratif alan %'sinin önemli oranda azaldığı tespit edildi (P<0.001). *Prunus laurocerasus* meyve ekstraktının ülseratif alan oluşumunu önleyici etkisinin piyasadaki standart ilaçlardan biri olan Omeprazol ile benzer olması dikkat çekmektedir (Tablo 1 ve Şekil 1).

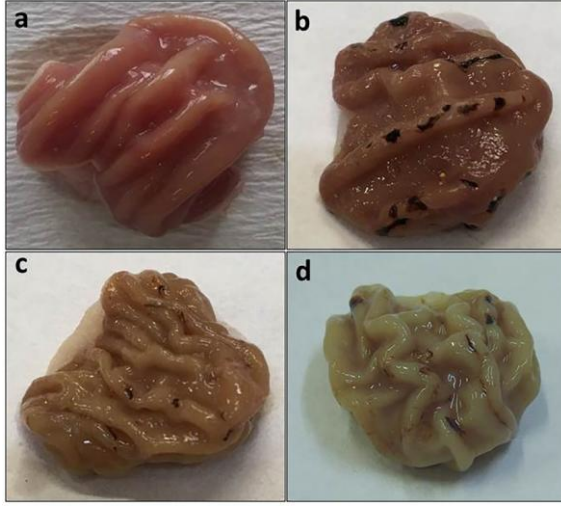
**Tablo 1.** Kontrol ve deneme gruplarının toplam ülseratif alan %'leri, ortalama ± SD.

**Table 1.** Total ulcerative areas % of control and experimental groups, mean ± SD.

Gruplar	n	Ülser Skoru
K	10	0±0 <sup>a</sup>
İND	10	4.89±0.83 <sup>b</sup>
PL+İND	10	1.73±0.40 <sup>c</sup>
O+İND	10	1.54±0.12 <sup>d</sup>

(K: Kontrol, İND: İndometazin, PL+İND: *Prunus laurocerasus* + İndometazin, O+İND: Omeprazol + İndometazin)

a-b, b-c, b-d : P<0.001, a-c : P<0.01, a-d : P<0.05, c-d: P>0.05



**Şekil 1.** Çalışma gruplarının mide dokularının makroskopik görünümleri (a: K, b: İND, c: PL+İND, d: O+İND)

**Figure 1.** Macroscopic appearance of the stomach tissues of the study groups (a: K, b: İND, c: PL+İND, d: O+İND).

İND ve PL+İND grupları K grubu ile kıyaslandığında COX-2 düzeylerinin İND ve PL+İND gruplarında önemli düzeyde artmış olduğu belirlendi (sırasıyla  $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ) (Tablo 2). Ayrıca COX-2

seviyeleri İND grubu ile karşılaştırıldığında, PL+İND ve O+İND gruplarında önemli oranda azalış olduğu tespit edildi (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.001$ ) (Tablo 2). CRP düzeyleri incelendiğinde İND grubunda K grubuna göre önemli düzeyde artış olduğu belirlendi ( $P<0.001$ ) (Tablo 2). PL+İND ve O+İND grupları İND grubu ile karşılaştırıldığında ise PL+İND ve O+İND gruplarında mide CRP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ( $P<0.001$ ) (Tablo 2). IL-6 seviyelerinin İND grubunda K grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği tespit edildi ( $P<0.05$ ) (Tablo 2). Bunun yanı sıra IL-6 seviyelerinin PL+İND ve O+İND gruplarında hem K hem de İND gruplarına benzediği tespit edildi. TNF- $\alpha$  seviyelerindeki değişiklikler Tablo 2'de gösterilmiş olup, İND grubu K grubu ile karşılaştırıldığında bu düzeyin önemli şekilde arttığı belirlendi ( $P<0.01$ ). O+İND grubunun TNF- $\alpha$  seviyesinin hem K hem de İND gruplarına benzediği tespit edildi. TNF- $\alpha$  düzeyi bakımından PL+İND grubu İND grubu ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel önemlilik belirlenmedi, K grubu ile kıyaslandığında ise PL+İND grubunda artış olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Prunus laurocerasus meyve ekstraktının indometazin ile oluşturulan gastrik ülser modelinde COX-2, CRP, IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerine (ng/mL) etkisi, ortalama  $\pm$  SD.

**Table 2.** Effects of Prunus laurocerasus fruit extract on COX-2, CRP, IL-6 and TNF- $\alpha$  levels (ng/mL) in the indomethacin-induced gastric ulcer model, mean  $\pm$  SD.

	K	İND	PL+İND	O+İND
COX-2 (ng/mL)	79.55 $\pm$ 9.23 <sup>a</sup>	248.48 $\pm$ 67.10 <sup>b</sup>	157.09 $\pm$ 36.00 <sup>c</sup>	121.80 $\pm$ 34.39 <sup>ac</sup>
CRP (ng/mL)	13.56 $\pm$ 3.55 <sup>a</sup>	177.05 $\pm$ 36.39 <sup>b</sup>	32.05 $\pm$ 12.81 <sup>a</sup>	30.15 $\pm$ 14.42 <sup>a</sup>
IL-6 (ng/mL)	3.77 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>	5.33 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	4.59 $\pm$ 0.91 <sup>ab</sup>	4.73 $\pm$ 0.96 <sup>ab</sup>
TNF- $\alpha$ (ng/mL)	1.94 $\pm$ 0.82 <sup>a</sup>	3.47 $\pm$ 0.79 <sup>b</sup>	3.20 $\pm$ 0.55 <sup>bc</sup>	2.97 $\pm$ 0.32 <sup>ab</sup>

(K: Kontrol, İND: İndometazin, PL+İND: Prunus laurocerasus + İndometazin, O+İND: Omeprazol + İndometazin, COX-2: Siklooksijenaz-2, CRP: C-Reaktif Protein, IL-6: İnterlökin-6, TNF- $\alpha$ : Tümör Nekrozis Faktör-alfa)

<sup>a,b,c</sup>: Aynı satırda farklı harfler istatistiksel farklılığı göstermektedir.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

İndometazin, prostaglandin sentezi inhibisyonunu, COX-2 ve pro-inflamatuar sitokinlerin inflamasyon bölgelerinde ekspresyonunu ve serbest radikallerin oluşumunu artırarak gastrik ülserasyonun patogenezinde birçok biyokimyasal olayları tetiklemektedir (18–20). Ayrıca indometazinin mide mukozası için önemli koruyucu faktörlerden biri olan mün salgısını azaltarak (19)

pro-inflamatuar sitokinlerin ve serbest radikallerin midede daha kolay hasar oluşturabilmesine neden olur. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, NSAİİ'lerin inflamasyon, kanama, perforasyon, hastaneye yatma ve ölüm gibi ciddi ülser komplikasyonları riskini yaklaşık 3–10 kat artırdığını ortaya koymuştur (21,22). İnflamasyon; genellikle proinflamatuar sitokinlerin (TNF, IL-1, IL-6, interferon- $\gamma$ ) kandan,

etkilenen dokuya salınımı ile karakterize edilmekte olup (23), özellikle TNF- $\alpha$  NSAİİ ilaçlarla tedavi edilen sıçanlarda mide mukozasında ciddi hasarlara neden olan önemli fizyopatolojik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (24). COX-2'nde prostoglandinlerin sentezlenme oranını azaltmak suretiyle başta mide olmak üzere gastrointestinal sistemin birçok kısmında lezyonlara hatta ülserlere sebep olmaktadır (25). Hatta COX-2'nin aşırı salgılanması ülserin yanı sıra kolorektal, gastrik, özofagal ve pankreatik kanserlere dahi yol açtığı bildirilmiştir (26,27). Klinik çalışmalarda, inflamatuvar faktörlerin (IL-6, CRP ve TNF- $\alpha$ ) gastrik ülserli hastalarda önemli düzeyde arttığı hatta yükselmiş CRP düzeylerinin pozitif bir prediktif değer olduğu bildirilmiştir (28,29). Bu nedenle yapılan bu çalışmada mide homojenizatlarında TNF- $\alpha$ , IL-6, COX-2 ve CRP düzeyleri değerlendirilmiş olup, elde edilen sonuçlarda İND grubu K grubu ile kıyaslandığında bu inflamasyon faktörlerinin önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir.

Farklı deneysel çalışmalarda antioksidan etkinliği bildirilen *Prunus laurocerasus*'un (16,30) Türk geleneksel tıbbında, egzama, hemoroidin, mide ülserleri, sindirim ve solunum sistemi problemleri tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (31). *Prunus laurocerasus*'un yaprak ve meyve ekstraktlarının nöroprotektif, antioksidan ve hipoglisemik etkilerinin olduğuna dair çalışmalar yapılmış olup (32-34), folklorik kullanıma dayanan *Prunus laurocerasus* meyvelerinin indometazin ile indüklemiş mide ülseri üzerine gastroprotektif etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Yapılan çalışmada *Prunus laurocerasus* meyve ekstraktı uygulanan grup ile İND grubu kıyaslandığında PL+İND grubunda mide hasarı patogenezisinde etkili olan parametre seviyelerinde (CRP, COX-2 ve TNF- $\alpha$ ) ve ülseratif alan %'sinde önemli azalmalar olduğu, bu azalmalarda ise meyve yapısında bulunan ve antioksidan özellik sağlayan fenolik asitler (klorojenik asit, vanilik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit, ferulik asit, syringic asit, protocatechuic asit, gallik asit) ile diğer

fenolik bileşenlerin (rutin, catechin) (13,35) rolünün son derece önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, *Prunus laurocerasus* indometazinin neden olduğu gastrik mukozal ülser modelinde anlamlı bir gastroprotektif etki göstermiş olup, bu gastroprotektif etkisi sıçan mide dokularında COX-2 ve inflamasyon markerları üzerindeki inhibitör etkisine bağlanabilir.

#### KAYNAKLAR

1. Shim YK., Kim N., 2016. Nonsteroidal anti-inflammatory drug and aspirin-induced peptic ulcer disease. Korean J Gastroenterol, 67, 300-312.
2. Cheng YT., Lu CC., Yen GC., 2017. Phytochemicals enhance antioxidant enzyme expression to protect against NSAID-induced oxidative damage of the gastrointestinal mucosa. Mol Nutr Food Res, 61, 1600659.
3. Sonnenberg A., 1996. Geographic and temporal variations in the occurrence of peptic ulcer disease. Scand J Gastroenterol Suppl, 110, 11.
4. Shristi B., Neha J., Indu BP., Rajesh G., 2012. A review on some Indian medicinal plants for antiulcer activity. J Sci Res Pharm, 1, 6-9.
5. Wallace JL., 2001. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 15, 691-703.
6. Griffin MR., Scheiman JM., 2001. Prospects for changing the burden of nonsteroidal anti-inflammatory drug toxicity. Am J Med, 110, 33S-37S.
7. Antonisamy P., Arasu MV., Dhanasekaran M., Choi KC., Aravinthan A., Kim NS., 2016. Protective effects of trigonelline against indomethacin-induced gastric ulcer in rats and potential underlying mechanisms. Food Funct, 7, 398-408.
8. Tegeder I., Neupert W., Guhring H., Geislinger G., 2000. Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs. J Pharmacol Exp Ther, 292, 1161-1168.

9. Mitchell JA., Larkin S., Williams TJ., 1995. Cyclooxygenase-2: regulation and relevance in inflammation. *Biochem. Pharmacol*, 50, 1535-1542.
10. Vavilov NI., 1951. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. 72, 482.
11. Elmastas M., Genc N., Demirtas I., Aksit H., Aboul-Enien HY., 2013. Isolation and identification of functional components in seed of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and investigation of their antioxidant capacity. *TBAP*, 3, 115-120.
12. Alasalvar C., Al-Farsi M., Shahidi F., 2005. Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *J Food Sci*, 70, S47-S52.
13. Ozturk B., Celik SM., Karakaya M., Karakaya O., Islam A., Yartilgac T., 2017. Storage temperature affects phenolic content, antioxidant activity and fruit quality parameters of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *J Food Process Preserv*, 41, e12774.
14. Uslu H., Atila Uslu G., Özen H., Karaman M., 2018. Effects of different doses of *Prunus laurocerasus* L. leaf extract on oxidative stress, hyperglycaemia and hyperlipidaemia induced by type I diabetes. *IJTK*, 17, 430-436.
15. Ustun NS., 2003. A research on composition of wild cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem). *J Food Tech*, 1, 80-82.
16. Kolayli S., Kucuk M., Duran C., Candan F., Dincer B., 2003. Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* roem. (cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region. *J Agric Food Chem*, 51, 7489-7494.
17. Özbakiş-Dengiz G., Hekimoğlu A., Kandemir N., Kurcer Z., 2012. Effects of statins in an indomethacin-induced gastric injury model in rats. *Turk J Gastroenterol*, 23, 456-462.
18. Shigeta JI., Takahashi S., Okabe S., 1998. Role of cyclooxygenase-2 in the healing of gastric ulcers in rats. *JPET*, 286, 1383-1390.
19. Inas ZA., Hala AK., Gehan HH., 2011. Gastroprotective effect of *Cordia myxa* L. fruit extract against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. *Life Sci J*, 8, 433-445.
20. Shimizu N., Watanabe T., Arakawa T., Fujiwara Y., Higuchi K., Kuroki T., 2000. Pentoxifylline accelerates gastric ulcer healing in rats: Roles of tumor necrosis factor alpha and neutrophils during the early phase of ulcer healing. *Digest*, 61, 157-164.
21. Alkushi AGR., Elsayy NAM., 2017. Quercetin attenuates, indomethacin-induced acute gastric ulcer in rats. *Folia morphol*, 76, 252-261.
22. Langman MJ., Weil J., Wainwright P, Lawson DH., Rawlins MD., Logan RFA., Murphy M., Vessey MP., Colin-Jones DG., 1994. Risks of bleeding peptic ulcer associated with individual non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet*, 343, 1075-1078.
23. Su SC., Hua KF., Lee H., Chao LK., Tan SK., Lee H., Yang SF., Hsu HY., 2006. LTA and LPS mediated activation of protein kinases in the regulation of inflammatory cytokines expression in macrophages. *Clin Chim Acta*, 374, 106-115.
24. Appleyard CB., McCafferty DM., Tigley AW., Swain MG., Wallace JL., 1996. Tumor necrosis factor mediation of NSAID-induced gastric damage: Role of leukocyte adherence. *Am J Physiol*, 270, G42-G48.
25. Kurt H., Özbayer C., Değirmenci İ., Burukoğlu D., Saadat SM., Üstüner MC., Özdemir Köroğlu Z., Tuncel T., Güneş HV., 2016. İndomethazine bağlı oluşan gastrik mukozal hasar üzerine hypericum perforatum yağının koruyucu etkisi. *Bozok Tıp Derg*, 6, 62-68.
26. Lim HY., Joo HJ., Choi JH., Yi JW., Yang MS., Cho DY., Kim HS., Nam DK., Lee KB., Kim HC., 2000. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma. *CCR*, 6, 519-525.
27. Tucker ON., Dannenberg AJ., Yang EK., Zhang F., Teng L., Daly JM., Soslow RA., Masferrer JL, Woerner BM, Koki AT., Fahey TJ., 1999. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *CR*, 59, 987-990.

28. Zhang Y., 2013. Impact of esomeprazole on gastrointestinal hormones and inflammatory state of patients with gastric ulcer. J Clin Med Pract, 17, 68-70.
29. Boehme MW., Autschbach F., Ell C., Raeth U., 2007. Prevalence of silent gastric ulcer, erosions or severe acute gastritis in patients with type 2 diabetes mellitus - a cross-sectional study. Hepatogastroenterology, 54, 643-648.
30. Liyana-Pathirana CM., Shahidi F., Alasalvar C., 2006. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. Food Chem, 99, 121-128.
31. Karabegovic IT., Stojicevic SS., Velickovic DT., Nikolic NC., Lazic ML. 2013. Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. Sep Pur Tech, 120, 429-436.
32. Celep E., Aydın A., Yeşilada E., 2012. A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel, Food Chem Toxicol, 50, 3329-3335.
33. Orhan IE., Akkol EK., 2011. Estimation of neuroprotective effects of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) by in vitro methods, Food Res Int, 44, 818-822.
34. Orhan N., Damlaci T., Baykal T., Özek T., Aslan M., 2015. Hypoglycaemic effect of seed and fruit extracts of laurel cherry in different experimental models and chemical characterization of the seed extract. Rec Nat Prod, 9, 379.
35. Karahalil FY., Sahin H., 2011. Phenolic composition and antioxidant capacity of cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) sampled from Trabzon region, Turkey. Afr J Biotechnol, 10, 16293-16299.







## Cirit Atlarında İnfluenza A Virus Enfeksiyonunun Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması

Mehmet Özkan TİMURKAN<sup>1a</sup>✉, Hakan AYDIN<sup>1b</sup>

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.  
ORCID: 0000-0002-0458-7887<sup>a</sup>, 0000-0003-2200-1744<sup>b</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
09.07.2018	29.01.2019	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**  
**Timurkan MÖ, Aydın H:** Cirit Atlarında İnfluenza A Virus Enfeksiyonunun Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 71-77, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.441972

**Öz:** İnfluenza A virus (IAV) insan, at, kanatlı ve birçok memeli türünü enfekte eden, zoonotik karakterli ve oldukça bulaşıcı solunum sistemi patojenidir. Bu çalışmada, geleneksel cirit sporunun yaygın olarak yapıldığı Erzurum ilinde solunum sistemi hastalığı belirtileri gösteren atlarda influenza A virusun serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne getirilen 57 at çalışmaya dâhil edilmiştir. Herhangi bir aşı geçmişi olmayan atlara ait serum ve burun swap örneklerinde ELISA ve RT-PCR teknikleri kullanılarak influenza A virus enfeksiyonu araştırılmıştır. ELISA testi sonucunda atların %26.3'ü (15/57) seropozitif olarak belirlenmiştir. Erkek atların %29.8'inde (14/47) İnfluenza A virusa spesifik antikor varlığı belirlenirken, dişi atların %10'unda (1/10) pozitiflik tespit edilmiştir. Moleküler analizler sonucunda IAV'un RNA'sı bu çalışmada tespit edilmemiştir. Bu çalışma ile bölgemiz cirit atı popülasyonunda influenza A virus enfeksiyonu araştırılmış ve solunum sistemi problemleri atlarda virusa karşı oluşmuş antikorların varlığı serolojik olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak virusun bölgemizdeki cirit atlarında indirekt (antikor) olarak sirküle olduğu ortaya konulmuştur. Bu sporla uğraşan ve at yetiştiriciliği yapan işletmelerde enfeksiyonun var olabileceği belirlenmiştir. Cirit atlarında influenza virusun varlığının belirlendiği, belirlenen virusun tiplendirildiği ve bu hastalıktan korunma tedbirlerine yönelik daha kapsamlı çalışmaların yapılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Cirit atı, ELISA, Equine influenza virus, PCR.

## Investigation of Influenza A Virus Infection by Serological and Molecular Methods in Jereed Horses

**Abstract:** Influenza A virus (IAV) is a zoonotic and highly contagious pathogen of respiratory system infecting humans, horses, poultry and many mammals. In this study, it was aimed to investigate the influenza A virus by serological and molecular methods in horses with signs of respiratory system in province of Erzurum, where traditional jereed sport is widely held. For this purpose, 57 horses were admitted to Atatürk University Veterinary Faculty Animal Hospital were included in this study. IAV infection was investigated by using ELISA and RT-PCR techniques in serum and nasal swab samples of horses without any vaccine. As a result of ELISA test, 26.3% of the horses (15/57) were determined to be seropositive. Antibodies against IAV were detected in 14 (29.8%) of the male horses, whereas only 1 (10%) female horse had antibody. As a result of molecular analysis, the RNA of IAV was not detected in this study. In this study, we investigated the influenza A virus infection in the jereed horse population in our region and the presence of antibodies against virus in horses with respiratory system was determined serologically. As a result, it has been shown that the virus is circulated indirectly (antibody) in jereed horses in our region. The presence of infection in horse-breeding farms engaged in this sport was determined. It is recommended to perform more comprehensive studies on diagnosis and type identification of influenza virus and determination of the protection measures in jereed horses.

**Keywords:** Equine influenza virus, Jeered horses, ELISA, PCR.

## GİRİŞ

*Orthomyxoviridae* ailesinin bir üyesi olan influenza A virus (IAV); zarlı, segmentli ve negatif polariteli RNA genomuna sahiptir. Dünyada yaygın olarak gözlenen IAV enfeksiyonu, insan da dâhil olmak üzere birçok memeli ve kanatlı türünü enfekte edebilmektedir. İnfluenza virusun yüzeyinde taşıdığı hemagglutinin (HA) ve nöyraminidaz (NA) glikoproteinlerinin oluşturduğu antikor yanıtına göre, 18 farklı HA tipi (HA1-HA18) ve 11 farklı NA tipi (NA1-NA11) bildirilmiştir (1). Zoonotik bir viral etken olan IAV'un rezervuarı su kuşları ve göçmen kuşlardır. Göçmen kuşlarda şimdiye kadar 16 farklı HA ve 9 farklı NA tipi bildirilmiştir. Virusun türler arası bulaşmasında, konakçı çeşitliğinde, patogeneze ve immün yanıtta HA glikoproteini anahtar rol oynamaktadır. IAV, yeni bir konağı enfekte ettiğinde, RNA genomunda meydana gelebilecek mutasyonlar sonucu veya iki akraba virusun aynı konağı enfekte etmesi durumunda, viruslar arasında gerçekleşen reassortment sonucu, konakta farklı HA ve NA tipleriyle oluşan kombinasyonlara bağlı olarak yeni tipte virusa bağlı enfeksiyonlar/salgınlar gelişebilmektedir (2,3). Türkiye üç önemli kuş göç yolu üzerinde bulunmaktadır. Bunlardan biri Doğu Anadolu'da bulunan; Gürcistan üzerinden gelen kuşların Erzurum, Van ve Hakkâri illerinden geçip Irak'tan çıkış yaptığı doğu yoludur. Dolayısıyla Erzurum kuşlar için önemli bir göç yolu üzerindedir. Erzurum ilinde hastalığı taşıyan rezervuar olabilecek göçmen kuşlarla atların otlak ve meralarda bulunması ile virusun nakledilebilme ihtimali yüksektir (4).

IAV, atlarda ilk olarak 1956 yılında Çek Cumhuriyeti, Prag'da bildirilmiş olup, enfeksiyondan H7N7 tipi izole edilmiştir. Şimdilerde H7N7 tipinin pek gözlenmediği ve H3N8 alt tipinin dünyada yaygın olarak bulunduğu çalışmalarla bildirilmiştir. H3N8 tipi özellikle köpekler içinde önemlidir. Çünkü atlarda bulunan bu tip köpeklere de bulaşabilir. Özellikle at çiftliklerinin ve haralarının olduğu yerlerde köpeklerin de bulunması ayrıca insanların da iştiraki bu hastalık/transport üçgenini oluşturabilir ve türler

arası nakledilebilen çok virulent suşlar oluşabilir (5). İnfluenza A virus; solunum yollarındaki mukoza hücrelerini enfekte eder ve kuru öksürük ile birlikte vucutta ateşi tetikleyen bir tabloya yol açar. Çok bulaşıcı karakterde olan atların IAV enfeksiyonu büyük ölçüde koruma amaçlı yapılacak aşı ile kontrol altına alınabilmektedir. Ancak influenza virusların genel karakteri ile ilişkili olarak antijenik drift ve antijenik shift sonucu yeni varyantların ortaya çıkması aşığı etkisiz kılabilir (6,7).

Geçmiş yıllarda atların binek aracı olarak kullanılması, günümüzdeki motorlu araçların kullanımıyla eş değerdir. Günümüzde dünya genelinde spor amaçlı yetiştirilen atlar, ekonomik olarak kazanç sağlamaktadır. Çok bilinen bir durum olan yarış atları yanında, yöresel ve geleneksel olarak ülkemizde cirit sporunda da atlar kullanılmaktadır. (8, 9). Cirit sporu hız ve manevra yeteneği yüksek atlarla gerçekleştirilmektedir. IAV'un oldukça bulaşıcı olması ve hızlı yayılması cirit atları için önemli bir risk faktörüdür. Çünkü cirit sporunda atlardan beklenen hız ve ani manevra kabiliyeti dikkate alındığında, IAV enfeksiyonunun sebep olacağı klinik durum atlardan beklenen performansı olumsuz etkileyecektir. Türkiye'de at ve eşeklerde IAV enfeksiyonunun araştırıldığı çalışmalar sınırlı sayıdadır (10,11).

Bu çalışmada, Erzurum yöresinde bulunan cirit atlarında IAV'un varlığının serolojik ve moleküler yöntemler ile araştırılması planlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Örneklerin Toplanması

Bu çalışmada, Erzurum'da cirit atı yetiştiriciliği yapılan merkezlerden örneklenen ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hastanesine getirilen solunum sistemi problemlili (burun akıntısı, gözyaşı akıntısı, aksırık, tıksırık, öksürük ve ateş vb. semptomlar) 57 cirit atına ait kan serumu ve nasal swap örnekleri kullanıldı. Hayvan sahiplerinden çalışmaya alınan atlara daha önce influenza aşısının yapıp-yapılmadığı öğrenildi. Aşı yapılmamış atlar

çalışmaya dahil edildi. Toplam 57 cirit atının 10' u dişi, 47'si erkek ve yaş aralıkları da 1-14 (ortalama 5.3) idi. Solunum sistemi bulguları olan cirit atlarından vakumlu kan toplama tüplerine kan örnekleri alındı. Kan tüpleri 2,000× g'de 5 dk santrifüj edildikten sonra serum, steril ependorf tüplere aktarıldı. Yine aynı atlardan burun swap örnekleri steril pamuklu çubuklar aracılığıyla burun akıntılarından alındı ve 1 ml steril PBS ile karıştırıldı. Alınan karışım 2,000× g'de 5 dk santrifüj edildi. Ependorf tüplere aktarılan sürüntü ve serum örnekleri analiz edilinceye kadar -20°C derin dondurucuda muhafaza edildi.

Bu çalışma; 04.07.2018 tarih ve 2018/69 nolu karar sayısı ile Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakül-

tesi, Birim Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

#### Revers Transkriptaz - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

Cirit atlarından elde edilen burun sürüntülerinde nükleik asit izolasyonu amacıyla slika tabanlı RNA ekstraksiyon kiti (PureLink Genomic Mini Kit, Thermo-Fisher Scientific, Amerika) kullanıldı. RNA izolasyonu gerçekleştirilen örneklerin komplementer DNA (cDNA) sentezi, First Strand cDNA Synthesis kiti (Thermo Fisher Scientific, Amerika) yardımıyla gerçekleştirildi. PCR analizi, cDNA örnekleri kullanılarak IAV'a yönelik universal primerler (Tablo 1) ile gerçekleştirildi (1, 12, 13).

**Tablo 1.** IAV genom amplifikasyonunda kullanılan primerler sekansları.

**Table 1.** Sequences of primers used in IAV genome amplification.

Primer adı	Gen bölgesi	Primer dizilimi (5'-3')	Ürün büyüklüğü (bp)	Referans
HA-1134-F Bm-NS-890R	Hemagglutinin (universal)	GGAATGATHGAYGGNTGGTATGG ATATCGTCTCGTATTAGTAGA AACAAGGGTGTGTTT	640	(1, 12)
NA-7.1 F NA-7.1 R	Nöraminidaz (tip 7)	ATCAAAAATTATTCGCACTC GACCATCCACGCAAAG	522	(13)
NA-8.1 F NA-8.1 R:	Nöraminidaz (tip 8)	CCATTGGGTCAGTATCCTTAG CTCCGGTCTTTCCTGT	429	

#### ELISA

Serum örneklerinde IAV'a karşı oluşan antikor tespiti için Influenza A Ab multiple species test kiti (IDEXX Laboratories Inc., Amerika) kullanıldı. Serum örneklerinde Influenza A virusa karşı oluşmuş IgG varlığı araştırıldı. Aralıklı olmayan tek örnekleme ve tek sefer test ile sonuçlar belirlendi. Tek örnekleme yapıldığı için hayvanlarda serokonversiyon ve seroreversiyon izlenmedi. Oldukça korunaklı bir bölge olan IAV nükleoproteini içeren ELISA kiti virusun tüm alt-tiplerini tespit edebilecek duyarlılıktadır.

Üretici firma önerileri doğrultusunda uygulanan testin yapılışı kısaca; antijen kaplı pleyt, üzerine 10 kat sulandırılmış örnek-dilüent karışımı (135 µl) eklendi ve 60 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten

sonra 5 kez yıkama solüsyonuyla yıkandı. Ardından her kuyucuğa 100 µl konjugat eklendi ve 60 dk oda sıcaklığında bekleme sonrası yıkama basamakları ardından, 100 µl substrat eklenerek 15 dk oda ısısında tekrar inkübe edildi. Son olarak 100 µl stop solüsyonu eklenen kuyucuklar spektrofotometre altında 650 nm dalga boyunda referans değerinde okutularak "Cut off" (< 0.60) değerine göre her bir örnek için hesaplama yapıldı. Pozitif olarak belirlenen örnekler kaydedildi.

#### BULGULAR

Solunum sistemi belirtileri gösteren cirit atlarından elde edilen serum ve burun swap örnekleri IAV yönünden serolojik ve moleküler yöntemlerle araştırıldı. Test edilen atların %26.3'ünde (15/57) IAV spesifik antikor varlığı tespit edildi. Populasyonda

örneklenen %29.8'inde (14/47) IAV antikoru belirlenirken, dişi atların yalnızca %10'unda (1/10) antikor varlığı belirlendi. Yaşa göre pozitifliklere bakıldığında ise, 3-11 yaş arasında bulunan atların virusa karşı antikor taşıdığı tespit edildi. Cirit atlarından toplanan burun swap örneklerinde IAV nükleik asit varlığı RT-PCR ile araştırıldı. Toplam 57 burun swap örneğinin hiçbirinde IAV nükleik asiti (RNA'sı) tespit edilmedi.

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Atların IAV enfeksiyonu her ne kadar mortalitesi yüksek bir viral enfeksiyon olmasa da, özellikle sekonder bakteriyel patojenlerin dahil olmasıyla bu tür solunum sistemi hastalıklarının şiddeti artmaktadır. Bu durumun yol açacağı olumsuzluklar at endüstrisi için (koşu, yarış, binicilik, yetiştiricilik vb) ciddi öneme sahiptir (14). Türkiye'de halk elinde yetiştiriciliği yapılan at ve katır varlığı, doğu bölgelerinde daha yaygındır. Çünkü bu bölgelerde dağlık ve engebeli araziye sahiptir. Bundan dolayı bölgede kimi zaman taşımacılık, kimi zamanda ulaşım ve bazen de sportif amaçlı olarak bu hayvanlar yetiştirilmekte ve kullanılmaktadır. Çalışma popülasyonumuzun daha çok erkek atlardan oluşması cirit sporunda genelde erkek atların tercih edilmesinden kaynaklanmaktadır (8,9,15). Çünkü bu spor hız, manevra ve güce dayalı bir spordur ve erkek hayvanlar bu noktada daha iyi bir performans sergilemektedir. Cirit atı olarak dişi hayvanlar ise daha çok damızlık olarak kullanılmaktadır. Dolayısıyla performans gerektiren cirit sporunda çok fazla yer almamaktadırlar. Çalışmamızda antikor pozitifliği değerlendirildiğinde dişilerin yüzdesi erkeklere göre düşük bulundu. Bu durum rölatif olarak çalışmaya dahil edilen erkeklerin dişilerden fazla olmasıyla açıklanabilir.

Ülkemizde yapılmış atlarda IAV enfeksiyonunun araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri seroprevalans çalışması olup Türkiye'nin 5 farklı coğrafik bölgesinde durum değerlendirmesi yapılan bir çalışma (10) iken, diğeri Ankara'da tespit edilen bir IA virusun antijenik

analizinin ve tüm genomunun araştırıldığı bir çalışmadır (16).

Gahan ve ark. (16) ülkemizde yapmış olduğu moleküler nitelikteki bir çalışmada 2013 yılında yarış atlarında çıkan bir salgında enfeksiyona konu olan virusu (Ankara/1/2013) tespit ederek, virusun komple genom analizini yapmış ve H3N8 tipinde olan virusun Avrupa'da sirküle olan Florida clade 2'de bulunan FC2 suşuna yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda moleküler düzeyde virus tespiti yapılamadığından bu konuda benzerlik/farklılık ortaya konulamamıştır. Ataseven ve Daly (10)'nin yaptığı bir çalışma laboratuvar test yöntemi olarak ELISA'yı seçmemiz ve Doğu Anadolu bölgesindeki atları da incelediğinden benzer niteliktedir. Bu çalışmada ülkemizin beş farklı bölgesinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan at, eşek ve katırlarda toplam seroprevalans değeri %31.1 olarak tespit edilmiştir. İlgili çalışmada en yüksek prevalans değeri Marmara bölgesinde (%60.2) belirlenmiş ve bu durumu; bölgede safkan at yetiştiriciliğinin yüksek oranda yapıldığı ve ülkemize gelen atların ilk bu bölgeye ithalatından kaynaklanabileceğini ayrıca korunma amaçlı bölgede aşılamanın yüksek oranda yapıldığına dayandırmaktadır. Çalışmada ikinci yüksek oran olarak Doğu Anadolu bölgesi (%35.6) belirlenmiştir. Araştırmacı bu yüksek oranı; Doğu Anadolu'da yaşayan insanların uzak olan bölgeler için transportta atların kullanımını ve iklim olarak sert duruma sahip olan bölgede tek tırnaklı hayvanlar kullanımını vaz geçilmez bir hale getirdiğini savunmuştur. Aynı zamanda enfeksiyonun hala bölgede bilinmediğini ve komşumuz İran ile yasadışı sınır ötesi ticarete dahil olmak üzere tek tırnaklı hareketinin devam etmesine bağlamıştır. Çalışmanın yapıldığı diğer 3 bölgede ise düşük oranda pozitiflik çıkmasını; bu bölgelerde hayvanların yarış, ticaret veya taşımadan ziyade tek tük popülasyonlar halinde tutulmasına bağlamıştır. Çalışmamızda ise belirlenen %26.3'lük seroprevalans değeri Türkiye'de yapılan diğer çalışmaya (benzer bölge için) nispeten düşük olarak benzer oranlarda bulunmuştur. Bu durum cirit atlarının, halk elinde yük

taşımacılığı ve binek hayvanı olarak yetiştirilen atlara oranla bakım ve beslenme şartlarının daha iyi olması ancak soğuk bir iklime sahip olan Erzurum için toplu barındırma, yarışlarda bir araya getirilme ve aşılamanın olmaması gibi nedenlerle benzer çıkması ile açıklanabilir (17,18). Çalışma popülasyonumuzdaki prevalans bu durumla ilişkili bulunmuştur.

Dünya'da da İnfluenza A virusa yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar içerisinde hem serolojik hem de virolojik çalışmalar yer almaktadır. Prevalans çalışmaları, atlarda IAV'un Avrupa ve Amerika'da yaygın gözlenen viral solunum patojenleri arasında olduğunu ortaya koymuştur. Virusun doğasından kaynaklanan yüksek bulaşma ve hızlı saçılım yarış atı endüstrisi için önem arz etmektedir. Amerika'da 2010-2013 yılları arasında atların IAV enfeksiyonuna yönelik yapılan sörveyans çalışmasında %9.7 oranında pozitiflik tespit edilmiştir (19). Çin'de 2007 yılında çıkan IAV salgınında, %100 oranında morbidite ve %5 oranında mortalite ile ciddi ekonomik kayıp yaşanmıştır (20). At yetiştiriciliğinin yaşam tarzı haline geldiği Moğolistan'da solunum sistemi problemlili 680 atın dâhil edildiği prevalans çalışmasında %5 oranında beklenilenin çok altında seropozitiflik belirlenmiştir (14). Pakistan'da 2013 yılında yapılan bir çalışmada ise at, eşek ve katırlarda IAV enfeksiyonunun seroprevalansı %9 oranında tespit edilmiş, %11 oranıyla en yüksek prevalans atlarda tespit edilmiştir (21). Meksika'da sağlıklı görünümü 242 at üzerinde gerçekleştirilen seroprevalans çalışmasında %39 oranında seropozitiflik belirlenmiştir (22). Tüm bu çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde atlarda IAV enfeksiyonunun yaygın olduğu ve çeşitli ülkelerde farklı prevalanslarda seyrettiği anlaşılmaktadır.

Atlara spesifik olan H3N8 tipi son zamanlarda tür bariyerini aşarak köpeklere bulaşmıştır. Bu durumun köpek ve atların kırsal alanlarda yakın temasda olması nedeniyle gerçekleşen virus mutasyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir. Hastalığın kontrolünde köpek popülasyonundaki virus tiplerinin belirlenmesi önem arz etmektedir

(12,23). Ayrıca influenza virus konak seçimi noktasında da genellikle sınır tanımaz bir virustur. Nitekim kuşlar veya domuzlar için spesifik bir virus tipi mutasyonla insanda enfeksiyonlar oluşturur hale gelebilmekte ve zoonoz karakter kazanabilmektedir (24,25). Dolayısıyla atlara bir çiftlik hayvanından ziyade bir pet hayvanı gibi bakan, ilgilenen ve yakın temasta bulunan insanlar içinde bu hastalık risk teşkil etmektedir. Dolayısıyla bu tür enfeksiyonların yaygınlığı ve biyolojisinin araştırılarak eradikasyon çalışmalarının yapılması insan ve hayvanlarda temasının olabileceği yerlerde bu tür bulaşmaların önlenmesi ve yaşam kalitesinin artırılması için gereklidir (26-29).

Cirit sporu gibi çeşitli faaliyetler için farklı illerde müsabakalar gerçekleştirilmekte ve atların iller arası nakilleri yoluyla hastalıkların taşınması kolaylaşmaktadır (16,17). Sadece IAV değil diğer viral ve bakteriyel enfeksiyonların yaygınlığı bu şekilde artış göstermektedir. Bu anlamda, enfeksiyonun kontrol/eradikasyonu önem taşımaktadır. Özellikle enfeksiyonun kontrolünde aşılama, hijyen ve hayvanların bakım, besleme koşullarının iyileştirilmesi önerilmektedir. Ayrıca kuş göç yolları üzerinde bulunan Erzurum ili için atların özellikle aynı otlak ve meralarda bulunma ve beslenme dönemlerinde dikkatli olunması gerekmektedir. Göçler sırasında virus aktarımı türler arasında olabilmekte ve reassortment mutasyonları da şekillenebilmektedir (4). Bu yüzden kuş-at birlikteliği olabilecek alanlarda ve bölgelerde sürekli moleküler epidemiyolojik çalışmaların yapılması önemlidir. Bu çalışmada virus tayini ve tiplendirmesi yapılamamıştır. Ancak ileride her iki türde içine alacak şekilde moleküler epidemiyolojik çalışmalar yapılarak virus tipinin ve at-kuş birlikteliğinin incelendiği çalışmaların gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak, Erzurum yöresinde geleneksel spor olarak yapılan cirit oyununda kullanılan atlarda serolojik ve moleküler yöntemlerle İnfluenza A virusun araştırılması yapılmıştır. Çalışmamızda virusun seroprevalansı kısmen yüksek bulunmuştur ve bu durumun olası nedenleri olarak; iklim, coğrafik

konum, bakım-beslenme koşulları, aşı durumları ve transport olarak irdelenmiştir. Ancak moleküler olarak virusun varlığı belirlenmemiştir. Ülkemizde ilgili virusa yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır ve yerel at ve eşek popülasyonlarında benzer bir serolojik çalışmalar bulunmaktadır, ancak bu çalışma ile ilk kez cirit atlarında seroprevalans araştırılmıştır. Daha sonra yapılacak çalışmalarda daha geniş bölgelerde ve yetiştirme yönüyle spesifik popülasyonlarda IAV'un kapsamlı olarak serolojik ve virolojik olarak araştırılması, tespit edilebilirse virusun varlığı ve tiplendirmesi, bölgede sadece atlarda değil kuş-köpek-at-insan dörtgeninde türler arası geçişler ve zoonotik potansiyel yönünden incelenmesi ve ekonomik değeri yüksek olan bu atlarda gerekli korunma ve kontrol önlemlerinin belirlenmesi yönünden önem arz etmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Hoffmann E., Stech J., Guan Y., Webster R., Perez D. 2001. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch of Virol*, 146, 2275-2289.
- Nao N., Yamagishi J., Miyamoto H., Igarashi M., Manzoor R., Ohnuma A., Tsuda Y., Furuyama W., Shigeno A., Kajihara M., Kishida N., Yoshida R., Takada A., 2017. Genetic predisposition to acquire a polybasic cleavage site for highly pathogenic avian influenza virus hemagglutinin. *MBio*, 8, e02298-16.
- Kraidı Q., Langeroudı A., Madadgar O., Karimi V., 2017. Prevalence of aiv subtype H9 among poultry with respiratory signs in iraq. *Bulgarian J Vet Med*, 20, 367-376.
- Ayas Z., 2007. Göçmen kuşlar ve kuş gribi. *Flora*, 12, 5-13.
- Feng KH., Gonzalez G., Deng LQ., Yu H., Tse VL., Huang L., Huang K., Wasik BR., Zhou B., Wentworth DE., Holmes EC., Chen X., Varki A., Murcia PR., Parrish CR., 2015. Equine and canine influenza H3N8 viruses show minimal biological differences despite phylogenetic divergence. *J Virol*, 89, 6860-6873.
- Pusterla N., Higgins J., 2017. Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics. 151-152. John Wiley & Sons, Inc, USA.
- Quinlivan M., Zamarin D., Garcia-Sastre A., Cullinane A., Chambers T., Palese P., 2005. Attenuation of equine influenza viruses through truncations of the NS1 protein. *J Virol*, 79, 8431-8439.
- Karcioğlu U., 2017. Türk kültüründe atın önemi ve ata sporlarımızdan atlı cirit oyunu. *Anasay*, 1, 167-198.
- Yıldırım F., Yıldız A., 2013. Javelin (Jereed) horses: a questionnaire study. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 8, 35-41.
- Ataseven VS., Daly JM., 2007. Seroepidemiology of equine influenza virus infection in Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 31, 198-202.
- Ataseven VS., 2009. Atların influenza virus enfeksiyonu (At gribi). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 304-312.
- Aydın H., Timurkan MO., Aktas MS., Acar-Kirmizi G., Aydın O., 2018. Serological evidence of canine influenza virus infection in shelter dogs in Turkey. *Med Weter*, 74, 791-794.
- Chander Y., Jindal N., Stallknecht DE., Sreevatsan S., Goyal SM., 2010. Full length sequencing of all nine subtypes of the neuraminidase gene of influenza A viruses using subtype specific primer sets. *J Virol Methods*, 165, 116-120.
- Sack A., Daramragchaa U., Chuluunbaatar M., Gonchigoo B., Bazartseren B., Tsogbadrakh N., Gray GC, 2017. Low prevalence of enzootic equine influenza virus among horses in mongolia. *Pathogens*, 6, e61.
- Güven E., Avcioglu H., Deniz A., Balkaya İ., Abay U., Yavuz Ş., Akyüz M., 2017. Prevalence and molecular characterization of Theileria equi and Babesia caballi in jereed horses in Erzurum, Turkey. *Acta Parasitol*, 62, 207-213.
- Gahan J., Garvey M., Gildea S., Gür E., Kagankaya A., Cullinane A., 2018. Whole-genome sequencing and antigenic analysis of the first equine influenza virus identified in Turkey. *Influenza Other Respir*

- Viruses, 12, 374-382.
17. Köseman A., Şeker İ., 2016. Atçılık İşletmelerinde Biyogüvenlik ve Önemi. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araş Derg, 5, 33-39.
  18. Yılmaz O., Wilson RT., 2013. The domestic livestock resources of Turkey: occurrence and control of diseases of horses, donkeys and mules. J Equine Vet Sci, 33, 1021-1230.
  19. Pusterla N., Kass P., Mapes S., Akana N., Vaala W., Barnett D., MacKenzie C., 2016. Surveillance program for Equine Influenza Virus in the United States (2010-2013). J Equine Vet Sci, 39, S3.
  20. Yin X., Lu G., Guo W., Qi T., Ma J., Zhu C., Zhao S., Pan J., Xiang W., 2014. Identification of equine influenza virus infection in Asian wild horses (*Equus przewalskii*). Arch Virol, 159, 1159-1162.
  21. Sajid M., Khan MA., Anjum MA., Mushtaq MH., 2013. Investigation of equine influenza virus in two geographical regions of Pakistan. Trop Anim Health Prod, 45, 693-694.
  22. Blitvich BJ., Ibarra-Juarez LA., Cortes-Guzman AJ., Root JJ., Franklin AB., Sullivan H., Fernandez-Salas I., 2010. Seroprevalence of equine influenza virus in northeast and southern Mexico. Vet Rec, 166, 565-567.
  23. Murcia PR., Baillie GJ., Daly J., Elton D., Jervis C., Mumford JA., Newton R., Parrish CR., Hoelzer K., Dougan G., Parkhill J., Lennard N., Ormond D., Moule S., Whitwham A., McCauley JW., McKinley TJ., Holmes EC., Grenfell BT., Wood JL., 2010. Intra-and interhost evolutionary dynamics of equine influenza virus. J Virol, 84, 6943-6954.
  24. Yoo SJ., Kwon T., Lyoo YS., 2018. Challenges of influenza A viruses in humans and animals and current animal vaccines as an effective control measure. Clin Exp Vaccine Res, 7, 1-15.
  25. Ozawa M., Kawaoka Y., 2013. Cross talk between animal and human influenza viruses. Annu Rev Anim Biosci, 1, 21-42.
  26. Aydın H., Timurkan MO., 2018. A pilot study on feline astrovirus and feline panleukopenia virus in shelter cats in Erzurum, Turkey. Revue de Med Vet, 169, 52-57.
  27. Aydın H., Uyanik MH., Karamese M., Timurkan MO., 2016. Seroprevalence of hepatitis e virus in animal workers in nonporcine consumption region of Turkey. Future Virol, 11, 691-697.
  28. Timurkan MO., Aydın H., Alkan F., 2018. Detection and molecular characterization of canine adenovirus type 2 (CAV-2) in dogs with respiratory tract symptoms in shelters in Turkey. Vet Arhiv, 88, 467-479.
  29. Timurkan MÖ., Aydın H., Aktas O., 2017. Frequency and molecular characterization of human norovirus in Erzurum, Turkey. Turk J Med Sci, 47, 960-966.







## Türkiye’de Yetiştirilen Kasaplık İsviçre Esmeri ve Simental Irkı Sığırlarda *Myosin Heavy Chain 8 (MyH8)* Gen Ekspresyon Düzeyi ile Canlı Ağırlığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması\*

Korhan ARSLAN<sup>1a</sup>✉, Fadime DALDABAN<sup>1b</sup>, Aytaç AKÇAY<sup>2c</sup>, Bilal AKYÜZ<sup>1d</sup>

1. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

2. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyometri Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-2440-884X<sup>a</sup>, 0000-0001-5795-8859<sup>b</sup>, 0000-0001-6263-5181<sup>c</sup>, 0000-0001-7548-9830<sup>d</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.03.2018	24.02.2019	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Arslan K, Daldaban F, Akçay A, Akyüz B:** Türkiye’de Yetiştirilen Kasaplık İsviçre Esmeri ve Simental Irkı Sığırlarda *Myosin Heavy Chain 8 (MyH8)* Gen Ekspresyon Düzeyi ile Canlı Ağırlığı Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 78-84, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.406053

**Öz:** Bu çalışmada, Simental ve İsviçre Esmeri sığırlarda karaciğer ve kas dokusu *MyH8* gen ekspresyonu ile canlı ağırlık ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada Simental (n=40) ve İsviçre Esmeri (n=40) erkek sığırlar kullanılmıştır. Kesimden önce canlı ağırlık ölçümleri yapılmış, kas ve karaciğer dokusu alınarak sıvı azotta dondurulmuştur. Sırası ile dokulardan Trizol ile RNA izolasyonu, RNA’lardan c-DNA sentezi ve SYBR Green yöntemi ile ekspresyon analizi yapılmıştır. Canlı ağırlıklar ile kas ve karaciğerde *MyH8* gen ekspresyonu arasında önemli bir korrelasyon bulunmamıştır (P>0.05). Simental ve İsviçre Esmeri arasında kas *MyH8* gen ekspresyonu bakımından farklılık bulunmamıştır (P>0.05). Ancak karaciğer *MyH8* gen ekspresyonu iki ırktada önemli bulunmuştur (P<0.001). İsviçre Esmeri karaciğer *MyH8* ekspresyonu Simentale göre yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak, çalışmada elde edilen veriler Simental ve İsviçre Esmeri *MyH8* geni ekspresyonu ile canlı ağırlığı arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığını ancak *MyH8* geninin bu ırklarda farklı ekspresyon profili taşıma potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Canlı Ağırlık, Gen Ekspresyonu, *MyH8* gen, Sığır.

## The Relationship of *Myosin Heavy Chain 8 (MyH8)* Gene Expression Profile of Live Weight in Slaughtered the Simmental and Brown Swiss Cattle Breeds which Reared in Turkey

**Abstract:** The aim of this study was to investigate, the relationship between of *MyH8* gene expression profile of the liver and muscle tissue with the live weight, in the Simmental and Brown Swiss cattle. Simental (n = 40) and Brown Swiss (n = 40) male cattle were used in this study. Before slaughter, live weight measurements, muscle and liver tissue were taken and tissues were frozen in liquid nitrogen. It was made respectively RNA isolation by Trizol from tissue, c-DNA synthesis from RNAs and expression analysis by SYBR Green method. There was no significant correlation between live weights and *MyH8* gene expression in muscle and liver (P>0.05). There was no significant difference in muscle *MyH8* gene expression between Simmental and Brown Swiss (P>0.05). However, the difference in *MyH8* gene expression in the liver was significant for two breeds (P<0.001). *MyH8* gene expression level in Brown Swiss liver was significantly higher than the Simmental. As a result, the data obtained from study indicate that there is no significant relationship between the expression level of the *MyH8* gene and live weight in the Simmental and Brown Swiss, but the *MyH8* gene has the potential to carry a different expression profile in these breeds.

**Keywords:** Cattle, Gene Expression, Live Weight, *MyH8* gene.

✉ Korhan Arslan

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.

e-posta: korhanarslan@erciyes.edu.tr

\*Yapılan çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından TYL-2014-5115 kodlu proje ile desteklenmiştir.

## GİRİŞ

**K**ırmızı et dünyada, yapısında bulunan protein, mineral, aminoasit ve özellikle B vitamini açısından beslenmede hayvansal ürün sıralamasında önemli hayvansal kaynaklı ürünlerden biri olarak kabul edilmektedir (1-3). Tüm Dünya’da kırmızı et ihtiyacı başta sığır ve domuz olmak üzere koyun, keçi ve manda gibi çiftlik hayvanlarından karşılanmaktadır. Et, insan beslenmesindeki önemi yanında ülkemiz beslenme kültür yapısı açısından da ayrı bir önem taşımaktadır (4). Türkiye’de ise kırmızı et ihtiyacının büyük bir kısmı sığırdan karşılanmaktadır. TÜİK verilerine göre, ülkemizde toplam kırmızı et üretimi Kurban Bayramının gerçekleştiği III. çeyrekte bir önceki çeyreğe göre %27.4, bir önceki yılın aynı çeyreğine göre %0.4 oranında artmıştır. Toplam kırmızı et üretimi içinde sadece kesimhanelerde üretilen kırmızı et miktarı ise 145 bin 173 ton olarak gerçekleşirken, sığır eti üretimi bir önceki çeyreğe göre %30, bir önceki yılın aynı çeyreğine göre %5.6 oranında artmıştır (5). Buna rağmen ülkemizde sürekli bir kırmızı et açığı bulunmaktadır. Bunda en önemli faktörlerden birinin Türkiye’de besi sonu birim hayvan başına elde edilen karkas ağırlığının düşük olması olduğu söylenebilir. Çünkü Türkiye’de ortalama sığır karkas ağırlığı 216 kg/baş iken bu rakam AB ülkelerinde 283 kg/baş, ABD’de ise 341 kg/baş’tır (6). Bu nedenle eldeki sığır varlığında, hayvan başına karkas ağırlığının artırılması için ıslah çalışmalarının yapılması gerekmektedir. Diğer taraftan süt/yem paritesinin düşük seyretmesi, süt fiyatındaki dalgalanmalar ve artan kırmızı et talebinin büyük ölçüde sığırlardan karşılanması Türkiye’de yetiştiricileri Simental (SIM) ve İsviçre Esmeri (İE) gibi kombine verimli sığır ırklarını yetiştirmeye yönelmektedir (7).

Ekonomik olarak yavruların verim yönlerinin erken dönemde tespit edilme ihtiyacı klasik ıslah yöntemlerinin yanında moleküler ıslah yöntemlerinin üretim programları içindeki önemini gün geçtikçe arttırmaktadır (8,9). Bu bağlamda son yıllarda çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde et, süt ve döl verimi,

hastalıklara direnç gibi ekonomik açıdan önemli olan özelliklerle ilişkili olan genler yönünden damızlık adaylarında genotip analizinde kullanılan özgün moleküler yöntemlerin geliştirilmesi, araştırmacıların önemli hedeflerinden biri haline gelmiştir (10,11). Moleküler tekniklerin gelişmesi ile DNA da bulunan genetik bilginin aminoaside aktarımının yapıldığı mekanizma olan, transkripsiyon basamağının incelenmesine imkân veren fonksiyonel genomik (RNA ekspresyon) çalışmaları çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde etkili bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir (12). Genlerin, farklı dokulardaki ifade güçlerinin analizi temeline dayanan ekspresyon yöntemi Dünyada önemli bir moleküler ıslah yöntemi olarak kabul edilmektedir (13).

*Miyozin (MyH)* proteini, iskelet kası hücrelerinin kasılmasında görev alan sarkomerleri oluşturan kalın filamentlerinin en önemli yapı taşı olup, birbirine eşit iki ağır zincir (*Myosin Heavy Chain, MyHC*) ve birbirine eşit olmayan dört hafif zincirden (*Myosin Light Chain, MLC*) oluşmaktadır (14). Lif tipi ve kompozisyonu ile ilişkili olan kasın kontraksiyon hızı ve gücü açısından miyozinin ağır zincirleri çok önemlidir (14,15). Miyozin ağır zincir izoformları kas lifi türünün belirteci olarak düşünülmektedir (16). Kasların yapısal proteini olması açısından memeli kas oluşumunda önemli rolü olan *MyHC* geninin memelilerde belirlenmiş olan izomerleri mevcuttur (17). Bunlardan ikisinin gelişimsel izoformlar olduğu (embriyonik ve yeni doğan döneminde aktif olduğu), dördünün ise erişkin izoformları (birinin kalp kası izoformu, ikisinin ise göz kası ve çiğneme kasına özgü) olduğu bildirilmiştir (16). Sığır kaslarında *Miyozin ağır zincir 1, 2, 3, 4, 7 ve 8 (MyH1, MyH2, MyH3, MyH4, MyH7 ve MyH8)* gibi bir dizi izoformu belirlenmiş ve incelenmiştir (15,16). Perinatal izoform olarak adlandırılan (18) *MyH8* proteini sığırlarda, 5934 bç uzunluğunda ve sığır karyotipinin 19. kromozomunda bulunan bir gen tarafından kodlanmaktadır (19).

Miyozinin *MyH8* izoformu, kalp ve iskelet kası gelişiminde önemli rolü bulunan bir proteindir (19).

*MyH8* geninin doğum sonrası iskelet kaslarındaki ekspresyon düzeyinin arttığı bildirilmektedir (20). Ayrıca bu izoformu kodlayan genin lipid metabolizması ile ilgili enzimlerin ekspresyonun da etkili olabileceği bildirilmiştir (13,21). Bu durumda, *MyH8*'i kodlayan genin çiftlik hayvanlarında hem et kalitesi hem de et verimi ile ilgili çalışmalarda kullanılabileceği düşünülmektedir. Karaciğer, beyinden sonra en fazla genin eksprese olduğu ve birçok farklı metabolizmaya katılan bir doku olması (22,23) nedeniyle, *MyH8* ekspresyon düzeyinin incelendiği bu çalışmada seçilmiştir.

Yapılan literatür taraması sonucunda ülkemizde yetiştirilen SIM ve İE ırkı sığırlarda *MyHC* izoformu olan *MyH8* genin ekspresyon profilini ortaya koyan bir araştırmaya rastlanamamıştır. Yapılan çalışmada kasların yapısal bileşeni olan *MyHC* gen ailesinin bir izoformu olan *MyH8* geni, Simental (SIM) ve İsviçre Esmeri (İE) ırkı sığırlarda *musculus longissimus dorsi* (MLD) kası ve önemli bir metabolizma organı olan karaciğer (KRC) dokusunda ekspresyon profili ve canlı ağırlık ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

#### MATERYAL ve METOT

Yapılan çalışma için gerekli etik kurul izni Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 15.01.2014 tarih ve 14/104 karar numarası ile alınmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini 40 baş SIM ve 40 baş İE ırkı erkek sığır oluşturmuştur. Hayvanlar kesime girmeden önce canlı ağırlık tartımları yapılarak kaydedilmiştir. RNA izolasyonu için incelenecek hayvanlara ait MLD ve KRC örnekleri, kesim günü pens ve bisturi yardımıyla taze olarak kriyoviyal tüpler içerisine alınarak sıvı azotta dondurulmuş ve laboratuara getirilmiştir. RNA izolasyonu yapılan kadar doku örnekleri – 80°C’ de muhafaza edilmiştir.

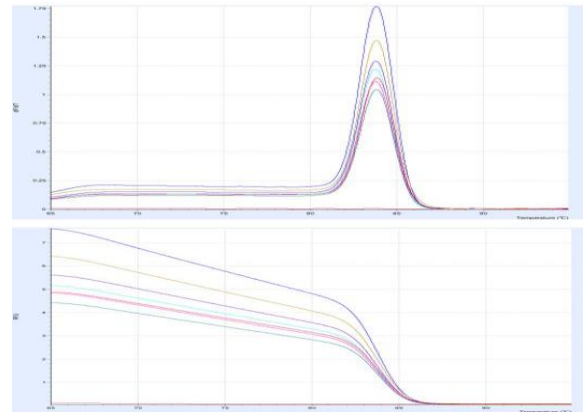
MLD ve KRC örneklerinden Trizol (Cat. No. 11 667 165 001 Roche, İsviçre) ile RNA izolasyonu yapılmıştır. İzole edilen RNA örneklerine ait konsantrasyon ölçümleri Synergy H1Hybrid Multi-Mode Microplate Reader cihazında belirlenmiştir. İzole edilen RNA’lardan c-DNA sentezi, Transcriptor

First Strand c-DNA sentez kiti (Roche Ltd., Mannheim, Germany) ile yapılmıştır. Elde edilen c-DNA’lar ¼ oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Yapılan Real-Time PCR işlemi Light Cycler Nano (Roche Ltd., Mannheim, Germany) cihazında, FastStart SYBR Green Master Mix (Roche Ltd., Mannheim, Germany) kiti kullanılarak her iki dokudan ve her bir örnek için çift tekrarlı olarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan primer dizileri Tablo 1 de verilmiştir.

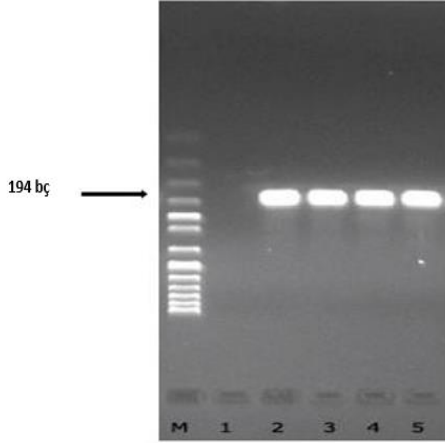
**Tablo 1.** MyH8 ve GAPDH geni primer sekansları.  
**Table 1.** MyH8 and GAPDH gene primary sequences.

Gen Adı	Primer Dizisi (5'-3')
<i>GAPDH</i>	F; ATCATCTCTGCACCTTCTGCCGAT R; TAAGTCCCTCCACGATGCCAAAGT
<i>MyH8</i>	F; GGCACCGTGGACTACAACAT R; GAGCCCTTCTTCTAGCACC

Real-Time PCR cihazı ile örnekler: 95°C’de 10 dakika; 95°C’de 10 saniye, 60°C’de 10 saniye, 72 °C’de 10 saniye ve 45 döngü, 95°C’de 30 saniye inkübe edilmiştir, erime ısı ise; 65°C ve 95°C arasındaki sıcaklıklarda, ısı miktarı saniyede 0.1 °C artırılarak ve bu süre içerisinde zamana bağlı olarak oluşan floresan miktarının erime eğrisi analizi yapılmıştır (Şekil 1). Elde edilen Real Time PCR ürünleri jel elektroforezinde görüntülenmiştir (Şekil 2).



**Şekil 1.** Eşik Döngü (Ct) ve Erime Eğrisi grafiği.  
**Figure 1.** Threshold Cycle (Ct) and Melting Curve graphic.



**Şekil 2.** *MyH8* geni Real-Time PCR agaroz jel görüntüsü (M: 50 bç Ladder, 1: Negatif Kontrol, 2-5: Çalışma örnekleri).

**Figure 2.** *MyH8* gene Real-Time PCR agarose gel image (M: 50 bp Ladder, 1: Negative Control, 2-5: Samples).

Çalışmada housekeeping gen olarak *GAPDH* geni kullanılmış ve *MyH8* genine ait veriler *GAPDH* geni ile normalize edilmiştir. Normalize edilen verilere  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  formülü uygulanmış ve veriler istatistiksel olarak analize hazır hale getirilmiştir (24).

### İstatistiksel Analiz

MLD ve KRC dokularındaki *MyH8* gen ekspresyon değerleri arasındaki farklılığın önem kontrolü Student T testi, ekspresyon değerleri ile canlı ağırlık değerleri arasındaki ilişki Pearson Korelasyon katsayısı ile test edilmiştir. İstatistik analizlerde SPSS 14.01 paket programı kullanılmıştır.

### BULGULAR

Kesim öncesi incelenecek ırklara ait sığırlar tartılmış ve ırklara ait ortalama canlı ağırlıklar, her ırkın en düşük ve en yüksek canlı ağırlıkları belirlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 2.** Simental (SIM) ve İsviçre Esmeri (İE) ırkı sığırlara ait canlı ağırlık değerleri.

**Table 2.** Live weight values of Simental (SIM) and Brown Swiss (İE) cattle breeds.

İrk	N	Canlı Ağırlıkları		
		$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Min	Maks
SİM	40	354.5± 7.1	278	505
İE	40	263.8± 3.2	220	310

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ : Ortalama ± Standart Hata

MLD, *MyH8* geni ekspresyon değerleri yönünden SIM ve İE ırkı sığırlarda ekspresyon düzeyleri arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ( $P>0.05$ ) (Tablo 3). Ancak karaciğer örneklerinde *MyH8* geni ekspresyon değerleri arasındaki fark ırklar arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.001$ ) (Tablo 3).

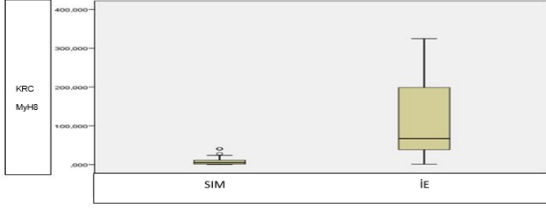
**Tablo 3.** Simental (SIM) ve İsviçre Esmeri (İE) ırkı sığırlarda Musculus longissimus dorsi (MDL) ve Karaciğer (KRC) dokularında *MyH8* geni ekspresyon değerleri.

**Table 3.** *MyH8* gene expression values in musculus longissimus dorsi (MDL) and liver (KRC) tissues in Simental (SIM) and Brown Swiss (İE) cattle.

Doku	İrk	N	Ekspresyon düzeyi		
			$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	Min	Maks
MLD	SİM	40	1.97± 0.35	0.06	8.49
	İE	40	1.14± 0.17	0.01	4.13
İstatistik önem kontrolü (Student t test)					$P>0.05$
KRC	SİM	40	10.47± 2.29	0.01	55.45
	İE	40	109.83± 14.26	1.00	324.71
İstatistik önem kontrolü (Student t test)					$P<0.001$

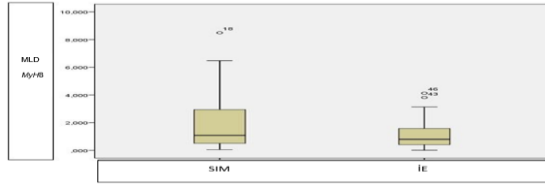
$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ : Ortalama ± Standart Hata

SİM ve İE ırklarındaki *MLD*, *MyH8* gen ekspresyon düzeyleri birbirlerine yakın bulunmuştur (Şekil 3). Karaciğer dokusunda *MyH8* gen ekspresyon düzeyi ise İE ırkında SİM ırkına göre yüksek bulunmuştur (Şekil 4).



**Şekil 3.** Simental (SİM) ve İsviçre Esmeri (İE) *MyH8* geni musculus longissimus dorsi (MDL) ekspresyon seviyeleri.

**Figure 3.** Simental (SİM) and Brown Swiss (İE) *MyH8* gene musculus longissimus dorsi (MDL) expression levels.



**Şekil 4.** Simental (SİM) ve İsviçre Esmeri (İE) *MyH8* geni Karaciğer (KRC) ekspresyon seviyeleri.

**Figure 4.** Simental (SİM) and Brown Swiss (İE) *MyH8* gene liver (KRC) expression levels.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çiftlik hayvanlarında önemli verim özellikleri ile ilgili biyolojik mekanizmaların anlaşılması ve bu mekanizmalarda görevli genlerin belirlenmesi, çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde moleküler ıslah olarak adlandırılan yeni bir alan ortaya çıkarmıştır. Günümüz çiftlik hayvanları yetiştiriciliğinde, ekonomik değeri olan verim özellikleri ve bunlarla ilgili olduğu öngörülen gen ve gen aileleri kullanılarak yapılacak ıslah çalışmaları önemli bir çalışma alanı olmuştur (11).

Kas lifleri etin sert ve yumuşak olmasına sebep olarak, etin kalitesinin önemli özellikleri olan yumuşaklık olarak tanımlanan “tenderness” ve “kesme kuvveti (shear force)” üzerine etki eden en temel unsurdur (20). Etin sertliği kas hücrelerinde

*MLD* ve KRC dokularında, *MyH8* geni ekspresyon değerleri ile kesim öncesi canlı ağırlık değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korrelasyon bulunamamıştır ( $P>0.05$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Simental (SİM) ve İsviçre Esmeri (İE) ırkı sığırlarda Musculus longissimus dorsi (MDL) ve Karaciğer (KRC) dokularında *MyH8* geni ekspresyon değerleri ile canlı ağırlık değerleri ilişkisi.

**Table 4.** Simental (SİM) and Brown Swiss (İE) musculus longissimus dorsi (MDL) and liver (KRC) *MyH8* gene expression values and their relationship with live weight values.

İrk		MLD <i>MyH8</i>	KRC <i>MyH8</i>
SİM	Canlı Ağırlık	0.107	-0.048
	MLD <i>MyH8</i>	1	-0.079
	KRC <i>MyH8</i>		1
İE	Canlı Ağırlık	0.046	-0.316
	MLD <i>MyH8</i>	1	0.213
	KRC <i>MyH8</i>		1

sarkomer uzunluğu, bağ doku içeriği ve kaslarda bulunan yapısal proteinlerin hidrolize duyarlılığı gibi çeşitli etkenlerden etkilenir (25). Bu nedenle sarkomeri oluşturan en önemli protein olan miyozin proteinlerini kodlayan *MyHC* geninin izoformları ile et kalitesi arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (26). Etin yumuşaklığı ile kas lifleri arasında ilişki olmasına rağmen, miyozin ağır zinciri ve etin kalitesi arasındaki pozitif ilişki henüz kesin olarak ortaya konamamıştır (27). Buna rağmen bu konuyla ilgili çalışmalar artarak devam etmektedir.

Bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen etçi-sütçü kombine verimli bir ırk olan SİM ırkı ile sütçü-etçi kombine verimli bir ırk olan İE sığır ırklarında kas hücrelerinin gelişmesinde ve işlevinde önemli rolü olan *MyH8* gen ekspresyon düzeyinin ırklar arasında ve kesim ağırlıklar arasında farklılık gösterip

göstermediğinin araştırılması amaçlanmıştır. Ancak çalışma sonunda ırklar arasında incelenen kas örneklerinde *MyH8* gen ekspresyon düzeyleri arasında bir fark bulunamamıştır. Bunun *MyH8* gen ekspresyon düzeyine ırkın etki etmediği, buna karşılık çalışmalarında ortaya konduğu gibi cinsiyet (20) ve yumuşaklık ile kesme kuvveti (13) gibi et kalite özellikleri ile ilişkili olabileceği, bu nedenle et kalite özellikleri yönünden ayrılan gruplarda *MyH8* gen ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılarak, özellikle yerli sığır ırklarımızda et kalite özelliklerinin artırılmasında *MyH8* geninin kullanılma olanaklarının araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Çalışma planlanırken, kas hücrelerinin gelişmesinde ve işlevinde önemli rolü olan *MyH8* gen ekspresyon düzeyi ile SIM ve İE ırkı sığırların kesim ağırlıkları arasında bir ilişki olabileceği düşünülmüştür. Ancak çalışma sonunda *MyH8* gen ekspresyon düzeyi ile kesim ağırlıkları arasında ilişki olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte *MyH8* geninin fetal ve yeni doğan döneminde aktif olması (16,22) ve çalışmada kesim olgunluğuna ulaşmış erkek hayvanlar kullanılmış olması nedeniyle ırklar ve canlı ağırlıklar ile MLD kasındaki ekspresyon düzeyi arasında ilişki bulunmadığı düşünülmüştür.

İncelenen doku örneklerinden MLD dokusunda ırklar arasında bir fark bulunmamışken, KRC örneklerinde *MyH8* ekspresyon düzeyinin İE ırkında SIM ırkından yüksek olduğu görülmüştür. Bununla birlikte ırklar arası et kalite özellikleri ile ilişkili olabileceğinden düşünülmüştür. Diğer taraftan, *MyH8* proteini kas liflerinin oluşumundaki görevi yanında ATP'nin hidrolizi ile kimyasal enerjinin fiziksel enerjiye çevrilmesinde görev alır (18). Bu nedenle KRC dokusundaki *MyH8* ekspresyon düzeyinin İE ırkında SIM ırkından yüksek olmasının, ırklar arasında karaciğerdeki metabolik aktivite farklılığından da kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, sunulan çalışmada elde edilen veriler, SIM ve İE ırklarında *MyH8* geninin ekspresyon düzeyi ile kesim ağırlığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkinin olmadığını ancak *MyH8* geninin bu

iki ırk da farklı ekspresyon profili taşıma potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen sonuç ırklar arasında genetik farklılıkların ortaya konması hedefli çalışmalarda *MyH8* geninin ekspresyon profilinin genetik bir markır olarak kullanılabilme potansiyeli taşıyabileceğini düşündürmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Williams P., 2007. Nutritional composition of red meat. *Nutr Diet*, 64, 113-119.
2. Roberts A., 2018. Genome-wide association study for carcass traits in a composite beef cattle breed. *Livest Sci*, 213, 35-43.
3. Wood JD., Enser M., Fisher A., Nute GR., Richardson RI., Sheard PR., 1999. Manipulating meat quality and composition. *Proc Nutr Soc*, 58, 363-370.
4. Saygın Ö., Demirbaş N., 2017. Türkiye’de kırmızı et sektörünün mevcut durumu ve çözüm önerileri. *Hayvansal Üretim* 58, 74-80.
5. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), 2018. Kırmızı et üretim istatistiği.
6. Sarıözkan S., Akçay A., Bayram D., 2013. Zavot ırkı sığırlarda karkas özellikleri ve karkas parçalamanın ekonomik yönü. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 60, 257-262.
7. Koç A., 2017. Siyah Alaca, Kırmızı Alaca ve Simental ırkı sığırların sürü ömrü üzerine bir araştırma. *ADÜ Ziraat Derg*, 14, 63-68.
8. Jonas E., Koning DJD., 2015. Genomic selection needs to be carefully assessed to meet specific requirements in livestock breeding programs. *Front Genet*, 6, 49.
9. Henryon M., Berg P., Sorensen AC., 2014. Animal-breeding schemes using genomic information need breeding plans designed to maximise long-term genetic gains. *Livest Sci*, 166, 38-47.
10. Switonski M., 2002. Molecular genetics in beef cattle breeding.-A review. *Anim Sci Pap Rep, Supplement*, 20, 1.
11. Elmacı C., Öner Y., 2007. Et sığırcılığında moleküler genetik yaklaşımlar. *Hayvansal Üretim*, 48, 45-48.

12. Özbeyaz C., Kocakaya A., 2011. Genomic evaluation in dairy cattle. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 51, 93-104.
13. Zhao C., Tian F., Yu Y., Luo J., Hu Q., Bequette BJ., Ransom L., Balfwin VI., Liu G., Zan L., Updike MS., Song J., 2012. Muscle transcriptomic analyses in Angus cattle with divergent tenderness. *Mol Biol Rep*, 39, 4185-4193.
14. Zapata I., Zerby HN., Wick M., 2009. Functional proteomic analysis predicts beef tenderness and the tenderness differential. *J Agric Food Chem*, 57, 4956-4963.
15. Bouley J., Chambon C., Picard B., 2004. Mapping of bovine skeletal muscle proteins using two dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *J Proteomics*, 4, 1811-1824.
16. Maccatrozzo L., Patruno M., Toniolo L., Reggiani C., Mascarello F., 2004. Myosin Heavy Chain 2B isoform is expressed in specialized eye muscles but not in trunk and limb muscles of cattle. *Eur J Histochem*, 48, 357-366.
17. Picard B., Cassar-Malek I., 2009. Evidence for expression of IIb Myosin Heavy Chain isoform in some skeletal muscles of blonde d’aquitaine bulls. *Meat Sci*, 82, 30-36.
18. Veugelers M., Bressan M., McDermott DA., Weremowicz S., Morton CC., Mabry CC., Lefaiivre JF., Zunamon A., Destree A., Chaudron JM., Basson CT., 2004. Mutation of perinatal myosin heavy chain associated with a carney complex variant. *N Engl J Med*, 351, 460-469.
19. Xu Y., Shi T., Cai H., Zhou Y., Lan X., Zhang C., Chen H., 2014. Associations of *MyH3* gene copy number variations with transcriptional expression and growth traits in chinese cattle. *Gene*, 535, 106-111.
20. Zhang Y., Zan L., Wang H., 2011. Screening candidate genes related to tenderness trait in Qinchuan cattle by genome array. *Mol Biol Rep*, 38, 2007-2014.
21. Mascarello F., Toniolo L., Cancellara P., Reggiani C., Maccatrozzo L., 2016. Expression and identification of 10 sarcomeric *MyHC* isoforms in human skeletal muscles of different embryological origin. Diversity and similarity in mammalian species. *Ann Anat*, 207, 9-20.
22. Venhoranta H., Bauersachs S., Taponen J., Lohi H., Taira T., Andersson M., Flisikowski K., 2013. Fetal growth restriction caused by *MIMT1* deletion alters brain transcriptome in cattle. *Int J Dev Neurosci*, 31, 463-467.
23. Shackel NA., Gorrell MD., McCaughan GW., 2002. Gene array analysis and the liver. *Hepatol Commun*, 36, 1313-1325.
24. Yuan JS., Reed A., Chen F., Stewart CN., 2006. Statistical analysis of Real-Time PCR data. *BMC bioinformatics*, 1, 85.
25. Ilian MA., Morton JD., Kent MP., Le Couteur CE., Hickford J., Cowley R., Bickerstaffe R., 2001. Intermuscular variation in tenderness: association with the ubiquitous and muscle-specific calpains. *J Anim Sci*, 79, 122-132.
26. Bai Q., McGillivray C., da-Costa N., Dornan S., Evans G., James Stear M., Chang KC., 2003. Development of a porcine skeletal muscle cDNA microarray: analysis of differential transcript expression in phenotypically distinct muscles. *BMC Genom*, 4, 8.
27. Sawdy JC., Kaiser SA., St-Pierre NR., Wick MP., 2004. Myofibrillar 1-D fingerprints and Myosin Heavy Chain MS analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. *Meat Sci*, 67, 421-426.







## Bir Köpekte Rostral Segmental Mandibula Kırığı ve İnterdental Telleme Tekniği ile Sağaltımı

Mahir KAYA<sup>1a</sup>, Elif DOĞAN<sup>2b</sup>, Zafer OKUMUŞ<sup>3c</sup>

1. Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Görüntüleme Programı, Antalya, TÜRKİYE.
  2. Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kastamonu, TÜRKİYE.
  3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-2979-8832<sup>a</sup>, 0000-0002-3321-8116<sup>b</sup>, 0000-0001-5880-1415<sup>c</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
26.10.2018	24.02.2019	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Kaya M, Doğan E, Okumuş Z:** Bir Köpekte Rostral Segmental Mandibula Kırığı ve İnterdental Telleme Tekniği ile Sağaltımı. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 85-89, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.474997

**Öz:** Bu olgu sunumunda 2 yaşlı, erkek, Terrier ırkı bir köpekte mandibulanın rostral bölgesinin solunda karşılaşılan segmental kırığın interdental telleme tekniği ile sağaltımı konu edildi. Mandibular kırık başka bir köpeğin saldırısına bağlı oluşmuştu. Yapılan klinik incelemede nörolojik bulguya, solunum sistemine ve genel durum bozukluğuna ait patolojik belirtilere rastlanılmadı. Bununla birlikte hayvanın ağzının tam kapanmadığı belirlendi. Gingivada da laserasyon görüldü. Preoperatif radyografik değerlendirme yapıldı. Bu değerlendirmede kırık hattı, mandibular sol birinci premolar ile birinci kesici dişler arasındaydı. Sol kanin diş ve birinci premolar dişte kök kırığı da belirlendi. Bu kök kırığı olan dişlerin çekiminin yapılmasından sonra kırık fiksasyonu, interdental telleme ile sağlandı. Postoperatif 24. günde yapılan klinik ve radyografik değerlendirmelerde bu noninvaziv fiksasyon yöntemi ile komplikasyonsuz ve başarılı kırık iyileşmesinin sağlandığı görüldü. Köpeklerdeki segmental mandibula kırıklarında interdental telleme başarı ile kullanılabilecek bir yöntem olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** İnterdental telleme, Kırık iyileşmesi, Köpek, Mandibula kırığı.

## A Dog of Rostral Segmental Mandibular Fracture and its Treatment via Interdental Loop Wiring Technique

**Abstract:** In this case report, the treatment of segmental fracture by interdental loop wiring technique on the left side of the rostral region of the mandible in a 2-year-old male, Terrier breed dog was described. Mandibular fracture occurred due to the attack of another dog. In the clinical examination, there were no pathological symptoms related to neurological findings, respiratory system or the general condition. However, it was determined that the mouth of the animal could not close completely. Gingival laceration was evident. In the preoperative radiographic evaluation, a fracture line was observed between the left mandibular first premolar and the first incisor teeth. The roots of the left canine and the left first premolar teeth were also fractured. Mandibular fracture was reduced via interdental loop wiring after these two teeth were extracted. On the 24th postoperative day, clinical and radiographic evaluations were performed which revealed that this non-invasive fixation method achieved a complete fracture healing without complications. Interdental loop wiring may be used successfully in segmental mandibular fractures in dogs.

**Keywords:** Dog, Fracture healing, Interdental Loop wiring, Mandibular fracture.

## GİRİŞ

Çene kırıklarının görülme sıklığı, tüm kırık olgularında köpeklerde %1.5 ila 3 arasında iken (1), kedilerde ise %15 ila 23 gibi bir oran aralığı ile daha yüksektir (2). Mandibulanın farklı bölgelerinde kırıklar şekillenebilmektedir. Kedilerde mandibula kırıkları %73 oranında symphysis mandibulada oluşurken (3), köpeklerde ise %31'lik bir oranla mandibulanın premolar bölgesinde meydana gelir (4).

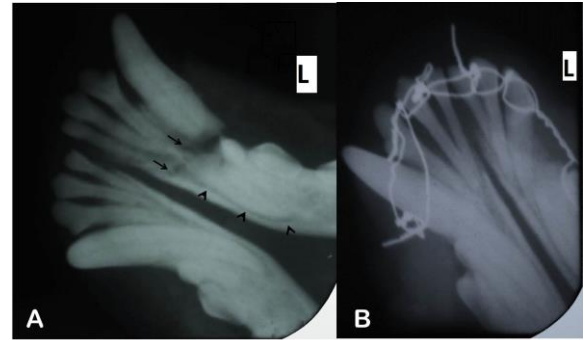
Köpeklerde mandibula kırıklarının etiyolojisinde en fazla trafik kazaları ve yüksekten düşme gibi travmatik etkenler daha çok yer tutar. Travmatik etkenlerin yanı sıra neoplazi, metabolik ve periodontal hastalıklara bağlı patolojik nedenler de kırıklara yol açar. Bununla birlikte hatalı diş çekimleri ve tedavileri sonrası oluşan iatrojenik kırıklar daha az sıklıkla oluşur (5). Travmatik mandibula kırıkları ile birlikte kafa travması, üst solumun yolu obstrüksiyonu, pnömotoraks, pulmoner kontuzyon ve travmatik miyokarditis görülebilir. Bu patolojiler yaşamsal tehdit oluşturduğu için mandibular kırık olgularında dikkat edilmeli ve teşhis edilmeleri halinde sağaltım önceliği bu patolojilere verilmelidir (6).

Bu olgu sunumunda nadiren karşılaşılan rostral mandibular segmental kırığın interdental telleme ile yapılan fiksasyonla elde edilen başarılı kırık iyileşmesi konu edildi.

## OLGUNUN TANIMI

Olguyu, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine getirilen 2 yaşlı, erkek, 12 kg ağırlığındaki Terier ırkı köpek oluşturdu. Alınan anamnez bilgisinde 3 gün öncesinde başka bir köpeğin saldırısı sonucunda rostral mandibulada açık kırık olduğu belirtildi. Yapılan klinik incelemede nörolojik bulguya, solumun sistemine ve genel durum bozukluğuna ait belirtilere rastlanılmadı. Bununla birlikte hasta hayvanın ağzını tam kapatamadığı, salya akıntısının olduğu belirlendi. Kırık hattı, mandibular sol premolar diş düzeyinden başlayarak

mandibular birinci kesici dişler arasında sonlandığı ve sol mandibular kanin diş ile birinci premolar dişte kök kırığının şekillendiği belirlendi. Kırık uçları arasında derin bir boşluk oluşturacak şekilde kırık segmentin kranioventrale yer değiştirdiği ve gingivada laserasyon olduğu görüldü. Kırığın manuel redüksiyonu sağlandıktan sonra bile ağzın pasif hareketlerinde kırık kanin dişin okluzyonu bozduğu izlendi. Palpasyonda symphysis mandibulanın hareketli olmaması ile symphysis mandibula kırığı dışlandı. Genel anestezi (1 mg/kg im Xylazine HCl, Rompun®, Bayer; 10 mg/kg im Ketamine HCl, Ketasol®, İnterhas) altında alınan mandibulanın lateral ve intraoral radyografileri de klinik bulguları destekledi (Şekil 1A).



**Şekil 1:** A- Mandibulanın preoperatif intraoral radyografisi. Kırık hattı (oklar), kırık sol kanin diş ve bu dişin alveolar kemikteki kökü (ok başlıkları) görülmektedir. B- Mandibulanın postoperatif 24. gündeki intraoral radyografisi.

**Figure 1:** A- Preoperative intraoral radiography of mandible. Fracture line (arrows) and fractured left canine tooth / root of this tooth in alveolar bone (arrow heads) are presented. B- Intraoral radiography of mandible on postoperative 24<sup>th</sup> day.

Kırık hattının lavajı, serum fizyolojik (%0.9 NaCl) ve 1/10 oranında seyreltilen Octenidine HCl (Oktesol®, Kimpa) ile sağlandı. Kırık kemik uçları kürete edildi. Okluzyonu engelleyen kırık kanin dişin kronu ile bunun devamındaki bitişik diş kökü ve ayrıca kök kırığı belirlenen birinci premolar diş çekilerek uzaklaştırıldı. Sol rostral mandibular kemiğin zayıflamasına bağlı olarak postoperatif dönemde

kırık oluşumundan kaçınmak için sol kanin dişin alveolar kemikte kalan kök kısmı yerinde bırakıldı. Kanama kontrol edildikten sonra yeniden lavajı yapılan kırık hattının redüksiyonu, uygun oklüzyon oluşturacak biçimde sağlandı ve lasere gingiva 4/0 polypropylene (Prolene®, Ethicon) ile dikildi. Kırık fiksasyonu için 1 mm'lik (18 gauge) serklaj teli kullanılarak sol üçüncü premolar dişten başlanılıp, sağ kanin dişte sonlanacak şekilde interdental telleme yapıldı (7). Preoperatif 15. dakikadan başlayarak postoperatif 3. güne kadar antibiyotik (20 mg/kg/8 saat, iv, Cefazolin, İespor®, İE Ulugay) uygulandı. Serklaj teli kaldırılıncaya kadar %0.2'lik klorheksidin glikonatin (Panheksid Sprey®, Tare ilaç) sprej şeklinde uygulanması hasta sahibine önerildi. Postoperatif 24. günde yapılan radyografik (Şekil 1B) ve klinik (Şekil 2) değerlendirmelerde komplikasyonsuz bir iyileşmenin olduğu görüldü. Sol kesici dişler hafif derecede ağız boşluğuna doğru rotasyon gösterse de, çiğneme fonksiyonunu engellemediği, maloklüzyona neden olmadığı ve kozmetik kusur oluşturmadığı izlendi. Gingivitis bulgularına rastlanılmadı (Şekil 2). Serklaj telinde ise hafif şekilde gevşeme belirlendi. Serklaj teli ve gingivadaki dikiş materyali propofol anestezi (6 mg/kg Pofol®, Sandoz, iv) altında uzaklaştırıldı. Postoperatif 3. aya kadar yapılan telefon görüşmelerinde dişlerde sallantının veya düşmenin görülmediği, periodontal hastalığa ve osteomyelitise ait herhangi bir bulgunun olmadığı öğrenildi.



**Şekil 2:** Olgunun postoperatif 24. gündeki interdental telin kaldırılmadan önceki ve sonraki klinik görünümüleri.

**Figure 2:** Clinical appearance of the case before and after removal of interdental loop wire on postoperative 24<sup>th</sup> day.

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Mandibula kırıklarında cerrahın tercihinin ve sağaltım endikasyonuna göre birçok farklı teknik kullanılabilir. Bu farklı fiksasyon tekniklerinin ortak amaçları; i- dental oklüzyonun yeniden oluşturulması, ii- kompresyon ve tansiyon kuvvetlerinin iyileşme süresince nötralize edilmesi, iii- kısa sürede fonksiyonel iyileşmenin sağlanması, iv- biyolojik iyileşme faktörlerini korumak için mandibular kanal içerisine implant uygulamasından ve yumuşak doku travmasından sakınılması, v- iatrojenik dental ve nörovasküler hasardan kaçınılması şeklinde sıralanabilir (5,8). Mandibula kırıklarının endikasyonuna göre başlıca serklaj ve hemiserklaj, intramedullar pin, plak-vida, eksternal fikzatorler gibi invaziv yöntemlerin yanı sıra intraoral ve ekstraoral splint uygulaması, interdental telleme ve ağızlık gibi noninvaziv yöntemlerle de mandibular kırığın stabilizasyonu sağlanabilir (9). Rostral mandibulanın regional anatomisi, güç olan kırık onarımını daha da zorlaştırır (10,11). Maksillofasial kırıkların invaziv yöntemlerle yapılan cerrahi sağaltımında mandibular kanal içerisindeki nörovasküler yapıların ve diş köklerinin hasara uğraması muhtemeldir. Bu nedenle rostral mandibula kırıklarında diş kronunu kullanarak yapılan noninvaziv stabilizasyonla oldukça iyi bir sonuç alınabilir; yine de, dişsiz veya süt dişi olan hayvanlar için bu teknikler uygun değildir (11,12). Diğer noninvaziv yöntemlerde (13) olduğu gibi sunulan olguda uygulanan intradental telleme tekniği, noninvaziv olması nedeni ile cerrahiye bağlı gelişebilecek yumuşak doku hasarının önüne geçilmesi, implant kökenli dental ve nörovasküler hasara neden olmaması, çiğneme fonksiyonlarının postoperatif dönemde korunması, kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli bir fiksasyon yöntemi olması nedenlerinden dolayı komplikasyonsuz kırık iyileşmesine katkı sağladı.

Mandibular kırıklar sıklıkla açık kırık şeklinde olup, farklı derecelerde kontamine ve enfektedir (3,4). Bununla ilişkili olarak mandibular kırıklarının tedavisinde %34 gibi yüksek bir oranla komplikasyon

gözlenebilir (4). Bu komplikasyonların yaklaşık üçte ikisi, majör komplikasyonlardan olan osteomyelitis ve dental malokluzyondur (14). Bunun yanı sıra yumuşak doku enfeksiyonu, nonunion, malunion, implant yetersizliği, temporomandibular eklem hastalığı da görülebilmektedir (5). İnterdental telleme noninvaziv olmasının yanı sıra basit ve etkili bir yöntemdir. Bu tekniğin en fazla görülen komplikasyonu, diş ile tel arasında gıda artığı birikerek gingivitise neden olmasıdır. Bunun yanı sıra ilerleyen safhada periodontitise bağlı diş kaybının oluşması da söz konusudur (14,15). Bu minör komplikasyonlara kontakt dermatit de eklenebilir. Yine de intraoral fiksasyon aparatının kaldırılmasından bir hafta sonra bu minör komplikasyonların kendiliğinden düzeleceği de belirtilmektedir (13). Konu edilen olguda majör komplikasyonlardan ilki olan osteomyelitis ve malokluzyon ile karşılaşılmadığı gibi minör komplikasyonlardan gingivitise, daha sonraki takip süresi içerisinde periodontitis ve buna bağlı gelişebilecek diş kaybına da rastlanılmadı (Şekil 2). Bu minör komplikasyonların önlenmesinde literatür (12) öneri doğrultusunda postoperatif dönemde hasta sahibine yapması tavsiye edilen diş temizliğinin ve kullanılan antiseptik spreyn etkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Kırık diş veya dişler, bazı noninvaziv fiksasyon tekniklerinin uygulamasını güçleştirir. Ayrıca, premolar bölge lezyonları genellikle ağız kapanışını ve çiğneme fonksiyonunu bozarak oklüzyonu engeller (13,16). Bundan dolayı kök kırığı olan sol kanin ve birinci premolar dişin çekilmesi ile bir diğer majör komplikasyon olan maloklüzyonun önüne geçilmiş oldu.

Yaygın komplikasyon oranına rağmen diğer bölge kırıkları ile kıyaslandığında mandibular kırıkların iyileşmesi hızlıdır (2) ve genellikle büyük kallus kitlesi oluşmadan kaynama şekillenir (3). Fonksiyonel iyileşmenin oluşması için fibröz kallus oluşumu yeterli görülmektedir. Fonksiyonel iyileşme için ortalama 3 haftalık süre yeterliyken, össeöz kallus oluşumunu için gerekli sürenin ise 5.5 ila 6.3 hafta arasında olacağı belirtilmektedir (2). Sunulan

olgunun postoperatif 24. günde alınan radyografilerinde kırık hattının büyük oranda opaklaşarak iyileştiği görüldü (Şekil 1B). Bu hızlı iyileşme, rostral mandibula kırıklarının kaudal mandibula kırıklarından daha hızlı iyileşmesini vurgulayan literatür (17) bilgisi ile açıklanabilir.

Sonuç olarak, bu olguda görülen rostral mandibular segmental kırığın sağaltımında uygulanan interdental telleme tekniğinden kısa sürede, komplikasyonsuz, başarılı sonuç alındı. İnterdental telleme tekniği köpeklerde bu tür kırıkların sağaltımında göz önünde bulundurulması gerekli bir yöntem olarak düşünülebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Hoelzler MG., Holmberg DL., 2001. Partial mandibulectomy as the treatment of a comminuted mandibular fracture in a dog. *Can Vet J*, 42,143-144.
2. Owen MR., Langley Hobbs SJ., Moores AP., Bennett D., Carmichael S., 2004. Mandibular fracture repair in dogs and cats using epoxy resin and acrylic External skeletal fixation. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 4,189-197.
3. Piermattei DL., Flo GL., Decamp CE., 2016. Fractures and luxations of the Mandible and Maxillae. In "Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair", 5th ed., 717-736, Saunders-Elsevier, Missouri.
4. Umphlet RC., Johnson AL., 1990. Mandibular fractures in the dog: A retrospective study of 157 cases. *Vet Surg*, 19, 272-275.
5. Glyde M., Lidbetter D., 2003. Management of fractures of the mandible in small animals. In *Pract*, 25, 570-585.
6. Hedlund CS., Hulse DA., Johnson AN., Seim HB., Willard MD., Carroll GL., 2000. *Manual of Small Animal Surgery*, Ed., TW Fossum, 5th ed., 643, Mosby Inc. Publication, Louis, Missouri.
7. Tott C., 2006. *Jaw Fracture Repair. "Small animal dentistry: A manual of Techniques"*, Ed., C Tutt, 1st ed., 177-185, Blackwell Publishing, Iowa.
8. Scott H., 2016. The skull and mandible. In: "BSAVA

- manual of canine and feline fracture repair and management”, Ed., Gemmil TJ, Clements, 2 nd ed., 149-165, Willey-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
9. Taylor RA., 1997. Surgical repair of mandibular fractures. In “Current Techniques in Small animal surgery” Ed., MJ Bojrab, GW Ellison and B Slocum, 4th ed., 977-980, Elsevier, Williams-Wilkins Company, Maryland.
  10. Verstraete FJM., 2003. Maxillofacial fractures. In “Textbook of small animal surgery”, Ed., DH Slatter, 3th ed., 2190–2207, Saunders, Philadelphia.
  11. Legendre L., 2005. Maxillofacial fracture repairs. Vet Clin North Am Small Anim Pract, 35,985-1008.
  12. Niemiec BA., 2003. Intraoral acrylic splint application. J Vet Dent, 20, 123-126.
  13. Çetinkaya MA., Yardımcı C., Kaya Ü., 2011. Lingual arch bar application for treatment of rostral mandibular body fractures in cats. Vet Surg, 40, 457-463.
  14. Harasen G., 2008. Maxillary and mandibular fractures, Can Vet J, 49, 819-820.
  15. Carvalho CM., Rahal SC., Mesquita LR, Castilho MS., Kano WT., Mamprim MJ., 2015. Mandibulectomy for treatment of fractures associated with severe periodontal disease. Can Vet J, 56, 292-294.
  16. Lothamer C., Snyder CH., Kloke J., McCobe RP., Vanderby R., 2015. Crown preservation of the mandibular first molar tooth impacts the strength and stiffness of three non-invasive jaw fracture repair constructs in dogs. Front Vet Sci, 17, 56-62.
  17. Tiwari SK., Kaushal GD., Sharda R., Singh H., Choudhary V., 2012. Successful repair of mandibular symphyseal fracture in a dog. Vet World, 5, 762-763.





## Mycotoxin Hazard in Meat and Meat Products

Halil Doruk KAYNARCA<sup>1a</sup>, Canan HECER<sup>1b</sup>, Beyza ULUSOY<sup>1c</sup>

1. Near East University, Faculty of Veterinary Medicine, Food Hygiene and Technology Department, Nicosia 99138, TRNC  
ORCID: 0000-0003-0721-7547<sup>a</sup>, 0000-0003-1156-9510<sup>b</sup>, 0000-0001-9278-2537<sup>c</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
31.07.2018	17.01.2019	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Kaynarca D, Hecer C, Ulusoy B:** Mycotoxin Hazard in Meat and Meat Products. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(1): 90-97, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.449705

**Abstract:** Mycotoxin; is one of the problems threatening human and animal health in food industry. Mycotoxins have some serious harms on human health such as hepatotoxic, neurotoxic, mutagenic, carcinogenic and estrogenic effects. Aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and tricotheenes are mycotoxins which have agricultural and economic importance. According to the studies on these toxins, it appears that meat and meat products play an important role in delivering toxins to humans. Regarding to the mechanism of seconder contamination of toxins to meat, it is important to apply good hygiene practice and good manufacturing practice in food industry. It is important to avoid feding the food animals with contaminated feed in order to prevent from primer contamination of meat with mycotoxins.

**Keywords:** Aflatoxin, Meat Products, Mycotoxin, Ochratoxin, Public Health.

## Et ve Et Ürünlerinde Mikotoksin Tehlikesi

**Öz:** Mikotoksinler; insan ve hayvan sağlığını tehdit eden sorunlardan birisidir. Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerine hepatotoksik, nörotoksik, mutajenik, kanserojenik ve östrojenik gibi etkileri bulunmaktadır. Aflatoxin, okratoksin A, zearalenon, fumonisinler ve trikotesenler tarımsal ve ekonomik önemi olan mikotoksinlerdir. Bu toksinler üzerine yapılan araştırmalarda et ve et ürünlerinin toksinleri insanlara ulaştırmada önemli bir rol aldığı görülmektedir. Bunlar arasında aflatoxin ve okratoksinin sentezlenebilmesi için gerekli olan çevresel koşulların et ve et ürünleri tarafından oluşturulduğu görülmektedir. Et ve et ürünlerinin işlenmesinde sekonder kontaminasyonun önlenmesi adına hijyen koşullarının iyileştirilmesi bu konuda personelin bilgili ve bilinçli olması etlerde mikotoksin tehlikesinin ortadan kaldırılması için bir önlem olarak düşünülebilir. Et ve et ürünlerinin primer kontaminasyonun önlenmesi için hayvanların kontamine yemlerle beslenmesi engellenmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoxin, Et Ürünleri, Halk Sağlığı, Mikotoksin, Okratoksin.

<sup>✉</sup>Canan Hecer

Near East University, Faculty of Veterinary Medicine, Food Hygiene and Technology Department, Near East Boulevard, TRNC, 99138.  
e-mail: canan.hecer@neu.edu.tr



## INTRODUCTION

**M**ycotoxin is the general name of the toxic compounds produced by molds. Among the other chemical agents found in food and feedstuffs, mycotoxins are the very important ones that threaten human and animal health. In this point of view; mycotoxin contamination of meat is one of the important hazards to be controlled in terms of food safety (1,2).

However it is impossible to fully calculate, it is suggested that mycotoxin contamination is the reason of big economic losses as well as food safety and public health problems (3,4).

The term of mycotoxin was first used in 1960 after a case in which 100.000 turkeys died by consuming the feed contaminated with secondary metabolites produced by *Aspergillus flavus* in UK. Mycotoxin is the combining of the words "myco" meaning "fungus" and "toxin" meaning poison. Mycotoxicosis is the name of the illness caused by mycotoxins. It is reported that exposure to mycotoxins in humans and animals is mostly through food. The mycotoxins are classified as hepatotoxins, nephrotoxins, neurotoxins, and immunotoxins according to the organs that they affect. Depending on the way of affecting the cells; they are classified as teratogens, mutagens, carcinogens and allergens. They are also grouped as polyketides and amino acid derivatives according to their chemical origins (5-7).

Mycotoxins are transported to humans by consumption of meat obtained from animals fed with contaminated feeds and contaminated spices used during processing of these meats. Mycotoxins are thought to be responsible for various pathological syndromes in humans. For example, ochratoxin is associated with balkan endemic nephropathy and fumonisin B1 is associated with esophagus cancer (8,9).

Today, more than 300 mycotoxins are known. Aflatoxins, ochratoxin A (OTA), fumonisins, trichothecenes and zearalenone toxins are the groups of mycotoxins, which have the largest agricultural, economic and public health importance (10-12).

### 1. Aflatoxins

The toxins named as aflatoxin B1, B2, G1 and G2 of are synthesized by *A. flavus* and *A. parasiticus*. These aflatoxins can often be found in many herbal products such as cereals, peanuts, cotton seeds, dried fruits, spices (13). Optimal conditions for of *A. parasiticus* and *A. flavus* to produce toxin are reported to be 16-31 °C and 0.83-0.99  $a_w$  (3,14,15). The Food and Agriculture Organization (FAO) determined the maximal daily intake of aflatoxin B1 to be 5 µg/kg and the total aflatoxin (B1 + B2 + G1 + G2) to be 10 µg/kg. This toxin has been classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) (16), in carcinogenic effect Group 1. Consuming meat products contaminated with aflatoxin can cause mutagenic, carcinogenic and teratogenic effects in consumers. Regarding this issue, it is important to evaluate the researches which show us the aflatoxin contamination of meat and meat products.

Darwish et al. (4) reported that the highest amount of aflatoxin was found in the liver and stomach after analyzing frozen chicken breasts, buttocks, stalk and liver samples from 80 chickens. Shaltout et al. (17) found that aflatoxin levels of  $13.38 \pm 1.52$ ,  $9.03 \pm 1.14$ ,  $8.80 \pm 0.95$  and  $4.53 \pm 0.61$  µg/kg, were obtained respectively, in a total of 100 meatballs, sausages, luncheon and pastrami samples collected from various butchers and grocery stores in Benha. They reported that the amount of aflatoxin found in meatball samples was above the limit, and that of sausages was very close to the limit.

Maktabi et al. (18) have used ELISA method to detect AFB1 in 45 sausage and 53 burger samples collected from various markets in Iran. As the conclusion of the related study, 2 sausage samples (%4.9) and 3 burgers (%6.3) were contaminated below >1 ng/g. However in, 4 burger samples (%8.9) *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. mucor* and *Penicillium* contamination were observed. Sineque et al. (19) collected 100 broiler and 80 gizzard samples from industrial and local slaughterhouses. According to the results of this study conducted by ELISA method,

they detected AFB1 in %39 of liver and %13.8 of gizzards and the amount detected AFB1 were in the range of 1.73-1.07 ng/g. Hassan et al. (19), a total of 350 samples (frozen meat, minced meat, liver, kidney, luncheon, sausage, hawawchi) collected from 50 different butcher and supermarkets in Egypt and aflatoxins B1, B2, G1 and G2 contaminations were searched. As a result of this study; in the kidney samples  $12.36 \pm 1.89$ ,  $9.84 \pm 1.63$ ,  $5.38 \pm 1.36$ ,  $6.84 \pm 1.39 \pm 1.36$ ,  $6.84 \pm 1.39$  and  $1.36 \pm 0.38$  in the liver samples,  $3.71 \pm 1.35$ ,  $3.59 \pm 1.12$ ,  $5.24 \pm 1.38$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , in the liver samples  $13.81 \pm 1.96$ ,  $3.26 \pm 0.92$ ,  $2.51 \pm 0.63$  and  $1.36 \pm 0.38$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , in the luncheon samples  $3.71 \pm 1.35$ ,  $3.59 \pm 1.12$ ,  $5.24 \pm 1.12$ ,  $6.77 \pm 1.49$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , in the hawawchi samples  $11.03 \pm 2.43$ ,  $2.25 \pm 0.52$ ,  $2.54 \pm 0.99$ ,  $2.56 \pm 0.27$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , in the minced meat samples  $3.62 \pm 0.88$ ,  $3.40 \pm 0.82$ ,  $4.24 \pm 0.85$ ,  $2.83 \pm 0.60$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  and in frozen meat samples  $4.80 \pm 0.89$ ,  $5.3 \pm 2.1$ ,  $1.71 \pm 0.60$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  aflatoxin B1, B2, G1 and G2 were reported respectively for each. These values were over the limit when compared with the limits reported by World Health Organization (WHO), FAO and FDA. Ahmed et al. (21) collected 90 samples (30 sausage, 30 luncheon, 30 burger meat) from Zagazig markets. According to the results 4 of the sausage samples, 3 of the luncheon samples and 2 of the burger meat samples were contaminated with aflatoxin over the limit values (4 ppb) determined by the European Union. In Tabriz, Amirkhizi et al. (22) reported that %72 of the liver samples and %58 of the egg samples were contaminated with AFB1 in the analysis of 150 eggs and 50 chickens by the HPLC method. Murad et al. (23) collected 60 poultry samples from butcher shops in Sulaimani and analyzed AFB1 HPLC method. According to this study they reported that AFB1 was detected in all chicken meats and %65 of chicken lungs however amounts were below the limits.

Spices used in meat products can be shown as a source of mycotoxin contamination of those products. Pleadin et al. (20) reported that they found aflatoxin in their products because of the presence of aflatoxin residues in red pepper and black pepper, although mycotoxin was not found in the meat they

used as raw material in experimental sausage production.

## 2. Ochratoxin A

Ochratoxin A, B and C are secondary metabolites produced by various *Aspergillus* species such as *A. ochraceus*, *A. alutaceus*, *A. melleus*, *A. alliaceus*, *A. ostianus*, *A. sclerotium*, *A. albertensis*, *A. wentii*, *A. auricomus*, *A. niger* var. *niger*, *A. fresenii* and some of the *Penicillium* species such as *P. verrucosum*, *P. cyclopium*, *P. palitans*, *P. commune*. Among the other ochratoxins, ochratoxin A (OTA) is the most isolated one. This toxin is present as a contaminant of many foodstuffs, especially cereals, as well as wine and cabbage. If animals consume contaminated feed, meat and meat products obtained from those animals, may also contain OTA. It is emphasized that meat as the main source of human exposure to this toxin (24).

Mold species that can produce ochratoxin are known to be able to grow at low temperatures and low water activity values. *Penicillium* species can produce ochratoxin at temperatures of up to 5 °C (10). OTA contamination for cereals usually occurs during storage, especially when humidity and temperature are above the required level (25). The maximum tolerable dose for OTA was reported to be 16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  daily. The carcinogenic hazard by IARC (16) is classified in group 2B.

Studies show that OTA can be found in meats and offals, especially pig kidney, liver and other organs. It is known that pigs are particularly susceptible to OTA in farm animals, and pigs carry OTA not only in their kidneys also carry at low concentrations in their liver, muscle and fat tissues, However, the residence time of the toxin in blood is more compared to those tissues. It is known that the kidney, liver, muscle and fat tissues follow this, respectively. It has been reported that the contamination sources of meat products are not only pigs blood, plasma, kidneys and liver, but also contaminants in spices used in meat production. Studies have shown that products containing offal such as blood and liver sausages contain high levels

of OTA (26). Khalailah (28) reported in his study on poultry meat (thigh and legs, liver, gizzard, breast) that the amount of OTA was found to be  $1.891 \pm 0.007$  and  $7.687 \pm 0.12 \mu\text{g}/\text{kg}$  and the highest value was found in liver.

Markov et al. (28) conducted a survey study for OTA in semi-dried sausages and dried meat products which were collected from Croatian butcher shops and they obtained ochratoxin in 21 of 25 semi-dried sausage samples and 23 of 50 dried meat samples. As a conclusion, 44 of the total 75 products were positive for ochratoxin contamination. Mitchell et al. (29) conducted a survey study in USA and for his 2296 food items were collected. Of the 94 pigs in all samples collected, 3 were positive for ochratoxin A. However the obtained amounts were under the defined limits, it has been reported that those amounts were at risk level for children at 1-5 years of age. Iacumin et al. (30) performed a study on dried salami, which is frequently consumed in Northern Italy. They analyzed 100 dried and salted salami produced by traditional methods and 60 dried and salted salami produced by industrial methods. 37 of the traditional products and 35 of the industrial products were found to be positive and above the determined limits. Elghany (32) analyzed the OTA ready-to-eat luncheon and frozen burgers by immuno-affinity fluorimetry technique. Beef luncheons were reported to include 8.5-0.56  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and beef burgers were reported to include 7.6-2.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Iqbal et al. (1) reported that 41% of poultry meat out of 115 samples and 35% of chicken eggs out of 80 found to be contaminated with OTA and 80 eggs, and the maximum value was 4.70  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Armorini et al. (31) reported that they found OTA in 5 of 50 salami samples, but 1 of them was found to be over the defined limit. Murad (32) reported that 30 poultry meat samples and 30 chicken liver collected from supermarkets in Süleymaniye, 26 and 17 at the samples were found to contain OTA respectively. The amounts of OTA in positive samples were below the limit values.

Some treatments such as heating, salting, drying or storage are ineffective in reducing the OTA

concentration in the final product. On the other hand, it has been reported that 20% of the toxin may be reduced by frying (26).

### 3. Zearalenone

Zearalenone (ZEA) is a mycotoxin with estrogenic activity produced by *Fusarium* species. Recently, it was reported that the toxin causes cancer and to reduce male fertility in humans and wildlife populations. Zearalenone is a non-steroid phenolic resorcinic acid lactone, which has estrogen-like activity in farm animals such as cattle, sheep, goats (33). IARC (16) classified zearalenone as Group 3 in terms of its carcinogenic effect.

Zearalenone was first isolated from the corn which is contaminated with *Fusarium graminearum* anamorph. It has been shown that it can be synthesized by various *Fusarium* species such as *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum* and *F. oxysporum*. These are the fungal species that develop on plants. ZEA contamination occurs at harvest or early storage when drying is not enough. *Fusarium* development and mycotoxin production generally occur at high water activity ( $> 0.90$ ). The optimum temperature for the development of ZEA production mycelium is reported to be about 20-25 °C (34).

There are a few studies on the potential presence of toxin in edible tissues of animals. In pigs, it appears that meat and other edible organs may not be contaminated with the toxin even after the animals exposed to high concentrations of toxin (35). In a study chickens were subjected to a long-term toxin exposure by feeding them with 1.58 mg ZEA/kg contaminated ration for 16 weeks. According to the results of this study; toxin was not detected in muscle, fat and egg of the animals (36).

On the other hand in the study of Iqbal et al. (1) which they collected 115 poultry samples in Pakistan, 52% of the samples was found to be positive in terms of zearalenone presence. Among the positive samples, the highest value was determined as 5,10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in HPCL method. Mahmoudi (37) collected 210 samples including 70 liver, 70 milk, 70 meat in the North-west of Iran. According to the results of this

study zearalenone was detected in 92 samples and the highest amounts of toxin were obtained in liver samples ( $2.37 \pm 1.18$  ng/g) and followed by milk ( $1.34 \pm 1.42$  ng/ml) and meat ( $0.79 \pm 1.27$  ng/g). Danicke et al. (36) reported that in ruminants fed with ZEA at 0.1 ml/kg/day,  $\beta$ -zearalenol was found in %68,  $\alpha$ -zearalenol in %24, and zearalenone in %8 in bile of the ruminants, but no metabolites were found in the muscles and kidney. Zearalenone production can not be observed in processed meats due to lack of optimum environmental conditions (especially water activity) required for *Fusarium* development and toxin production.

#### 4. Trichothecenes

Trichothecenes are the secondary metabolites produced by various *Fusarium* species such as *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. poae* and *F. sporotrichioides*. More than 160 trichothecenes, including deoxynivalenol (DON), nivalenol (NIV), T-2 toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol (DAS) and fusarenon X were reported in scientific literature. Among these, the most frequent trichothecene is DON. It is known that these mycotoxins are toxic, immunotoxic and cytotoxic in animals. However, due to the metabolic pathways in the animals, it does not cause any residue in the muscle of food animals (39,40).

IARC (16) classified T-2 toxin, DON and NIV as Group 3 in terms of its carcinogenic effect. The daily tolerable dose determined depending on the toxic effects observed in pigs or rodents is 0.06, 1 and 0.7 mg/kg for T-2, DON and NIV, respectively. The present data discloses that meat and meat products are not considered as a potential source of trichothecenes for consumers. It has been reported that poultry can conquer trichothecenes at high levels and therefore humans are not infected by poultry products. For this reason, studies on toxin, indicate that transport in consuming edible parts of

the animal is not a pathway of exposure to these toxins (41).

Wu et al. (42) conducted a study with 24 pigs which were fed with feed that has been contaminated by toxins experimentally. When they analyzed the samples, they reported that they found DON residues in the spleen, heart, and muscle and that the amounts were below 6  $\mu$ g/kg which is the daily tolerable amount for humans. Zou et al. (43) analyzed 20 pigs dorsal muscle, 10 pigs back fat and 36 chicken meat and reported that they found trichothecene residues in 6, 8 and 6 rolls, respectively. The values they obtained were below the limits.

#### 5. Fumonisin

There are seven types of fumonisin produced by *Fusarium* species, named as A1, A2, B1, B2, B3, B4 and C1. Especially their effects on the health of the horses has long been known. The most common and known one is fumonisin B1. Fumonisin B1 is synthesized by *F. verticillioide*, *F. proliferatum* ve *F. nygami* (43,44). However, due to its absorption and kinetics properties, it is reported that meat and meat products are not important sources for public health (11).

Fumonisin production occurs mostly in the period of harvest, at temperatures of about 20-25 °C and in high humidity of grains. In many studies, fumonisins are said to be contaminants of corn and corn products worldwide (45). IARC (16) classified FB1 as Group 2B in terms of its carcinogenic effect. Regulations by the European Union have determined the maximum concentrations of fumonisin B1 and B2 in corn and corn derived products for human consumption. The maximum limits range from 200-4000 mg/kg depending on the type of the food. Taking into account the toxicokinetic parameters observed for FB1, edible parts of animals and especially muscles do not appear to be a source of FB1 hazard for human health (45).

## CONCLUSION

Studies show that even though there are mycotoxins contaminating meat and meat products, incidence and toxic effects of aflatoxins and ochratoxin makes those toxins more important in terms of food safety. There is a need to develop the legislation on the maximum limits of mycotoxins in meat and meat products. Contamination of meat and meat products with mycotoxins occurs in two ways. The first way is the feeding of the animals with contaminated feed which causes toxin residues in edible parts of the animals. The second way is the contamination that can occur during the processing, preservation and distribution of meat and meat products. Regarding to this mechanism of this secondary contamination, it is important to apply good hygiene practice and good manufacturing practice in food industry.

## REFERENCES

1. Iqbal SZ., Nisar S., Asi MR., Jinap S., 2014. Natural incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in chicken meat and eggs. *Food Control*, 43, 98-103.
2. Misihairabgwi JM., Ezekiel CN., Sulyok M., Shephard GS., Krska R., 2017. Mycotoxin contamination of foods in Southern Africa: A 10-year review (2007-2016). *Crit Rev Food Sci Nutr*, 11, 1-16.
3. Oguz H., 2017. Mycotoxins and their importance. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, 3, 113-119.
4. Darwish WS., Bayomi RME., El-Moaty AMA., Gad TM., 2016. Mould contamination and aflatoxin residues in frozen chicken meat-cuts and giblets. *Jpn J Vet Res*, 64, 167-171.
5. Nunez F., Lara MS, Peromingo B., Delgado J., Sanchez-Montero L., Andrade MJ., 2015. Selection and evaluation of *Debaryomyces hansenii* isolates as potential bioprotective agents against toxigenic penicillia in dryfermented sausages. *Food Microbiol*, 46, 114-120.
6. Olsen M., Gidlund A., Sulyok M., 2017. Experimental mould growth and mycotoxin diffusion in different food items. *World Mycotoxin J*, 10, 1-10.
7. Singh P., Cotty PJ., 2017. Aflatoxin contamination of dried red chilies: Contrasts between the United States and Nigeria, two markets differing in regulation enforcement. *Food Control*, 80, 374-379.
8. Stoev SD., 2017. Balkan endemic nephropathy—still continuing enigma, risk assessment and under estimated hazard of joint mycotoxin exposure of animals or humans. *Chem Biol Interact*, 261, 63-79.
9. Egmond HP., Schothorst RC., Jonker MA., 2007. Regulations relating to mycotoxins in food. *Anal Bioanal Chem*, 1, 147-157.
10. Kaya S., 1998. Mikotoksinler ve mikotoksin zehirlenmeleri. In "Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji" Ed., S Kaya 1. Baskı 222-235, Medisan Yayınevi, Ankara.
11. Bailly JD., Guerre P., 2009. Mycotoxins in meat and processed meat products. In "Safety of Meat and Processed Meat", Ed., F Toldra, 1st ed., 83-125, Springer, New York.
12. Moretti A., Logrieco AF., Susca A., 2017. Mycotoxins: An underhand food problem. In "Mycotoxigenic Fungi. Methods in Molecular Biology", Eds., A Moretti, A Susca, vol 1542, Humana Press, New York.
13. Isleyici O., 2017. The most important mycotoxins, characteristics and the factors influencing formation. *Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics*, 3, 1-12.
14. Battilani P., Toscano P. Van der Fels-Klerx HJ., Moretti A., Leggieri MC., Brera C., Robinson, T., 2016. Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Sci Rep*, 6, 24328.
15. Peromingo B., Rodriguez A., Bernaldez V., Delgado J., Rodriguez M., 2016. Effect of temperature and water activity on growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and

- Aspergillus parasiticus* on cured meat model systems. *Meat Sci*, 122, 76-83.
16. International Agency for Research on Cancer. 2010. Agents classified by the IARC monographs, vol 1-100. WHO, Fransa.
  17. Shaltout FA., Amin RA., Nassif MZ., Abd-Elwahab SA., 2014. Detection of aflatoxins in some meat products. *Benha Vet Med J*, 27, 368-374.
  18. Maktabi S., Fazlara A., Ghorbanpoor M., Talayol G., Siavashi M., 2016. Measurement and assessment of aflatoxin B1 and its producing molds in Iranian sausages and burgers. *J Kermanshah Univ Med Sci*, 20, 74-78.
  19. Sineque AR., Macuamule CL., Dos Anjos FR., 2017. Aflatoxin B1 contamination in chicken livers and gizzards from industrial and small abattoirs, measured by ELISA technique in Maputo, Mozambique. *Int J Environ Res Public Health*, 14, 951.
  20. Hassan MN., Hassan AAEA., Tartor YH., Ali SF., 2017. Aflatoxin producing moulds and aflatoxin residues in meat and meat products in Egypt. *Zag Vet J*, 42, 43-55.
  21. Ahmed WF., El Mesallamy MM., El Mokhtar NM., 2016. Estimation of aflatoxin residues in some meat products. *Zag Vet J*, 41, 9-13.
  22. Amirkhizi B., Arefhosseini SR., Ansarin M., Nemati M., 2015. Aflatoxin B1 in eggs and chicken livers by dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 8, 245-249.
  23. Murad HO., Abdulahad EA., Hamadameen AY., 2016. The levels of aflatoxin B1 residue in slaughtered chicken flesh and livers in sulaimani city markets. *Int J Mod Sci Technol*, 143, 1-5.
  24. Pleadin J., Kovacevic D., Perkovic I., 2015. Impact of casing damaging on aflatoxin B1 concentration during the ripening of dry-fermented meat sausages. *J Immunoassay Immunochem*, 36, 655-666.
  25. Steyn PS., 2016. Ochratoxin and other dihydroisocoumarins. *Microbial toxins*, 6, 179-205.
  26. Malir F., Ostry V., Pfohl-Leszkowicz A., Malir J., Toman J., 2016. Ochratoxin A: 50 years of research. *Toxins*, 8, 142-191.
  27. Petzinger E., Weidenbach A., 2002. Mycotoxin in feed chain: the role of ochratoxin. *Livest Prod Sci*, 76, 245-250.
  28. Khalailieh AN., 2018. Prevalence of ochratoxin A in poultry feed and meat from Jordan. *Pak J Biol Sci*, 21, 239-244.
  29. Markov K., Pleadin J., Bevardi M., Vahcic N., Sokolic-Mihalak D., Frece J., 2013. Natural occurrence of aflatoxin B 1, ochratoxin A and citrinin in croatian fermented meat products. *Food Control*, 34, 312-317.
  30. Mitchell NJ., Chen C., Palumbo JD., Bianchini A., Cappozzo J., Stratton J., Wu F. 2017. A risk assessment of dietary ochratoxin a in the United States. *Food Chem Toxicol*, 100, 265-273.
  31. Iacumin L., Chiesa L., Boscolo D., Manzano M., Cantoni C., Orlic S., Comi G., 2009. Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiol*, 26, 65-70.
  32. Elghany SM., Sallam KI., 2015. Rapid determination of total aflatoxins and ochratoxins a in meat products by immuno-affinity fluorimetry. *Food Chem*, 179, 253-256.
  33. Armorini S., Altafini A., Zaghini A., Roncada P., 2016. Ochratoxin A in artisan salami produced in Veneto (Italy). *Food Addit Contam Part B*, 9, 9-14.
  34. Murad HO., 2015. Levels of ochratoxin a in chicken livers and meat at Sulaimani City markets. *Int J Mod Sci Technol*, 143, 1-5.
  35. Brase S., Glaser F., Kramer CS., Lindner S., Linsenmeier AM., 2013. The chemistry of mycotoxins, Volume 97 of the series *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 3-21, Springer, Vienna.
  36. Llorens A., Mateo R., Hinojo MJ., Logrieco A., Jimenez M., 2004. Influence of the interactions among ecological variables in the characterization of zearalenone producing isolates of *Fusarium* spp. *Syst Appl Microbiol*, 27,

- 253-260.
37. Goyarts T., Danicke S., Valenta H., Ueberschar KH., 2007. Carry-over of *Fusarium* toxins (deoxynivalenol and zearalenone) from naturally contaminated wheat to pigs. *Food Addit Contam*, 24, 369-380.
  38. Danicke S., Gadeken D., Ueberschar KH., Meyer U., Scholz H., 2002. Effects of *Fusarium* toxin contaminated wheat and of a detoxifying agent on performance of growing bulls, on nutrient digestibility in wethers and on the carry over of zearalenone. *Arch Anim Nutr*, 56, 245-261.
  39. Mahmoudi R., 2014. Occurrence of zearalenone in raw animal origin food produced in North-West of Iran. *J Food Qual Hazards Control*, 1, 25-28.
  40. Yang L., Zhao Z., Wu A., Deng Y., Zhou Z., Zhang J., Hou J., 2013. Determination of trichothecenes A (T-2 toxin, HT-2 toxin, and diacetoxyscirpenol) in the tissues of broilers using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci B*, 942, 88-97.
  41. Wei S., van der Lee T., Verstappen E., van Gent M., Waalwijk C., 2017. Targeting trichothecene biosynthetic genes. In "Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols", Eds., A Moretti, A Susca, Vol 1542, 173-189. Humana Press, New York.
  42. Cavret S., Lecoeur S., 2005. Fusariotoxin transfer in animal. *Food Chem Toxicol*, 44, 444-453.
  43. Wu L., Wang W., Huang R., Cui Z., He L., Yin J., Wang, J., 2013. Deoxynivalenol residues in edible tissue of infested pig. *J Food Agric Environ*, 11, 1129-1133.
  44. Zou Z., He Z., Li H., Han P., Tang J., Xi C., Li X., 2012. Development and application of a method for the analysis of two trichothecenes: Deoxynivalenol and T-2 toxin in meat in China by HPLC-MS/MS. *Meat Sci*, 90, 613-617.
  45. Perrone G., Gallo A., 2017. *Aspergillus* species and their associated mycotoxins. In *Mycotoxigenic Fungi*, 33-49, Humana Press, New York.



## Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) Taşıyıcılığı

Hazel TAMAKAN<sup>1a</sup>, Hüban GÖÇMEN<sup>1b</sup>✉

1. Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.  
ORCID: 0000-0002-5515-9727<sup>a</sup>, 0000-0001-5405-8943<sup>b</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
19.06.2018	11.11.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Tamakan H, Göçmen H:** Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) Taşıyıcılığı. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.,14(1): 98-106, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.434642

**Öz:** Dünya genelinde insan ve hayvanlarda stafilocokal enfeksiyonlar giderek yaygınlaşmaktadır. Normal deri florası üyelerinden olan stafilocoklar, fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Fenotipik karakterde *Staphylococcus intermedius* olarak tanımlanan izolatlar; *S. intermedius* grubunu (SIG) temsilen *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* dahil olmak üzere üç farklı türden oluşmaktadır. *Staphylococcus pseudintermedius*, nispeten yeni bir tür olup kedi ve köpeklerden sıklıkla izole edilebilmektedir. Yakın zamanda, metisilin dirençli *S. pseudintermedius* (MRSP) dünya çapında ortaya çıkmış ve yayılımının giderek artmakta olduğu bildirilmiştir. Günümüzün önemli halk sağlığı sorunlarından olan çoklu antibiyotik dirençliliği, yeni kuşak antibiyotiklerin ve kombinasyonlarının kullanımını zorunlu hale getirmiştir. Antibiyotik dirençliliği kazanmış mikroorganizmalar, bugün nozokomiyal ve halk sağlığı ile ilişkili enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Nitekim bu kapsamda, özellikle metisilin dirençli stafilocok suşları uzun süredir bu enfeksiyonların ortaya çıkışında önemli rol oynayarak, birçok hastanın ölümüne neden olabilmektedir. Veteriner hekimlikte sürekli artan antibiyotik kullanımı, antibiyotik dirençliliğinin yayılmasında önemli rol oynamaktadır. Son zamanlarda insan ve hayvanlarda MRSP taşıyıcılığı ile ilgili çalışmalar; MRSP izolasyonundaki artışı ve bu da özellikle pet hayvan sahiplerine bakterinin taşınmasındaki artışı göstermektedir. Uygulanan tedavilerdeki başarısızlık ise; metisilin direncini temsil eden sefoksitin ve oksasilin antibiyotiklerine karşı dirençlilik mekanizmasının artışı ifade etmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kedi, Köpek, MRSP taşıyıcılığı, *Staphylococcus intermedius* grup, *Staphylococcus pseudintermedius*.

## Transmission of Methicillin Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) in Cats and Dogs

**Abstract:** Staphylococcal infections are increasingly widespread worldwide in humans and animals. Staphylococci, which are members of normal skin flora, can cause various infections as opportunistic pathogens. The isolates identified as *Staphylococcus intermedius* in phenotypic character; *S. intermedius* group (SIG) is composed of three different species including *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* and *S. delphini*. *Staphylococcus pseudintermedius*, a relatively new species, is frequently isolated from cats and dogs. Recently, methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) has emerged worldwide and has been reported increasingly. Multiple antibiotic resistance, one of the public health problems, has made necessary to use new generation antibiotics and combinations. Today, antibiotic resistance of microorganisms causes nosocomial and public health related infections. Methicillin resistant staphylococci strains have played an important role in the emergence of these infections for a long time and cause many patients to die. The increasing use of antibiotics in veterinary medicine plays an important role in the spread of antibiotic resistance. Recent studies about the carriage of MRSP in humans and animals showed that increase of MRSP isolation and related to high rate of bacterial transmission to pet owners. The failure in applied treatments indicates that increased of resistance mechanism against cefoxitin and oxacillin antibiotics which representing methicillin resistance.

**Keywords:** Cat, Dog, Transmission of MRSP, *Staphylococcus intermedius* group, *Staphylococcus pseudintermedius*.

✉Hüban Göçmen

Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti  
e-posta: huban.gocmen@neu.edu.tr



## GİRİŞ

İnsan ve hayvanlarda Stafilocok türleri 'fırsatçı patojen' olarak tanımlanmalarının yanında birçok lokal ve genel irinli infeksiyonlara neden olmaktadır. Veteriner hekimlikte önemli Stafilocok türlerinden biri olan *Staphylococcus pseudintermedius*; deride ve mukozada kommensal olarak bulunabilmekte ve sağlıklı köpeklerin ve kedilerin burun, ağız, farenks, alın, kasık ve anüsünden izole edilebilmektedir. Konakçı direncinin düşmediği ve predispoze faktörler (cerrahi işlemler, atopik dermatitis) tarafından cilt bariyeri etkilenmediği sürece herhangi bir hastalığa neden olmamaktadır (1). *S. pseudintermedius*, fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedir (2). Bunun yanında, *S. pseudintermedius* ile infekte ve/veya kolonize olmuş hayvanlardan insanlara aktarılabilen bu yüzden halk sağlığı açısından endişeye neden olmaktadır. *S. pseudintermedius*, özellikle küçük hayvan veteriner hekimleri ve sahipleri gibi evcil hayvanlarla yakın temasta olan insanların çeşitli infeksiyonlarından da izole edilebilmektedir (3).

### 1. Taksonomi

*Staphylococcus intermedius*; 1976 yılında Hajek (4) tarafından köpek, güvercin, vizon ve atlarda meydana gelen infeksiyonlarda tanımlanmıştır. *S. delphini* 1988 yılında Yunus balıklarından; *S. pseudintermedius* ise 2005 yılında kedi, köpek, at ve papağandan izole edilmiştir. *S. pseudintermedius*, 16S rRNA geni sekans analizi tekniği kullanılarak yeni bir tür olarak tanımlanmıştır. Bu iki bakteri, izolasyonlar sonrasında *S. intermedius* ile ilişkilendirilmiştir. Bazı araştırmacılar farklı kaynaklardan izole ettikleri *S. intermedius* suşlarının genotipik ve fenotipik olarak birbirinden ayrı olduklarını bildirmişlerdir. Bu da heterojen biyotipli *S. intermedius* suşlarının, *S. delphini* ve *S. pseudintermedius* türlerini içerebileceğini kanıtlar niteliktedir. Fenotipik özellikleriyle önceden *S. intermedius* olarak tanımlanan izolatlar

moleküler teknikler kullanılarak tekrar sınıflandırılmış ve sonuçta bu izolatlar 3 kümeye ayrılmıştır. Bunlar; *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini*. Bu gruplandırma ile *S. pseudintermedius* bakteri türünün, *S. intermedius* grubunun (SIG) türlerinden biri olduğu açıklığa kavuşmuştur (5-8).

### 2. Etiyoloji

*Staphylococcus pseudintermedius*, genellikle gruplar halinde bulunan Gram-pozitif koklardan oluşmaktadır. Koloniler, %5-7 koyun kanlı agar da pigmentsiz ve çift zonlu hemoliz ile çevrilidirler. Tamamen hemolitik olmayan dış bant, 4°C'ye (sıcak-soğuk hemoliz) koyulduktan sonra tam hemolize dönüşmekte ve stafilokokal  $\beta$ -hemolizin (sfingomiyelinaz) faktörü sentezlemektedir (5). *S. pseudintermedius*'un biyokimyasal özellikleri tabloda verilmiştir (Tablo 1).

*S. pseudintermedius*, *Staphylococcus aureus*'un bazı virülens faktörleri ile yakından ilişkilidir. Bu virülens faktörleri, konakçı kolonizasyonundan beslenme ve yayılımına kadar olan süreçlerin tümünü kapsamaktadır. *S. pseudintermedius*; koagülaz, proteaz, termonükleaz gibi enzimleri; eksfoliatif toksin, enterotoksin gibi toksinleri üretebilmektedir. Eksfoliatif toksin (SIET), köpek piyodermasında rol oynayan bir virülens faktörüdür, bu toksinin geni esas olarak deri infeksiyonlarından izole edilebilmektedir. Ayrıca *S. pseudintermedius* Luk-I olarak bilinen bir lökotoxin üretmekte ve bu lökotoxin *S. aureus*'da bulunan Panton-Valentine lökositidin'e (PVL) çok benzemektedir. *S. pseudintermedius*'da aksesuar gen düzenleyicisi (agr) homologları da bulunmaktadır. *S. pseudintermedius*'un, bir immünoglobülin bağlayıcı protein olan stafilokokal protein A (spa), stafilokoklara karşı ortaya çıkan antikorlarla çapraz reaksiyona giren proteinler (süperantijenler: SEA, SEB, SEC, SED) ve toksik şok sendrom toksini (TSST-1) ürettiği gösterilmiştir. Köpek piyoderma izolatlarında, diğer stafilokok enterotoksinlerinden farklı olarak enterotoksin C (SEC<sub>canine</sub>) tespit

edilmiştir (2,9). Biyofilm oluşturma kabiliyeti bakteri türleri arasında değişkendir ve *S. pseudintermedius*'un biyofilm oluşturma kabiliyeti tam olarak karakterize edilmemiştir. Yapılan bir çalışmada *S. pseudintermedius* izolatlarının çoğunluğunun biyofilm ürettiği tespit edilmiştir (10).

**Tablo 1:** *Staphylococcus intermedius* grubu (SIG) bakterilerin biyokimyasal özellikleri (5).

**Table 1:** Biochemical characteristics of *Staphylococcus intermedius* group (SIG) (5).

Özellikler	<i>S. pseudintermedius</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. delphini</i>
Aerobiyoz	+	+	+
Katalaz	+	+	+
Koloni çapı > 5mm	+	+	+
Pigment	-	-	-
Koagülaz	+	+	+
Clumping Faktör	-	D	-
Dnaz	+	+	-
Hemoliz	+	+	+
b-Hemolizin	+	+	ND
Asetoin (VP testi)	+	W	-
<b>Asit Üretimi:</b>			
Maltoz	+	-/W	+
Sükroz	+	+	+
D- Trehaloz	+	+	-
D- Ksiloz	-	-	-

ND: not determined, W: weak, D: strain dependent, D+: usually positive, D-: usually negative, VP: Voges-Proskauer.

### 3. Epidemiyoloji

*S. pseudintermedius* fırsatçı bir patojendir ve sağlıklı köpeklerin normal kutanöz mikroflorasının bir parçası olarak bulunur; deriyi, kıl folliküllerini, özellikle burun, ağız ve anüs gibi mukokutanöz alanları kolonize eder. *S. pseudintermedius* sağlıklı köpeklerin %90'ında kolonize olmakta ve deri infeksiyonlarının nedenlerinden biri olarak görülmektedir (11-13). *S. pseudintermedius*'un köpek ve tilki gibi *Canidae* familyasına adapte olan bir tür olduğunu gösteren güçlü epidemiyolojik bulgular vardır (7). Yapılan son çalışmalarda, köpeklerin MRSP insidansında artış olduğu gösterilmiştir (14,15).

Köpeklerde olduğu gibi sağlıklı kedilerde de konjunktival kese, burun, ağız ve anüs bölgelerinden *S. pseudintermedius* izole edilebilmektedir (16-18). Abraham ve ark.'ları (16); sağlıklı kedilerde metisilin dirençli *Staphylococcus (pseudintermedius)*

*intermedius* [MRS(P)I] prevalansını %4 bulurken yangılı deri hastalığına sahip kedilerde ise MRS(P)I izolatı elde edememişlerdir. Ancak bununla birlikte kedilerde üriner sistem infeksiyonları ve otitis eksterna vakalarından MRSP bildirimleri de mevcuttur (19,20). MRSP'nin dermatitisli kedi ve köpeklerden izole edildiği birçok çalışma bulunmaktadır (2,19,21,22).

Taşınma oranı; atopik dermatitisli köpeklerde, sağlıklı köpeklerle karşılaştırıldığında daha yüksektir. Fazakerley ve ark.'ları (13), sağlıklı köpeklerin sadece %37'sinin, atopik köpeklerin ise %87'sinin bu mikroorganizmayla kolonize edildiğini ve atopik köpeklerin birden fazla vücut bölgesinde kolonize olma olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bannoehr ve ark.'ları, köpeklerde *S. pseudintermedius*'un taşınmasına ilişkin verileri gözden geçirmişler ve rapor edilen vücut bölgelerine ait taşınma oranlarını şöyle bildirmişlerdir; burun %31 (%16-64), ağız %57 (%42-74), kasık %23 (%16-38), perineum-rektum %52 (%28-72) (23).

Yavru bir köpek ve annenin vajinasından metisilin dirençli *S. pseudintermedius*'un (MRSP) izole edilmesiyle, vertikal perinatal bulaşmanın meydana geldiğine dair kanıtlar bulunmuştur (23). Paul ve ark.'larının (24) yaptığı çalışmada, vertikal olarak aktarılan suşların uzun süreli kalıcılığı gösterilmiştir. MRSP yönünden klinik semptom gösteren kedi ve köpeklerle temas halinde olan diğer hayvanlar da bakterinin taşınması açısından yüksek risk grubundadır ve sıklıkla hayvanın ev ortamından *S. pseudintermedius* izole edilebilmektedir. Nozokomiyal olarak MRSP'nin bulaşması, Hollanda'da özel bir veteriner kliniğinde belgelenmiştir. MRSP pozitif hayvanlara sahip evlerde çevresel örnekleme ile yapılan çalışmalar, çevrenin yaygın bir şekilde MRSP ile kontamine olduğunu göstermiştir (19).

### 4. Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)

Metisilin dirençli *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP-Methicillin resistant

*Staphylococcus pseudintermedius*) infeksiyonları, veteriner hekimlikte önemli bir problem olarak görülmektedir. MRSP'nin genellikle üç veya daha fazla antimikrobiyal ilaca (tetrasiklinler, trimetoprim-sülfonamidler, fluorokinolonlar dahil, kloramfenikol ve makrolidler) karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. Üç veya daha fazla farklı antimikrobiyal ilaç sınıfına dirençli olan bakteriler, çoklu ilaca dirençli (MDR-Multi Drug Resistance) izolatlar olarak tanımlanmaktadır. MDR izolatları, veteriner hekimlikte uygulanan tedavilerde zorluklar meydana getirmektedir (25,26).

Diğer stafilokoklarda olduğu gibi *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci, modifiye penisilin bağlayıcı protein'in (PBP2a) üretimini kodlayan *mecA* geni ile ilişkilidir.  $\beta$ -laktam antibiyotikleri bakteri hücre duvarı yapımını önlemek için stafilokokların penisilin bağlayıcı proteinlerine bağlanarak etki gösterirler. MRSP'nin modifiye olmuş PBP'i (PBP2a),  $\beta$ -laktamlar için düşük bir affiniteye sahiptir, bu nedenle hücre duvarı yapımı bu antibiyotikler tarafından engellenmemektedir. Böylece antibiyotik mikroorganizmaya etki edememektedir. Bu gen, 'stafilokokal kromozomal kaset' (*SCCmec*) olarak adlandırılan hareketli bir element üzerinde bakterinin kromozomunda bulunmakta ve farklı stafilokok türleri arasında transfer edilebilmektedir (27).

##### 5. *S. pseudintermedius*'un Zoonotik Önemi

*S. pseudintermedius* tipik olarak insanları kolonize etmez ancak köpekler ile sahipleri arasında bulaşma mümkündür. İnsanlar infekte olmuş köpeklerle yakın temasta bulunursa geçici taşıyıcılar haline gelebilmektedir (23). İnsanlarda ilk kez 2006 yılında 60 yaşındaki bir hastanın infekte implante edilebilir kardiyoverter defibrilatöründeki irin ve dokudan *S. pseudintermedius* izole edilmiştir (28). Hollanda'da yapılan bir araştırmada, hayvanlarla teması olmayan insanlardan alınan burun svaplarının sadece %4'ü MRSP pozitif iken, infekte köpekle teması olanların % 36'sı ve kediyle teması olanların

%31'i MRSP pozitif bulunmuştur (29). *S. pseudintermedius*'un neden olduğu dört klinik olgu, 2014-2015 yılları arasında Zaragoza (İspanya) Miguel Servet Üniversitesi Hastanesi'nde bildirilmiştir. Bu dört hastadan ve sahibi oldukları üç köpektten, 7 adet *S. pseudintermedius* suşu izole edilmiştir (30). 2007 yılında Japonya'da bulunan veteriner eğitim hastanesi'nde 17 köpekte ve görevli bir kişide MRSP tespit edilmiştir. Görevliden izole edilen suş ile köpeklerden izole edilen bazı MRSP'ler benzer genotipte ve duyarlılık profilinde bulunmuştur (25). 128 veteriner hekimin dahil edildiği bir çalışmada ise 5 kişi MRSP pozitif bulunmuş ve elde ettikleri datalar ile MRSP'nin zoonotik taşınmasını indirekt olarak göstermişlerdir (3). İnsanlarda ve pet hayvanlarında uygulanan diğer bir çalışmada ise *S. pseudintermedius* izolatlarının; insan derisine kolonizasyonundaki adaptasyon ve infeksiyonda rol oynayan virülens genlerinin varlığı tespit edilmiştir (31).

##### 6. Neden Olduğu İnfeksiyonlar

*S. pseudintermedius*, kedi ve köpeklerin deri ve mukoz membranlarında kommensal olarak bulunabilmekte ve piyoderma, otitis eksterna, apse, yara ve idrar yolu infeksiyonları gibi fırsatçı infeksiyonlara neden olabilmektedir (Tablo 2). Piyoderma, köpeklerde karşılaşılan en yaygın dermatolojik problemdir. Sağlıklı ve deri infeksiyonlu köpeklerde koagülaz pozitif stafilokok prevalansını karşılaştıran bir çalışmada, en yaygın bulunan bakteri türünün *S. pseudintermedius* olduğu ortaya çıkmıştır (20,27,32-35). Kanada'da bir veteriner fakültesinde yapılan araştırmada, stafilokokal piyoderma tedavisinden sonra köpeklerin, deri ve bazı vücut bölgelerindeki MRSP prevalansı araştırılmıştır. Burun deliğinden, rektumdan ve piyodermalı bölgelerden toplam 173 adet svap örneği toplanmış, bunların 78 adedi (%45.1) metisilin dirençli koagülaz pozitif stafilokok (MRCPS) olarak izole edilmiştir. MRSP pozitif piyodermalı 70 köpeğin 51'inde ve MRSP negatif piyodermalı 103 köpeğin 8'inde *S. pseudintermedius* izole edilmiştir (32).

**Tablo 2:** *S. pseudintermedius*'un hayvan türüne göre neden olduğu infeksiyonlar (20,27,32-35).

**Table 2:** Infections of *S. pseudintermedius* according to animal species (20,27,32-35).

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
Köpek	deri infeksiyonları, piyoderma, otitis eksterna, yara infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonları, endometritis, endokarditis ve infekte dikiş hattı
Kedi	deri infeksiyonları, piyoderma, otitis eksterna, yara infeksiyonu, idrar yolu infeksiyonu
İnsan	yara infeksiyonu, postmastektomi infeksiyonu, otitis eksterna, sinüzitis, pnömoni, infekte dikiş hattı, endokarditis, köpek ısırık yaraları ve nozokomiyal infeksiyonlar

Otitis eksternaya neden olan etkenler arasında bakteriler ve mayalar bulunmaktadır. İtalya'da yapılan bir çalışmada; bilateral otitisi olan 74 adet köpeğin her iki kulağından, unilateral otitisi olan 48 adet köpeğin tek kulağından toplamda 122 adet kulak svabı toplanmıştır. Toplam 122 adet köpeğin 31'inde (%25.4) maya türleri, 91'inde (%74.6) bakteri türleri izole edilmiştir. *S. pseudintermedius* prevalansı (%31.5) diğer bakterilere oranla yüksek bulunmuştur (33). Carolina ve ark.'larının (34) yaptığı bir çalışmada otitis eksternalı 52 adet köpeğin her iki kulağından svaplar alınmış ve 31 adet köpekte 44 adet *S. pseudintermedius* suşu izole edilmiştir. Bunların 12'si MRSP olarak tanımlanmıştır.

İsviçre'de idrar yolu infeksiyonu olan üç kediden MRSP izole edilmiş ve bu suşların çoklu ilaç direnci olduğu tespit edilmiştir (20). Rota ve ark.'nın (35) yaptığı bir çalışmada; 27 adet köpekten postpartum 1., 7. ve 15. günlerinde kolostrum ve süt numuneleri toplanmış ve 9 tanesi antibiyotikle tedavi edilmiştir. *S. pseudintermedius*, izole edilen tek koagülaz pozitif stafilocok türü olmuş ve 145 numunenin 66'sında tespit edilmiştir. Bunların 14'ü MRSP ve MDR olarak direnç profilleri göstermişlerdir.

### 7. *S. pseudintermedius*'un ve Metisilin Dirençli *S. pseudintermedius*'un (MRSP) İzolasyon ve İdentifikasyonu

### 7.1. *S. pseudintermedius*'un İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

*Staphylococcus intermedius* grubunun (SIG) bakteri türlerini fenotipik testlerle ayırt etmek zordur. *S. intermedius* ve *S. pseudintermedius*, biyokimyasal testler ile (arginin dihidrolaz testi,  $\beta$ -gentiobiyoz testi ve D-mannitol testi, Voges Proskauer testi) ayırt edilebilmektedir. Buna karşın, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* ayırımında kullanılan biyokimyasal reaksiyonlar arasında pek bir fark yoktur (8). *S. pseudintermedius* nispeten yeni bir türdür ve birçok sistemin veri tabanına dahil edilmeye devam etmektedir. *S. pseudintermedius*, birçok vakada *S. intermedius* veya *S. aureus* olarak yanlış tanımlanabilmektedir (28,36). SIG'nin türleri arasında doğru diferansiyasyonu ancak moleküler yöntemler ile mümkün olabilmektedir. Kısmi *sodA* geni ve *hsp60* geni dizilerine dayanan filogenetik analizler; *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* ve *S. delphini* türleri için ayırt edici ilk moleküler yöntemler olmuştur (8). Bu amaçla; Polimeraz Zincir Reaksiyonu - Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP-PCR), *spa* tiplendirmesi (*spa*-typing) ve Çok Lokuslu Sekans Tiplendirmesi (MLST) gibi teknikler uygulanmıştır. Laboratuvarlar arası karşılaştırmalarda 'Pulsed Field' Jel Elektroforez (PFGE) yöntemini standart hale getirmek, zaman alıcı ve zor olabilmektedir. Bu yöntem, uzun süreli epidemiyolojik taramalar için uygulanmamaktadır ve SIG'nin üyeleri arasında ayırım yapma amacı ile kullanılmamaktadır. Bununla birlikte bu yöntem, infeksiyonlardan elde edilen izolatları analiz etmek ve karşılaştırmak için başarıyla kullanılmıştır (37). Sasaki ve ark.'ları (9) koagülaz pozitif stafilocokların tür tayini için *nuc* gen lokusunu hedef alan bir multipleks PCR yöntemi geliştirmişlerdir.

Bannoehr ve ark.'larının (7) yaptığı bir çalışmada; *pta* geninin dizi analizi ile *S. intermedius* ve *S. delphini*'de mevcut olmayan fakat *S. pseudintermedius* izolatlarında bulunan *Mbol* restriksiyon bölgesinin varlığı ortaya koyulmuştur. Böylelikle, *S. pseudintermedius*'un tanımlanması için basit ve ucuz bir PCR-RFLP yöntemi tasarlamışlardır.

Bu çalışma temelinde Türkiye’de yapılan bir araştırmada, Ankara bölgesinde dermatitisli 53 barınak köpeğinden deri svap örnekleri toplanmıştır. Toplam 53 köpekten 41 adet stafilokok türü izole edilmiştir. Bu izolatların 33’ü (%80.4), *pta* geni PCR-RFLP analizi ile *S. pseudintermedius* olarak tanımlanmıştır (38). Ancak PCR-RFLP yöntemi ile *pta* geninin varlığının araştırılması *S. pseudintermedius*'un tanımlanması için spesifik olmadığı ileri sürülmüştür (39). Verstappen ve ark.’ları (40), *S.pseudintermedius*'un biyoinformatik temelli tüm genom sekans karşılaştırmalarını yapmış ve ortaya koydukları gen dizileri ile Standart ve Gerçek Zamanlı PCR (RT-PCR) metotlarını uygulayarak bu türe spesifik tanımlamalarda bulunmuşlardır.

## 7.2. MRSP'nin İzolasyon ve İdentifikasyon Yöntemleri

Çoğu veteriner tanı laboratuvarında stafilokoklarda metisilin direncinin saptanması için fenotipik yöntemler uygulanmaktadır. Oksasilin veya sefoksitin, daha duyarlı ve daha güvenilir olduğu için metisilin yerine kullanılmaktadır. Bu amaçla, tüp dilüsyon ve disk difüzyon testleri yaygın olarak uygulanmaktadır. *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci için, *S. aureus*'un kriterleri kullanılarak yorumlanan sefoksitin disk difüzyon testi yüksek oranda yanlış negatif sonuçlara yol açmış ve uygun olmadığı bildirilmiştir (41). 2017 yılında Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), M02-A12 ve M07-A10 dökümanları ile *S. pseudintermedius*'un oksasilin duyarlılık kriterlerini yayınlamıştır. *S. pseudintermedius* için; disk difüzyon testinde zon çapları  $\geq 18$ mm ve  $\leq 17$ mm, agar ve tüp dilüsyon testlerinde ise MİK değerleri  $\leq 0.25\mu\text{g/mL}$  ve  $\geq 0.5\mu\text{g/mL}$  'dir (42). 2019 yılında da Avrupa Antimikrobik Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST); Klinik Sınır Değer Tablosuna (Versiyon 9.0) göre *S.pseudintermedius*'un metisilin direncinin taranması için, 1  $\mu\text{g}$  oksasilin diskinin duyarlılık ve dirençlilik zon çaplarını  $S \geq 20$  mm ve  $R < 20$  mm olarak yayınlamıştır (43).

Metisilin direncinin varlığını ortaya koymak için en güvenilir metot, *mecA* geninin PCR metodu ile tespit edilmesidir (38,41). Rutin tanıda bu yöntemi uygulayan çok az laboratuvar bulunmaktadır ve bu tür yöntemlerin yaygın kullanımı ile doğru antibiyotik seçim şansı artmaktadır. MRSA için geliştirilen PBP2a lateks aglütinasyon testi *S. Pseudintermedius* izolatlarına uygulandığında yanlış pozitif reaksiyonlara neden olabilmektedir. Bu yüzden *S. pseudintermedius*'un metisilin direnci varlığı için tek test olarak önerilmemektedir (44). Ayrıca yine MRSA için geliştirilen PBP2a kültür koloni testi de bu amaçla kullanılabilir (45).

## SONUÇ

Evcil hayvanlarda morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biri de metisilin dirençli stafilokokal infeksiyonlardır ve bu infeksiyonlar zoonotik olarak rol oynayabilmektedir. SCCmec elementlerinin farklı stafilokok türleri arasında aktarılması hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı açısından bir endişe kaynağıdır. Yeni SCCmec elementlerinin MRSP'den *S. aureus* gibi diğer stafilokok türlerine aktarılması ve böylesine yeni bir MRSA klonunun meydana gelmesi insan sağlığı açısından gelecekte bir tehdit oluşturabilir. *S. pseudintermedius*'un, *S. aureus* ve *S. intermedius* olarak yanlış tanımlanmalarını önlemek için daha güvenilir teşhis araçları gerekmektedir. Hızlı, kullanımı kolay testler ve moleküler yöntemler, veteriner ve tıbbi laboratuvarlarda *S. pseudintermedius*'un doğru identifikasyonu için gereklidir. MRSP ile infekte olan hayvanlarda çeşitli terapötik stratejilerin etkinliği hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Rubin JE., Chirino-Trejo M., 2011. Prevalence, sites of colonization and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon. Canada J Vet Diagn Invest, 23, 351-354.

2. Fitzgerald RJ., 2009. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. *Vet Dermatol*, 20, 490-495.
3. Paul NC., Moodley A., Ghibaud G., Guardabassi L., 2011. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: Indirect evidence of zoonotic transmission. *Zoonoses Public Hlth*, 58, 533-539.
4. Hajek V., 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. *Int J Syst Bacteriol*, 26, 401-408.
5. Devriese LA., Vancanneyt M., Baele M., Vanechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A., Haesebrouck F., 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase positive species from animals. *Int J Syst Evol Microbiol*, 55, 1569-1573.
6. Varardo PE., Kilpper-Balz R., Biavaasco F., Satta G., Schleifer KH., 1988. *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. *Int J Syst Bacteriol*, 38, 436-439.
7. Bannoehr J., Franco A., Luerscia M., Battisti A., Fitzgerald J., 2009. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Clin Microbiol*, 47, 469-471.
8. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K., 2007. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J ClinMicrobiol*, 45, 2770-2778.
9. van Duijkeren E., Catry B., Greko C., Moreno MA., Pomba MC., Pyoralá S., Ruzauskas M., Sanders P., Threlfall EJ., Torren-Edo J., Törneke K., 2011. Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother*, 66, 2705-2714.
10. Sing A., Walker M., Roussea J., Weese JS., 2013. Characterization of the biofilm forming ability of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *BMC Vet Res*, 9, 93.
11. Allaker RP., Lloyd DH., Simpson AI., 1992. Occurrence of *Staphylococcus intermedius* on the hair and skin of normal dogs. *Res Vet Sci*, 52, 174-176.
12. Griffeth GC., Morris DO., Abraham JL., Shofer FS., Rankin SC., 2008. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Vet Dermatol*, 19, 142-149.
13. Fazakerley J., Nuttall T., Sales D., Schmidt V., Carter SD., Hart CA., McEwan NA., 2009. Staphylococcal colonization of mucosal and lesional skin sites in atopic and healthy dogs. *Vet Dermatol*, 20, 179-184.
14. Kasai T., Saegusa S., Shirai M., Murakami M., Kato Y., 2016. New categories designated as healthcare-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Dogs. *Microbiol Immunol*, 60, 540-551.
15. Priyantha R., Gaunt MC., Rubin JE., 2016. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Can Vet J*, 57, 65-69.
16. Abraham JL., Morris DO., Griffeth GC., Shofer FS., Rankin SC., 2007. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp. *schleiferi*. *Vet Dermatol*, 18, 252-259.
17. Büttner JN., Schneider M., Csokai J., Müller E., Eule JC., 2018. Microbiota of the conjunctival sac of 120 healthy cats. *Vet Ophthalmol*, 00, 1-9.
18. Chrobak-Chimel D., Golke A., Dembele K., Cwiek K., Kizerwetter-Swida M., Rzewuska M., Binek M., 2018. *Staphylococcus pseudintermedius*, both commensal and pathogen. *Med Weter*, 74, 362-370.
19. van Duijkeren E., Kamphuis M., van der Mije IC., Laarhoven LM., Wagenaar JA., Houwers DJ., 2011. Transmission of methicillin-resistant

- Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Vet Microbiol*, 150, 338-343.
20. Wettstein K., Descloux S., Rossano A., Perreten V., 2008. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 150, 339-343.
  21. Bardiau M., Yamazaki K., Ote I., Misawa N., Mainil JG., 2013. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. *Microbiol Immunol*, 57, 496-501.
  22. Outerbridge CA., Affolter VK., Lyons LA., Crothers SL., Lam ATH., Bonenberger TE., Ihrke PJ., White SD., 2018. An unresponsive progressive pustular and crusting dermatitis with acantholysis in nine cats. *Vet Dermatol*, 19, e33.
  23. Bannoehr J., Guardabassi L., 2012. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Vet Dermatol*, 23, 253-266.
  24. Paul NC., Damborg P., Guardabassi L., 2014. Dam-to-offspring transmission and persistence of *Staphylococcus pseudintermedius* clones within dog families. *Vet Dermatol*, 25,3-e2.
  25. Sasaki T., Kikuchi K., Tanaka Y., Takahashi N., Kamata S., Hiramatsu K., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J Clin Microbiol*, 45, 1118-1125.
  26. McCarthy AJ., Harrison EM., Stanczak- Mrozek K., Leggett B., Waller A., Holmes MA., Lloyd DH., Lindsay JA., Loeffler A., 2015. Genomic insights into the rapid emergence and evolution of MDR in *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother*, 4, 997-1007.
  27. Weese JS., van Duijkeren E., 2010. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol*, 140, 418-429.
  28. Van Hoovels L., Vankeerberghen A., Boel A., Van Vaerenbergh K., De Beenhouwer H., 2006. First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *J Clin Microbiol*, 44, 4609-4612.
  29. Guardabassi L., Loeber M., Jacobson A., 2004. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Vet Microbiol*, 98, 23-27.
  30. Lozano C., Rezusta A., Ferrer I., Perez-Laguna V., Zarazaga M., Ruiz-Ripa L., Revillo MJ., Torres C., 2017. *Staphylococcus pseudintermedius* human infection cases in Spain: dog-to-human transmission. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 17, 268-270.
  31. Kmiecik W., Szewczyk EM., 2018. Are zoonotic *Staphylococcus pseudintermedius* strains a growing threat for humans? *Folia Microbiol*, 63, 743-747.
  32. Beck KM., Waisglass SE., Dick HLN., Weese JS., 2012. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their methicillin-resistant or methicillin-sensitive staphylococcal pyoderma. *Vet Dermatol*, 23, 369-375.
  33. Martino LD., Nocera FP., Mallardo K., Nizza S., Masturzo E., Fiorito F., Iovae G., Catalanotti P., 2016. An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania Region, Italy. *Asian Pac J Trop Biomed*, 6, 384-389.
  34. Sherer CB., Botoni LS., Coura FM., Silva RO., Santos RD., Heinemann MB., Costa-Val AP., 2018. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with otitis externa. *Cienc Rural*, 48,1-7.
  35. Rota A., Corro M., Drigo I., Bortolami A., Borjesson S., 2015. Isolation of coagulase-positive staphylococci from bitches' colostrum and milk and genetic typing of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains. *BMC Vet Res*, 11,160.
  36. Schwarz S., Kadlec K., Strommenger B., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and

- Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring programme 2004-2006 in Germany. J Antimicrob Chemother, 61, 282-285.
37. Perreten V., Kadlec K., Schwarz S., Andersson GU., Finn M., Greko C., Moodley A., Kania SA., Frank LA., Bemis DA., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Duim B., Wagenaar JA., van Duijkeren E., Weese JS., Fitzgerald JR., Rossano A., Guardabassi L., 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. J Antimicrob Chemother, 65, 1145-1154.
38. Sareyyüpoğlu B., Müştak HK., Cantekin Z., Diker KS., 2014. Methicillin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from Shelter Dogs in Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 20, 435-438.
39. Slettemeas JS., Mikalsen J., Sunde M., 2010. Further diversity of the *Staphylococcus intermedius* group and heterogeneity in the Mbol restriction site used for *Staphylococcus pseudintermedius* species identification. J Vet Diagn Invest, 22, 756-759.
40. Verstappen KM., Huijbregts L., Spaninks M., Wagenaar JA., Fluit AC., Duim B., 2017. Development of real-time PCR for detection of *Staphylococcus pseudintermedius* using a novel automated comparison of whole-genome sequences. Plos One, 12, e0183925.
41. Schissler JR., Hillier A., Daniels JB., Cole LK., Gebreyes WA., 2009. Evaluation of clinical laboratory standards institute interpretive criteria for methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. J Vet Diagn Invest, 21, 684-688.
42. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2017. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M02-A12/M07-A10, CLSI Standards and Guidelines, Wayne, PA.
43. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019.
44. Pottumarthy S., Schapiro JM., Prentice JL., Houze YB., Swanzy SR., Fang FC., Cookson BT., 2004. Clinical isolates of *Staphylococcus intermedius* masquerading as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol, 42, 5881-5884.
45. Arnold AR., Burnham CA., Ford BA., Lawhon SD., McAllister SK., Lonsway D., Albrecht V., Jerris RC., Rasheed JK., Limbago B., Burd EM., Westblade LF., 2016. Evaluation of an immunochromatographic assay for rapid detection of penicillin-binding protein 2a in Human and Animal *Staphylococcus intermedius* Group, *Staphylococcus lugdunensis*, and *Staphylococcus schleiferi* Clinical Isolates. J Clin Microbiol, 54, 745-748.







## Sütçü İneklerde Mastitis Yönünden Kuru ve Geçiş Dönemlerinin Önemi

Serdal KURT<sup>1a</sup>, Hatice Esra ÇOLAKOĞLU<sup>1b</sup>, Murat Onur YAZLIK<sup>1c</sup>, Mehmet Rifat VURAL<sup>1d</sup>, Şükrü KÜPLÜLÜ<sup>1e</sup>✉

1. Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.  
ORCID: 0000-0002-0191-3245<sup>a</sup>, 000-0001-8217-5151<sup>b</sup>, 0000-0002-0039-5597<sup>c</sup>, 0000-0001-7252-7977<sup>d</sup>, 0000-0001-7488-9736<sup>e</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
16.03.2018	11.11.2018	28.04.2019

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

Serdal K, Çolakoğlu HE, Yazlık MO, Vural MR, Küplülü Ş: Sütçü İneklerde Mastitis Yönünden Kuru Ve Geçiş Dönemlerinin Önemi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 14(1): 107-113, 2019. DOI: 10.17094/ataunivbd.407022

**Öz:** Sütçü işletmelerin en maliyetli sorunlarından biri olan mastitis, meme bezinin yangısı olarak tanımlanmaktadır. Mastitis insidansı yönetim şartlarına göre değişmekte olup %50-75 oranında kuru ve geçiş dönemlerinden köken alır. Kuru dönem; doğumdan önceki laktasyonsuz evre olarak tanımlanırken, geçiş dönemi; prepartum ve postpartum 3 haftalık süreç olarak tanımlanmaktadır. İnekler kuru dönemin ilk iki ve son iki haftasında mastitise karşı oldukça duyarlıdır. Bu zaman dilimlerinde meme hassasiyetinin nedenleri; memenin anatomik, hücresel ve humoral değişiklik geçirmesi ile immun sistemde yetersizliklerin oluşması olarak görülmektedir. Kuru dönemin başında kontagiyöz ve çevresel etkenler sorun oluştururken kuru dönemin sonunda çoğunlukla çevresel patojenler risk teşkil etmektedir. Sunulan derlemede amaç; mastitisleri önleme çalışmalarında kuru dönem yönetiminin önemine değinmektir. Bu aşamada ilk hedef; genel sağlığı koruyarak çevre ve barınak şartlarını iyileştirip her türlü stres faktörünü engellemek olmalıdır. Sonraki adım ise; ineklerin laktasyondaki sağlık kayıtları ve süt verimleri göz önünde bulundurularak uygun protokollerle kuruya alınması olmalıdır. Ayrıca kuru dönemde enerji metabolizması pozitifte tutulmaya çalışılarak vücut kondisyon skoru ideal sınırlarda tutulmalıdır. Bunların yanında hijyenik şartlar iyileştirilerek aşı, vitamin ve iz element uygulamaları yapılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Geçiş Dönemi, İnek, Kuru Dönem, Mastitis.

## Importance of Dry and Transitional Period in Terms of Mastitis in Dairy Cows

**Abstract:** Mastitis, one of the most costly problems of dairy farms, is defined as inflammation of mammary gland. Incidence of mastitis varies according to management conditions. But, 50-75% of mastitis originates from dry and transition periods. The dry period is defined as non-lactation stage before parturition. The transition period is defined as the last three weeks before parturition to three weeks after parturition. Cows are very sensitive to mastitis during the first two and last two weeks of the dry period. This is due to anatomical, cellular and humoral changes in mammary at these stages, resulting in deficiencies in the immune system. Environmental pathogens create risk at the beginning and end of the dry period whereas contagious pathogens usually are problem at the beginning of the dry period. In presented review, it is aimed to emphasize importance of the dry period management in mastitis prevention. In this case, first goal should be to maintain general health, to improve environment and shelter conditions and to prevent any stress factor. Afterward, cows should be dry with appropriate protocols according to their health and yield status. In addition, body condition and energy metabolism should be kept at balance level. Also, vaccination, vitamin and trace element administrations should be performed and hygienic conditions must be improved.

**Keywords:** Cow, Dry Period, Mastitis, Transition Period.

✉ Şükrü Küplülü

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.  
e-posta: skuplulu@ankara.edu.tr

## GİRİŞ

Mastitis enfeksiyöz (bakteri, virüs, mantar ve algler) ve enfeksiyöz olmayan (fiziksel ve kimyasal) etkenlere karşı (1) memenin göstermiş olduğu anatomik, hücresel ve humoral yanıt neticesinde meme bezinin yangısı olarak tanımlanmaktadır (2). Ayrıca mastitis meme dokusunun fizyolojik ve fonksiyon bozukluğu ile karakterize olup süt kalite ve miktarını etkileyen bazı durumlarda ölümlerle sonuçlanan sütçü sürülerin, patolojik, ekonomik (3) ve multifaktöriyel problemi olarak bilinmektedir (4). Sütçü sürülerde sürüden çıkarılma oranı ortalama %31.5 olup bu oranın %79.5'i sağlık sorunları ile ilişkili tutularak (5) önemli bir kısmını mastitislerin oluşturduğu bildirilmiştir (Tablo 1) (6). Üretim problemlerin neden olduğu ekonomik kayıplarda ise sadece mastitislerin payı %38 olarak hesaplanmıştır (1). Ayrıca mastitislerin laktasyon süresince %77.7'ye kadar süt kaybına neden olabildiği bildirilmiştir (7).

**Tablo 1.** Sütçü sürülerde mastitislerden kaynaklı sürüden çıkarma oranı.

**Table 1.** Mastitis related culling rates in dairy herds.

Mastitis kaynaklı sürüden çıkarma oranı (%)	Referans
39.4	Guimaraes ve ark. (7)
24-31	Taponen ve ark. (8)
34	Hertl ve ark. (6)

Mastitislerin neredeyse tamamı çevresel (*Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Klebsiella* spp.) ve kontagiyöz (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma* spp.) bakteri kaynaklı olup (9) mastitis olgularının %80'inde *E. coli*, *S. uberis*, *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir. Ayrıca mastitisin minör etkenleri (Koagülaz Negatif *Staphylococci* ve *Coryneform*) meme florasında yaşamakta olup immunitenin zayıfladığı durumlarda enfeksiyon oluşturmaktadır (1).

Mastitisler dünya genelinde %23.2 ile %81.1 arasında prevalans göstererek klinik ve subklinik olarak seyretmektedir (9). Mastitislerin insidansı yönünden Türkiye'ye ilişkin spesifik çalışma yokken dünya genelinde bakım, besleme, çevre ve barınak şartlarının kötü olduğu sürülerde subklinik ve klinik mastitislerin insidansının sırasıyla %60 ve %54.6 gibi yüksek düzeylere çıktığı kaydedilmiştir (10).

Mastitislerin ortaya çıktığı zaman dilimi ve majör etken özellikleri: Mastitisler %50-75 oranında KD başı, periparturient dönemin sonunda ve laktasyonun ilk haftalarında görülmekte olup (11) çoğunlukla doğuma kadar subklinik devam ederken postpartum ilk 60 günde klinik bir hal almaktadır (Şekil 1) (12). Dolayısı ile mastitisleri önleme çalışmalarında doğumdan önceki 45-60 gün arasında değişen laktasyonsuz evre olarak bilinen KD (2, 10, 14) ile prepartum ve postpartum 3 haftayı kapsayan GD yönetimine önem verilmektedir (5). Kuru dönemin başında kontagiyöz ve koliform etkenlere dayalı mastitisler görülürken (14) KD'nin sonunda daha çok koliform etkenlere bağlı mastitisler ortaya çıkmaktadır (2). Koliform bakterilerden *E. coli* meme enfeksiyonu oluşturan en yaygın etken olup kontaminasyon kaynağı ise dışkı ve çevre olarak bildirilmiştir (15). Koliform mikroorganizmaların üremesinde anerobik ortamın, demirin ve laktozun önemi bilinmektedir. Kontagiyöz mikroorganizmaların başında gelen *S. agalactiae* ve *S. aureus*'un memeyi kontamine etmesinde sağım ekipmanları, çalışanların elleri ve işletmedeki mastitisli inekler önemli risk kaynağı oluşturmaktadırlar. Bu patojenler hücre içine, süt kanalına ve sekretorik dokulara kolonize olabilmelerinden ve inekler arası bulaşabildiklerinden dolayı mücadelenin zor olduğu bilinmektedir (2).



**Şekil 1.** Sütçü ineklerde meme içi enfeksiyonlarının risk teşkil ettiği dönemler (13).

**Figure 1.** Intra-mammary infection periods constitute risk (13).

### 1. Kuru Dönem Meme Fizyolojisi, Yeni Meme İçi Enfeksiyonları Ve Etiyopatogenezi

Kuru dönem süresince meme, sağımın kesilmesi ile başlayan aktif involüsyon, meme bezinin tamamen involüye olduğu durağan involüsyon ve epitel hücrelerinde süt sentezinin yeniden başlaması ve immunglobulin (Ig) birikimi ile karakterize kolostrogenesis-laktogenesis evresi olmak üzere üç farklı fizyolojik evre geçirerek kendini sonraki laktasyona hazırlamaktadır (2). İnvölüsyonun başında memede kalan sütün artması ile keratin plak oluşumu gecikmektedir (16). Ayrıca involüsyonun başında meme salgısında immun hücre, Ig ve laktoferrin (LF) düzeyi yetersiz olup; yağ, kazein, laktoz ve sitrat oranının yüksek olması, makrofajların epitel hücre döküntülerini uzaklaştırmakla meşgul oluşu bakterilerin memeye girip çoğalması için uygun ortamı sağlayarak mastitis riskini artırmaktadır (17). Kuru dönem ilerledikçe meme salgısında bakteriyostatik bir protein olan LF konsantrasyonu artarak ortamdaki demiri bağlaması sonucu üremek için demire ihtiyaç duyan bakterilerin çoğalmasını engeller (16). Ancak, meme florasının zorunlu patojenleri olan kontagiyöz mastitis etkenleri derideki çatlak ve yaralara kolonize olabildikleri için KD tedavisi uygulanmayan ineklerde KD'nin ilk iki haftası risk teşkil etmektedir (18). Kuru dönemin ortalarında sekretorik hücrelerin aktivitesi durarak LF konsantrasyonunun artışı, yağ ve kazein oranının azalışı ile ilgili lökosit fonksiyonunun daha etkin olmasından dolayı mastitis insidansının çok düşük olduğu gözlenmiştir (16). Kuru dönemin sonunda çoğunlukla çevresel patojenlerden kaynaklanan

mastitis insidansı artmakta olup bunun temel nedenleri; fagositik kapasitenin düşüşü, süt sentezinin yeniden başlaması, keratin plak yapısının bozulması, meme salgısındaki LF konsantrasyonunun eski haline dönmeye başlaması ve kortikosteroid düzeyinin artarak immun sistemi baskılaması olarak bilinmektedir (19).

### 2. Meme Sağlığı Yönünden Kuru Dönemin Sevk ve İdaresi

Kuru dönemin temel amaçları; a) var olan enfeksiyonları tedavi etmek, b) yeni enfeksiyonların oluşumunu engellemek, c) yüksek ve kaliteli süt üretimi için meme sağlığını korumak, d) bu amaçlara ulaşmak için çok sayıda faktörün olumsuz etkisinden korunma olarak bildirilmiş olup (20) temel bileşenler aşağıda değerlendirilmiştir.

#### 2.1. Genel Sağlık, İklim, Çevre ve Çevre Hijyeninin Korunması

Meme sağlığının korunmasında öncelikli faktör koruyucu hekimliğin yanı sıra hayvanların fizyolojik yaş ve durumlarına göre beslenmeleridir. Hayvanların ideal vücut kondisyon skorunu (VKS) koruyup negatif enerji dengesine girmelerine ve ani VKS değişimine engel olarak immun hücre fonksiyonları üst sınırdaki tutulmaya çalışılmalıdır (21). Sonraki adım ise hayvanların yaşam alanlarının denetimidir. Koliform bakterilerin doğal yaşam alanı dışı, toprak, altlık, kontamine su ve besinler olduğundan bu alanlarda hijyene özen gösterilmelidir. Özellikle su ve yemler genel sağlığı bozacak her türlü kontaminasyondan arı olmalıdır (16). İneklerin yaşam alanı geniş tutulup hiyerarşi önlenmelidir (10). Ayrıca kronik mastitisli inekler sürüden çıkarılıp (20) inek ve düveler ayrılarak her türlü stres faktörü ile mücadele edilmelidir (19). Aynı zamanda çevre sıcaklığının hayvanların genel sağlığı etkilediği görülmektedir. Kuru dönemde ineklerin yaşam alanlarında sıcaklık nem oranı 68'in üstüne çıktıkça (22) kuru madde alımının düşüp karbonhidrat, lipid ve su metabolizmasının değiştiği görülmektedir. Sıcaklık stresinde birçok hormonun konsantrasyonu ve vücudun homeostazisi değişerek

metabolizmanın yavaşladığı, perifer dolaşımın hızlanıp meme içi kan akışının azalarak, apoptozisinin arttığı, immun hücrelerin fonksiyonunun bozulduğu ve sonuçta mastitis olgularının arttığı bildirilmiştir (23).

## 2.2. Meme Sağlığı Açısından Uygun Kuruya Alma Yöntemleri

Kuru dönemin başı meme sağlığının korunması, yeni enfeksiyonların oluşumu ve var olan enfeksiyonların tedavisinin başladığı evre olması açısından önemlidir (24). Kuruya çıkarma yöntemleri aralıklı sağım veya sağımı birden durdurma olarak bilinmektedir. Aralıklı sağım ile kuruya alınan ineklerde mastitis insidansını azalmakta (25) ancak süt kalitesini bozması yönünden kolektif işletmelerde sorun oluşturmaktadır (13). Aniden süttan kesmenin ise mastitis insidansını artırdığı göz önünde bulundurulmalıdır. Dolayısı ile kuruya çıkarma yöntemlerinde süt verimi dikkat alınmalıdır. Laktasyon sonu süt üretimi fazla (25-30 kg/gün) olan ineklerde aniden süttan kesme ile kuruya alındığında, memeden süt sızıntısı artarak keratin plak oluşumunun geciktiği (25), patojen girişinin kolaylaştığı ve meme içi lökositlerinin fonksiyonunun azalttığı tespit edilmiştir (26). Bununla birlikte KD'ye girişte 12.5 kg'dan fazla süt üretiminde, her 5 kg süt için doğumda yeni meme içi enfeksiyon insidansının %77'ye kadar arttığı tespit edilmiştir (19). Kuruya alınma esnasında süt üretimi fazla olan riskli ineklerde prolaktinin antagonistleri (Kabergolin ve kinagolidler gibi D2 reseptör agonistleri) süt salgısını durdurmak amacıyla uygulanmaktadır. Prolaktin antagonistlerinin meme epitel hücrelerinin poliferasyonunu ve yaşam sürelerini kısaltarak süt protein mRNA sentezini azalttıkları bilinmektedir (26).

## 2.3. Kuru Dönem Tedavisi

Günümüzde antibiyotik dirençliği ve antibiyotik kalıntısı göz önüne alındığında (27) antibiyotik uygulamaksızın memenin sağlığını korumak en ideal olmakla birlikte seleksiyon sonucu ineklerin laktasyon verimlerinin artması meme sağlığı

açısından predispozisyon faktörü oluşturduğu düşünüldüğünde belirli kriterlere göre meme içi antibiyotik uygulamaları ağırlık kazanmaktadır (16). Laktasyon sonunda uzun etkili meme içi veya sistemik antibiyotik uygulamaları bazen de kısa süreli antibiyotik uygulaması yapılmaktadır (27). Sağaltım seçici ve genel olmak üzere uygulanır. Kuru dönem tedavisinin amacı; sadece var olan enfeksiyonu elimine etmek değil aynı zamanda KD'nin herhangi bir evresinde ve erken laktasyonda memeyi yeni enfeksiyonlara karşı korumaktır (28).

### 2.3.1. Genel Tedavi

Kuruya alınacak bütün ineklere uygulanmaktadır (14). Sublinik ve özellikle kontagiyöz etkenlerin neden olduğu yeni enfeksiyonların önlenmesi amacı ile uygulanmaktadır. Genel tedavi uygulanmayan sürülerde KD'nin ilk iki haftasında kontagiyöz etkenlerden kaynaklanan mastitis insidansının laktasyon dönemine göre 5-7 kat arttığı görülmüştür. Bütün meme loblarının tedaviye tabi oluşu, test masrafının olmayışı ve sürü bazında etkin koruma sağlaması avantaj sayılmaktadır (18).

### 2.3.2. Selektif Tedavi

Kriterlere göre hayvan seçilip bazı durumlarda sadece enfekte meme lobu tedavi edilmektedir (14). Sağaltımın etkinliğini artırmaya yönelik etken izolasyonu ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılması önerilmektedir (18). Seçici KD tedavisine karar vermeden önce ineğin mastitis geçmişi, laktasyondaki *S. aureus* geçmişi ve laktasyonun son üç ayındaki somatik hücre sayısı (>200.000 hücre/ml) dikkate alınmalıdır (29). Bu yöntem antibiyotik direncinin minimize edilmesi ve etkin sağaltım açısından avantaj sağlamaktadır. Sağaltım başarısı beslenme, barınma, stres ve ilaç uygulama yöntemi gibi faktörlerle ilişkili olmakla birlikte, KD uygulamalarının var olan enfeksiyonları %70-98 (30), doğumdan sonraki klinik mastitis oranını ise %50'ye yakın azalttığı bildirilmiştir (28). Ancak bazı preparatların dışında KD tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin etkinlik süresinin KD'den daha kısa

planlanması, kolostrumun antibiyotik kalıntılarında ari olmasının istenmesi, bu dönemde LF oranının az olmasından dolayı daha çok genel immunolojik ve hijyenik tedbirlere önem verilmelidir (16).

#### 2.4. Kuru Dönemde Teat Dipping ve Teat Sealing Uygulamaları

Mastitise neden olan bakterilerle mücadelede meme başının dezenfeksiyonu amaçlı teat dipping (31) ve patojenlerin girişine fiziksel bariyer görevi gören keratin plak oluşumunu taklit etmek amacı ile teat sealing uygulamaları (13, 28) özellikle *E. coli* gibi çevresel kaynaklı enfeksiyonlarının insidansını önemli ölçüde azaltmaktadır (31). Meme enfeksiyonların %96'sının duktus papillarisden giren patojenlerden kaynaklandığı göz önünde bulundurulduğunda KD'de meme başının dezenfeksiyonun ve meme başı kanalının silikon tıkaçlarla kapatılmasının pratik önemi olduğu ortaya çıkmaktadır. Kuruya alınan ineklerin %45-55'sinde ilk 7 gün boyunca (28) %5'ininde ise KD süresince, KD'nin son haftası ise bütün ineklerde meme başı kanalının açık olması enfeksiyonun oluşması açısından önemlidir (16). Kuru dönem süresince mastitislerin %97'sinin keratin plağın henüz oluşmadığı veya yapısının bozulduğu dönemlerde meydana geldiği görülmektedir (28).

#### 2.5. Kuru Dönem Aşılması

Mastitislerle mücadele stratejilerin biri de aşı uygulaması olup (3) önkoşulun hijyen olması şartıyla özellikle çevresel patojenlere karşı etkin sonuç alınmaktadır (15). Koliformların hücre duvarındaki zayıflıktan faydalanarak geliştirilen bu aşılar *E. coli* J5 ve *S. typhimurium* Re-17 bakteri toksoitleri olarak belirtilmektedir. Aşı uygulamaları ile sadece *E. coli*'ye karşı başarılı sonuç alınırken diğer koliform bakterilerden kaynaklanan mastitislerin klinik belirtilerini azalttığı bildirilmiştir (15). Bu amaçla *E. coli*'nin J5 suşunun kullanımı ile %80'e kadar başarı elde edildiği rapor edilmiş olup maksimum immunité için doğumdan önceki 30 gün ve doğumdan sonraki 7 gün aralığında kullanılması önerilmektedir (3). *S. aureus* gibi kontajiyöz etkenlerin neden olduğu mastitisleri önlemek için DNA ve rekombinant

protein aşıları üretilse de bu patojenlerin genetiğini ve formunu değiştirebilmelerinden dolayı aşı başarısı düşüktür. Ayrıca bu aşuların koruma amaçlı kullanımından ziyade tedavisinde başarıyı artırmak için kullanıldığı bildirilmiştir (32).

#### 2.6. Kuru Dönemde Vitamin ve İz Element Uygulamaları

İdeal bir meme sağlığı için KD'ye girişte ve GD'de vitamin ve iz elementlerinin plazma konsantrasyonu önemlidir. Geçiş dönemi ineklerine selenyum, bakır, çinko gibi iz elementlere ek A ve E vitaminlerinin sağlanması; lökositlerin fagositoz yeteneklerini ve göçünü artırarak perifer dolaşım ile memede oksidatif metabolizmayı iyileştirip immunitéyi yükselttiği kaydedilmiştir (18). Doğum esnasında plazma  $\alpha$ -tokoferol konsantrasyonu (normal değer 3.5-4 mg/ml) 3mg/ml den düşük olan inekler yüksek konsantrasyona sahip ineklerle kıyaslandığında laktasyonun ilk 7 günü mastitis insidansının 9.4 kat arttığı görülmüştür. Ayrıca prepartum 1. haftada serum retinol konsantrasyonunun normal değerinin (190-250 ng/mL) üzerinde her 100 ng/mL oranında artışı ile postpartum ilk haftada klinik mastitis insidansını %60 oranında düşürdüğü saptanmıştır (33). Prepartum 3 hafta süresince selenyum ve vitamin E'nin (740 IU/gün) oral uygulanması ile mastitis insidansının %37 klinik semptomlarının ise %62 oranında düştüğü gözlenmiştir (34).

#### SONUÇ

Mastitisler sütçü işletmelerde ekonomik kayıplara neden olan sorunların başında gelmektedir. Mastitislere karşı amaç daima korunma olmalıdır. Bu amaçla temel hedefler; hastalıklara karşı genetik kabiliyeti yüksek hayvan seçimi, kronik mastitisli ineklerin sürüden çıkarılması, çevre denetimi, hijyenik besleme, barınak şartlarını iyileştirip stres faktörlerini uzaklaştırma olmalıdır. Ayrıca mastitisle mücadelede ineklerin yaşam döngüsünde kritik evreler olan KD ve GD yönetimine önem verilmelidir. Bu evrelerde ineklerin uygun sevk ve idare protokollerine tabi oluşu postpartum dönemde mastitislerin insidansı ve şiddetini azaltmaktadır.

Böylece laktasyon döneminde daha kaliteli ve daha fazla süt elde edilmesi ile karlılığın ideal sınırlarda tutulmasına katkı sağlanmaktadır.

#### KAYNAKLAR

- Bradley AJ., 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J*, 164, 116-128.
- Biggs A., 2009. Mastitis in cattle. 1th ed., 31-65, The Crowood Press, Marlborough.
- Gomes F., henriques M., 2016. Control of bovine mastitis: Old and recent therapeutic approaches. *Curr Microbiol*, 72, 377-382.
- Baştan A., Salar S., Cengiz M., Darbaz I., Demirel MA., Özen D., 2015. The prediction of the prevalence and risk factors for subclinical heifer mastitis in Turkish dairy farms. *Turk J Vet Anim Sci*, 39, 682-687.
- Roberts T., Chapinal N., LeBlanc SJ., Kelton DF., Dubuc J., Duffield TF., 2012. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *J Dairy Sci*, 95, 3057-3063.
- Hertl JA., Schukken YH., Tauer LW., Welcome FL., Gröhn YT., 2018. Does clinical mastitis in the first 100 days of lactation predict increased mastitis occurrence and shorter herd life in dairy cows? *J Dairy Sci*, 101, 2309-2323.
- Guimaraes JL., Brito MA., Lange CC., Silva MR., Ribeiro JB., Mendonça LC., Souza GN., 2017. Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. *Prev Vet Med*, 142, 46-50.
- Taponen S., Liski E., Heikkilä AM., Pyörala S., 2017. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *J Dairy Sci*, 100, 493-503.
- Abebe R., Hatiya H., Abera M., Megersa B., Asmare K., 2016. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Vet Res*, 12, 270.
- Sundrum A., 2015. Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. *Animals*, 5, 978-1020.
- Hoque MN., Das ZC., Rahman ANMA., Hoque MM., 2016. Effect of administration of vitamin E, selenium and antimicrobial therapy on incidence of mastitis, productive and reproductive performances in dairy cows. *IJVSM*, 4, 63-70.
- Leelahapongsathon K., Piroon T., Chaisri W., Suriyasathaporn W., 2016. Factors in Dry Period Associated with Intramammary Infection and Subsequent Clinic Mastitis in Early Postpartum Cows. *Asian-Australasian j Ani Sci*, 29, 580.
- Baştan A., 2013. İneklerde Meme sağlığı ve Sorunları. 1th ed., 204-220, Kardelen Ofset, Ankara.
- Sandholm M., Honkanen-Buzalski T., Kaartinen L., Pyörola S., 1995. The bovine udder and mastitis. 1th ed., 209-2019, University of Helsinki, Finland.
- Hogan J., Smith KL., 2003. Coliform mastitis. *J Vet Res*, 34, 507-519.
- Bradley AJ., Green MJ., 2004. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Vet Clin N Am-Food A*, 20, 547-568.
- Ollier S., Zhao X., Lacasse P., 2013. Effect of prolactin-release inhibition on milk production and mammary gland involution at drying-off in cows. *J Dairy Sci*, 96, 335-343.
- Smith KL., Hogan JS., 1999. Managing dry cows to control mastitis. In *Proceedings of the British Mastitis Conference*, 79-86.
- Pyörala S., 2008. Mastitis in Post-Partum Dairy Cows. *Reprod Domest Anim*, 43, 252-259.
- Küplülü Ş., Vural MR., 2016. Büyük Ruminantlarda Meme Sağlığı Kontrol Programları. In "Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları", Ed., M Kaymaz, M Fındık, A Rişvanlı, A köker, 1th ed., 261-294, Medipres, Ankara.
- Ingvarstsen KL., Moyes K., 2013. Nutrition, immune function and health of dairy cattle.

- Animal, 7, 112-122.
22. Fabris TF., Laporta J., Corra FN., Torres YM., Kirk DJ., McLean DJ., Dahl GE., 2017. Effect of nutritional immunomodulation and heat stress during the dry period on subsequent performance of cows. *J Dairy Sci*, 100, 6733-6742.
23. Tao S., Dahl GE., 2013. Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *J Dairy sci*, 96, 4079-4093.
24. Baştan A., Cengiz M., 2010. Kuru dönemin meme sağlığı açısından önemi ve kuru dönem tedavisi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 1, 14-21.
25. Bertulat S., Isaka N., De Prado A., Lopez A., Hetreau T., Heuwieser W., 2017. Effect of a single injection of cabergoline at dry off on udder characteristics in high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci*, 100, 3220-3232.
26. Boutinaud M., Isaka N., Gandemer E., Lambertson P., Wiart S., Taranilla ADP., Lollivier V., 2017. Inhibiting prolactin by cabergoline accelerates mammary gland remodeling during the early dry period in dairy cows. *J Dairy Sci*, 100, 9787-9798.
27. Cengiz M., 2009. İneklerde kuru dönem mastitise karşı koruyucu yaklaşımlar. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 4, 215-222.
28. Golder HM., Hodge A., Lean JJ., 2016. Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation. *J Dairy Sci*, 99, 7370-7380.
29. Ellis K., 2015. Organic Dairy Farms. In "Bovine Medicine", Ed., PD Cockcroft, 3 ed., 476-484, John Wiley & Sons, Iowa.
30. Eberhart RJ., 1986. Management of dry cows to reduce mastitis. *J Dairy Sci*, 69, 1721-1732.
31. Foret C., Agüero H., Janowicz P., 2006. Efficacy of two barrier iodine teat dips under natural exposure conditions. *J Dairy Sci*, 89, 2279-2285.
32. Barkema HW., Schukken YH., Zadoks RN., 2006. The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci*, 89, 1877-1895.
33. Lean JJ., Van Saun R., DeGaris PJ., 2013. Mineral and antioxidant management of transition dairy cows. *Vet Clin North Am-Food A*, 29, 367-386.
34. Spears JW., Weiss WP., 2008. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Vet J*, 176, 70-76.





## DÜZELTME

**Makale Başlığı:** *Dişi Köpeklerde İdrar Kesesi Hastalıklarının Radyografik, Ultrasonografik ve Endoskopik Yöntemlerle Belirlenmesi*

**Makale Künyesi:** Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 13 (3): 317-325, 2018.  
DOI:10.17094/ataunivbd.382461

**Düzeltilme Notu:** Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2018: 13(3) sayısında 317-325. sayfalarda yayımlanan "Dişi Köpeklerde İdrar Kesesi Hastalıklarının Radyografik, Ultrasonografik ve Endoskopik Yöntemlerle Belirlenmesi" başlıklı makalenin ilk sayfasının dipnotuna "Bu yüksek lisans tezi; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından TSY-11-3467 kodlu proje olarak desteklenmiştir " ifadesi eklenmiştir.

## CORRECTION NOTICE

**Article Title:** *Determination of Methods Radiographic, Ultrasonographic and Endoscopic of Urinary Bladder Diseases in Female Dogs*

**Article ID:** Atatürk University J. Vet. Sci., 13 (3): 317-325, 2018. DOI:10.17094/ataunivbd.382461

**Correction Notice:** The first page of the article titled "Determination of Methods Radiographic, Ultrasonographic and Endoscopic of Urinary Bladder Diseases in Female Dogs" published in Atatürk University Journal of Veterinary Science in the issue of 2018:13 (3) and pages 317-325 "This master thesis was supported by Scientific Research Projects Coordination of Erciyes University, project number TSY-11-3467" has been added to the footnote of this article.



## Dişi Köpeklerde İdrar Kesesi Hastalıklarının Radyografik, Ultrasonografik ve Endoskopik Yöntemlerle Belirlenmesi\*

Nusret APAYDIN<sup>1</sup>, Hüseyin ERMİN<sup>2</sup>

1. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.
2. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
22.01.2018	04.04.2018	25.12.2018

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

Apaydın N, Ermin, H: Dişi Köpeklerde İdrar Kesesi Hastalıklarının Radyografik, Ultrasonografik ve Endoskopik Yöntemlerle Belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 13 (3): 317-325, 2018. DOI:10.17094/ataunivbd.382461

**Öz:** Bu çalışmanın amacı dişi köpeklerde idrar kesesi hastalıklarının radyografik, ultrasonografik ve endoskopik yöntemler uygulanarak belirlenmesi, bu yöntemlerin karşılaştırmalarının yapılarak avantaj ve dezavantajlarının saptanmasıdır. Çalışmanın materyalini; Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine idrar kesesi hastalığı şüphesi ile getirilen değişik yaş ve ırkta 25 sahipli dişi hasta köpek oluşturdu. Bütün olgularda radyografik, ultrasonografik ve endoskopik yöntemlerle muayeneler yapılarak hastalıklarının kesin tanısı konuldu ve bulgular kaydedildi. Radyografide %64, ultrasonografide %96, endoskopide ise %100 başarı elde edildi. Sonuç olarak; dişi köpeklerde idrar kesesi hastalıklarının kesin tanısında endoskopi ve ultrasonografinin radyografiye göre daha avantajlı ve başarılı olduğu saptandı. Radyografinin tek başına yeterli olmadığı, ancak kesin tanı için destekleyici bir yöntem olabileceği belirlendi. Ultrasonografinin ise kesin tanı için yeterli olabileceği, ancak diğer metotlarla desteklenmesi gerektiği gözlemlendi. Endoskopinin tek başına kullanılabileceği ve kolaylıkla uygulanabilen noninvaziv bir görüntüleme yöntemi olduğu belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Endoskopi, İdrar kesesi, Köpek, Radyografi, Ultrasonografi.

## Determination of Methods Radiographic, Ultrasonographic and Endoscopic of Urinary Bladder Diseases in Female Dogs

**Abstract:** The aim of this study was determination of the urinary bladder diseases on female dogs with radiographic, ultrasonographic and endoscopic methods and comparison and determination of advantages and disadvantages of these methods. The material of study consisted of 25 owned female dogs with different ages and races who were admitted to Erciyes University Veterinary Faculty clinics with the suspicion of urinary bladder diseases. In all cases, radiographic, ultrasonographic and endoscopic examinations were performed and the definitive diagnosis was made and findings were recorded. The success was achieved in 64% of the radiography, 96% of the ultrasonography and 100% of the endoscopy. As a result, it was found that endoscopy and ultrasonography were more advantageous and successful than radiography in definitive diagnosis of urinary bladder diseases. Radiography alone was not sufficient but it could be a supportive method for definite diagnosis. It was observed that ultrasonography may be sufficient for definite diagnosis but it should be supported by other methods. The endoscopy as a non-invasive and convenient imaging method can be used alone.

**Keywords:** Bladder, Dog, Endoscopy, Radiography, Ultrasonography.

<sup>✉</sup>Nusret APAYDIN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Kayseri, TÜRKİYE.  
e-posta: napaydin@erciyes.edu.tr

\*Bu yüksek lisans tezi; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi tarafından TSY-11-3467 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

## YAZARLARA BİLGİ

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

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

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

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

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

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

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

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

## MAKALENİN HAZIRLANMASI

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**İstatistiksel Analiz bilgileri:** makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda ‘‘İstatistiksel Analiz’’ başlığı altında verilmelidir.

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

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

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

### **Olgu Sunumları İçin:**

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

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

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

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

### **Derlemeler İçin:**

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

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

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

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

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

### **Kaynaklar**

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

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

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

### Metin içerisinde:

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

### Kaynaklar Bölümünde:

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

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin isminin kısaltması kullanılmalıdır.

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

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

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

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

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

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

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

## MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

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

## DERGİ BASKISI

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

Kabul edilen çalışmalar **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

Sorumlu yazara makalenin basıldığı sayıdan bir örnek ücretsiz olarak gönderilir.

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

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

**kurallara tabidir.**

## **INSTRUCTIONS FOR AUTHORS**

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

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

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

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

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

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

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

## **MANUSCRIPT PREPARATION**

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



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

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

4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (\*) with further explanation below the title in italic format.

5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

#### **For Research Articles:**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

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

#### **For Case Reports:**

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

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

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

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

### **For Reviews:**

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

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

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

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

The corresponding author of the compilation sent to the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must have at least 3 articles on the subject of the compilation. The corresponding author must send the citation information of relevant articles related to the subject along with his/ her article (relevant article citations must be presented on the last page of the article)

### **References**

The number of resources used must not be less than 10 for case reports, less than 20 for research articles, and more than 45 for all article types.

Regardless of the type of article (original research article, case report, compilation), at least one-fifth of the resources used (based on the year the article was submitted) must belong to the last three years.

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

#### For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

#### For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For manuscripts; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6<sup>th</sup> edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

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

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

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user’s guide: Statistics, 4<sup>th</sup> edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

### **MANUSCRIPT SUBMISSION**

The article must be sent to the journal editor through online system (<http://dergipark.ulakbim.gov.tr/ataunivbd/>).The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

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

### **JOURNAL’S PRESS**

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

Articles accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

A copy of the issue of the journal with the article is sent for free to the corresponding author of the article.

---

# ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

## YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

---

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

**Makale Başlığı:**.....

.....

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

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

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

**İmza**

**Tarih**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

### **Sorumlu Yazar**

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

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

### **DERGİ ADRESİ**

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

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

---

**ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES**

**COPYRIGHT DECLARATION FORM**

---

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

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

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

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

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

**Signature**

**Date**

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

**Corresponding Author**

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....

Signature:.....

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

**JOURNAL'S ADDRESS**

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

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

▶ Kaveh AZIMZADEH, Mortaza MAHAN, Negar Zamani HERGALANI, Tohid ZAHED. Determination of Possible Potential Biomarker Between Plasma Arginase, Gelsolin and Cystatin C in Sheep Babesiosis: Based on Parasitemia Rate ( <i>Koyun Babeziozisinde Plazma Arginaz, Gelsolin ve Sistatin C Arasında Olası Potansiyel Biyobelirteç Tayini: Parazitemi Oranına Göre</i> ).	1-7
▶ Gülten EMEK TUNA, Serkan BAKIRCI, Ceren DİNLER, Tulin KARAGENC, Bülent ULUTAŞ. Monocytic Ehrlichiosis in Aegean Region Dogs: Clinical and Haematological Findings ( <i>Ege Bölgesindeki Köpeklerde Monositik Ehrlichiosis: Klinik ve Hematolojik Bulgular</i> ).	8-14
▶ Mehmet Aydın AKALAN, Aysun ÇEVİK DEMİRKAN, İsmail TÜRKMENOĞLU, İbrahim DEMİRKAN. Bozdoğan'da ( <i>Falco columbarius</i> ) Plexus lumbosacralis'i Oluşturan Spinal Sinirlerin Makroanatomik Yapısı ( <i>Macroanatomic Structure of Spinal Nerves Forming the Plexus Lumbosacralis in the Merlin (Falco columbarius)</i> ).	15-22
▶ Nasibe Ezgi ERCAN, Ali Haydar KIRMIZIGÜL. Kars'ta Evde Bakılan Kedilerde <i>Toxoplasma gondii</i> 'nin Yaygınlığı ( <i>Prevalance of Toxoplasma gondii Indoor Cats in Kars</i> ).	23-28
▶ Alper Kürşat DEMİRKAYA, Gülşah GÜNDOĞDU, Yavuz DODURGA, Mücahit SEÇME, Köksal GÜNDOĞDU. Parietinin HepG2 Hepatoselüler Karsinom Hücrelerinde Sitotoksik ve Genotoksik Etkisinin Belirlenmesi ( <i>Determination of Cytotoxic and Genotoxic Effects of Parietin in HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cells</i> ).	29-37
▶ Burcu ONUK, Ahmet ÇOLAK. Ruminant Ön Bacağında Anatomik Modellerin Oluşturulması ( <i>Composing Anatomical Models on Ruminant Forelimb</i> ).	38-44
▶ Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Derviş ÖZDEMİR, Hülya BALKAYA, Hülya KARA. Konya Merinosunun Arteria Celiaca'sı ve Dalları Üzerine Makroanatomik Bir Çalışma ( <i>A Macroanatomical Study on the Arteria Celiaca and Branches of the Konya Merino</i> ).	45-51
▶ Elif ERDEM GÜZEL, Nalan KAYA, Gonca OZAN KOCAMÜFTÜOĞLU, Dürrin Özlem DABAK, Penbe Sema TEMİZER OZAN, İbrahim Enver OZAN. Gebelikte Tütün Dumanı Maruziyetinin Anne Sıçan Böbrek Dokusunda Meydana Getirdiği Değişiklikler Üzerine Alfa Lipoik Asit Etkilerinin İncelenmesi ( <i>Investigation of the Effects of Alfa Lipoic Acid on Changes in Maternal Rat Kidney Caused by Tobacco Smoke Exposure in Pregnancy</i> ).	52-63
▶ Hamit USLU, Gözde ATILA USLU. <i>Prunus laurocerasus</i> L. Meyve Ekstraktının Sıçanlarda İndometazin ile İndüklenen Gastrik Ülser Karşı Koruyucu Etkisi ( <i>Protective Effect of Prunus laurocerasus L. Fruit Extract Against Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats</i> ).	64-70
▶ Mehmet Özkan TİMURKAN, Hakan AYDIN. Cirit Atlarında İnfluenza A Virus Enfeksiyonunun Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması ( <i>Investigation of Influenza A Virus Infection by Serological and Molecular Methods in Jereed Horses</i> ).	71-77
▶ Korhan ARSLAN, Fadime DALDABAN, Aytaç AKÇAY, Bilal AKYÜZ. Türkiye'de Yetiştirilen Kasaplık İsviçre Esmeri ve Simental Irkı Sığırlarda Myosin Heavy Chain 8 (MyH8) Gen Ekspresyon Düzeyi ile Canlı Ağırlığı Arasındaki İlişisinin Araştırılması ( <i>The Relationship of Myosin Heavy Chain 8 (MyH8) Gene Expression Profile of Live Weight in Slaughtered the Simmental and Brown Swiss Cattle Breeds which Reared in Turkey</i> ).	78-84
<b>Olgu Sunumları / Case Reports</b>	
▶ Mahir KAYA, Elif DOĞAN, Zafer OKUMUŞ. Bir Köpekte Rostral Segmental Mandibula Kırığı ve İnterdental Telleme Tekniği ile Sağaltımı ( <i>A Dog of Rostral Segmental Mandibular Fracture and its Treatment via Interdental Loop Wiring Technique</i> ).	85-89
<b>Derlemeler / Reviews</b>	
▶ Halil Doruk KAYNARCA, Canan HECER, Beyza ULUSOY. Mycotoxin Hazard in Meat and Meat Products ( <i>Et ve Et Ürünlerinde Mikotoksin Tehlikesi</i> ).	90-97
▶ Hazel TAMAKAN, Hüban GÖÇMEN. Kedi ve Köpeklerde Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP) Taşıyıcılığı ( <i>Transmission of Methicillin Resistant Staphylococcus pseudintermedius (MRSP) in Cats and Dogs</i> ).	98-106
▶ Serdal KURT, Hatice Esra ÇOLAKOĞLU, Murat Onur YAZLIK, Mehmet Rifat VURAL, Şükrü KÜPLÜLÜ. Sütçü İneklere Mastitis Yönünden Kuru ve Geçiş Dönemlerinin Önemi ( <i>Importance of Dry and Transitional Period in Terms of Mastitis in Dairy Cows</i> ).	107-113