

Dicle Univ Vet Fak Derg

ISSN 1307-9972

e-ISSN: 1308-0679



YIL/YEAR: 2023

CİLT/VOLUME: 16

SAYI/ISSUE:1

DİCLE ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Dicle University Journal of Faculty of Veterinary Medicine



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Organıdır
Published by Dicle University Faculty of Veterinary Medicine



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



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi



Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına Sahibi

Prof. Dr. Aydın VURAL

EDİTÖR GRUBU

Prof. Dr. Hasan İÇEN
Prof. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN
Prof. Dr. Simten YEŞİLMEN ALP
Prof. Dr. İbrahim KÜÇÜKASLAN
Prof. Dr. M. Hanifi DURAK
Doç. Dr. Tahir BAYRIL
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Şener YILDIZ
Dr. Öğr. Üyesi Nurdan KARACAN SEVER
Araş. Gör. Nahit SAYLAK

YAYIN KURULU

Prof. Dr. Fahrettin ALKAN, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Servet BADEMKIRAN, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ümüt CİRİT, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Serkan İKİZ, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdullah KAYA, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. M. Aydın KETANİ, (Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mehmet KILINÇ, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Aydın VURAL, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Beran YOKUŞ, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Feray ALTAN, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Neval Berrin ARSERİM, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi

DANIŞMA KURULU

Prof. Dr. Abit AKTAŞ, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yılmaz ARAL, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ali ARSLAN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. M. Sedat BARAN, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Burhan ÇETİNKAYA, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ülker EREN, Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Aydın GİRGIN, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdurrahman GÜL, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hakkı KARA, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Abdullah ÖZEN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ayşe SERBEST, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Tekin ŞAHİN, Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Nihat ŞINDAK, Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Muzaffer TAŞ, Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Necati TİMURKAN, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Emine ÜNSALDI, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Murat YILDIRIM, Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. M. Osman ATLI, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Bülent ELİTOK, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Serkan ERDOĞAN, Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Zela KARAKOÇ, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Ersin UYSAL, Dicle Üniversitesi

İÇİNDEKİLER/CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ /RESEARCH ARTICLES

	Sayfa Page
1. Artrit ve Omfalitisli Buzağlarda Serum İmmünoglobulin ve Nitrik Oksit Seviyeleri <i>Caner KAYIKCI, Musa GENÇCELEP, Abdullah KARASU, Cumali ÖZKAN, Loğman ASLAN, Tunahan SANCAK</i>	1 - 5
2. Investigation of Immunohistochemical Localization of Oxytocin Receptor in Diabetic and Non-Diabetic Mouse Heart <i>Serkan ARICI, Seyit Ali BİNGÖL</i>	6 - 11
3. Investigation of the Effects of Different Surgical Techniques on Behavior in Self-Sucking Cows in Modern and Individual Family Farms <i>Nahit SAYLAK, Semih ALTAN</i>	12 - 15
4. Koyunlarda Koç Katımı Öncesi Antioksidan Kullanımının Oksidatif Stres ve Bazı Fertilite Parametreleri Üzerine Etkisi <i>Yasemin KAPLAN BİLMEZ, Nihat ÖZYURTLU</i>	16 - 21
5. The Effect of Cake Waste Addition to Alfalfa Silage on Silage Quality and Fermentation Properties <i>Sadık Serkan AYDIN</i>	22 - 26
6. Alabalık Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Siyah Asker Sineği Larvası (<i>Hermetia illucens</i>)'nın Büyüme Performansı ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri <i>Fatih AKDEMİR</i>	27 - 32
7. Sığırlarda Metakarpo/Metatarsofalangeal Eklemine Artroskopik Yaklaşım: Bir Kadavra Çalışması <i>Emine ÇATALKAYA, Sadık YAYLA, Semih ALTAN, Berna ERSÖZ KANAY, Nahit SAYLAK</i>	33 - 37
8. Effects of Sexed and Conventional Semen Use and Calf Gender on Milk Yield Parameters, Body Weight and Milk Electrical Conductivity in Holstein Cows <i>Tahir BAYRIL</i>	38 - 42
9. Deneysel ve Ticari Üretim Koşullarında Yetiştirilen Yavaş Gelişen Etlik Piliçlerde Davranışsal Hayvan Refahı Parametreleri Üzerine Yaşın Etkisi <i>Metin PETEK, Hakan ÜSTÜNER, Enver ÇAVUŞOĞLU, Tuğçe Necla SELVİ, Mihriban DEMİR, Fahir Cankat BRAV, Mariam BERTHE, Erdem Çağlar KÜPELİ</i>	43 - 47

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

10. Bir Kedide Vertebral Osteosarkom: Manyetik Rezonans Görüntüleme ve Operatif Sağaltımı <i>Ömer BEŞALTI, İlayda PAZARBAŞILAR</i>	48 - 50
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------

DERLEME/REVIEW

11. Köpeklerde Elektroensefalografi ve Elektrookülografi <i>Çağın ÇEVİK, Ezgi KAYA, Bikem TURANOĞLU, Duygu TARHAN, Bengü BİLGİÇ, Alev Meltem ERCAN, Mehmet Erman OR</i>	51 - 58
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------



Artrit ve Omfalitisli Buzağlarda Serum İmmünoglobulin ve Nitrik Oksit Seviyeleri

Caner KAYIKCI^{1,a,✉}, Musa GENÇCELEP^{1,b}, Abdullah KARASU^{1,c}, Cumali ÖZKAN^{2,d}, Loğman ASLAN^{1,e}, Tunahan SANCAK^{1,f}

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0001-7343-1045; ^bORCID: 0000-0001-6661-7079; ^cORCID: 0000-0001-9443-3867

^dORCID: 0000-0001-8502-6987; ^eORCID: 0000-0002-1567-1523; ^fORCID: 0000-0002-7813-1575

Geliş Tarihi/Received

09.11.2022

Kabul Tarihi/Accepted

07.01.2023

Yayın Tarihi/Published

30.06.2023

Öz

Omfalitis ve artrit buzağlarda sıklıkla karşılaşılan ve ciddi ekonomik kayıplara sebep olan hastalıklardandır. Bu çalışmada omfalitisli ve artiritisli buzağlarda serum immünoglobulin ve Nitrit Oksit (NO) düzeylerinin belirlenmesi ve sağlıklı buzağlara göre bu parametrelerdeki değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmanın hayvan materyalini Van ili ve çevresinden sağlanan 20 artritli ve 20 omfalitisli değişik ırk, yaş ve cinsiyette buzağı (çalışma grubu) ile klinik olarak sağlıklı 15 buzağı (kontrol grubu) oluşturmuştur. Hayvanların klinik ve radyolojik muayeneleri yapılarak kan örnekleri toplandı. Kan örneklerinden, immünoglobulin A (IgA), immünoglobulin M (IgM), immünoglobulin G (IgG), gama glutamil transferaz (GGT) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ELISA cihazı ile tespit edildi. Çalışma mızda artritli buzağların ortalama kan serum IgA, IgM, IgG, GGT ve NO seviyeleri sırasıyla 0.55 mg/ml, 4.63 mg/ml, 4.33 mg/ml, 29.63 ng/ml ve 624.1 µmol/L olarak bulunmuştur. Omfalitisli buzağların ortalama kan serum IgA, IgM, IgG, GGT ve NO seviyeleri sırasıyla 0.52 mg/ml, 4.39 mg/ml, 2.04 mg/ml, 28.51 ng/ml ve 538.75 µmol/L olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, omfalitis ve artrit tanısı konan hayvanların serum IgA, IgM, IgG ve GGT seviyelerinde istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Serum NO seviyelerinde ise omfalitis grubunda istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlemlenmezken, artrit grubunda anlamlı bir fark gözlemlenmiştir.

Anhtar Kelimeler: Artrit, buzağı, immünoglobulin, nitrik oksit, omfalitis

Serum Immunoglobulin and Nitric Oxide Levels in Calves with Arthritis and Omphalitis

Abstract

Omphalitis and arthritis are diseases that are frequently encountered in calves and cause serious economic losses. In this study, it was aimed to determine serum immunoglobulin and Nitrite Oxide (NO) levels in calves with omphalitis and arthritis and to examine the changes in these parameters compared to healthy calves. The animal material of this study consisted of calves with arthritis (n=20) and omphalitis (n=20) and calves (control group n=15) with clinically healthy from Van region. Clinical and radiological examinations were carried out, and blood samples were collected. Immunoglobulin A (IgA), immunoglobulin M (IgM), immunoglobulin G (IgG), gamma-glutamyl transferase (GGT) and nitric oxide (NO) levels were determined by ELISA. In our study, mean blood serum IgA, IgM, IgG, GGT, and NO levels of calves with arthritis were found to be 0.55 mg/ml, 4.63 mg/ml, 4.33 mg/ml, 29.63 ng/ml and 624.1 µmol/l, respectively. Mean blood serum IgA, IgM, IgG, GGT and NO levels of calves with omphalitis were 0.52 mg/ml, 4.39 mg/ml, 2.04 mg/ml, 28.51 ng/ml, 538.75 µmol/L respectively. In conclusion, no significant statistical difference was observed between serum IgA, IgM, IgG, and GGT levels of animals diagnosed with omphalitis and arthritis. While no statistically significant difference was observed in serum NO levels in the omphalitis group, a significant difference was observed in the arthritis group.

Key Words: Arthritis, calf, immunoglobulin, nitric oxide, omphalitis

GİRİŞ

Yeni doğanların en önemli hayatta kalma mekanizmalarından birisi de pasif immünedir (1). Pasif immünte, anneden kolostrum aracılığı ile immünoglobulinlerin alınması ile gerçekleşir. Ruminantlardaki plasenta yapısından dolayı anneden yavruya immünoglobulin geçişi olmamaktadır (2). Bu yüzden buzağlar önemsenmeyecek seviyede düşük serum immünoglobulin seviyeleriyle doğarlar. Buzağların kendi aktif ve koruyucu immun yanıtları oluşana kadar kolostrum ve süttten alınan immünoglobulinler eksternal koruyucu antikor kaynağı

sağlarlar (3–6). İmmunoglobulin absorpsiyonu selektif olmayan şekilde gerçekleşir, ayrıca kolostrum içerisindeki immünoglobulin olmayan diğer proteinler de absorbe edilirler (4).

Septik artrit buzağların ilk sekiz haftalık dönemlerinde topallığa yol açan önemli bir hastalıktır. Eklemlerin enfeksiyonu ile karakterizedir. Uygun biçimde tedavi edilmediği durumlarda kronikleşebilmekte ve geri dönüşümsüz zararlara yol açabilmektedir (7). Etkenler postnatal dönemde göbek bölgesinden girebilmekte veya vücudun diğer kısımlarında oluşmuş enfeksiyon odaklarından metastaz ile eklemlere taşınabilmektedir. Enfeksiyonun şekillenmesinde zayıf kolostral antikor seviyesi önemli bir rol oynamaktadır (7,8).

Göbek bölgesi lezyonları, buzağuların yaşamlarının ilk zamanlarında önemli ekonomik kayıplara neden olan hastalıklar arasındadır (9). Göbek kordonu, enfeksiyöz hastalıkların en belirgin bulaşma yollarından birisidir (8). Göbek kordonunun yetersiz bakımı ve yetersiz pasif immünite aktarımı göbek lezyonlarının en önemli nedenlerindedir (8,9).

Gamma glutamil transpeptidaz (GGT) amino asit transportunda görevli bir proteindir (10,11). GGT meme bezlerindeki duktal hücrelerden üretilir. Buzağı serum GGT seviyesinin kolostrum alımından sonra hızlı bir biçimde normal yetişkin bir sığırın 60 ila 160 katına kadar çıktığı ve ilerleyen 2 aylık zaman içerisinde kademeli olarak düşüş gösterdiği bildirilmiştir (2,4). Serum GGT seviyelerin buzağularda pasif kolostrol transferin değerlendirilmesinde kullanılabilir. Bir sığırın kolostrol GGT aktivitesi, serum GGT aktivitesinden 800 kat daha fazladır. Hiç kolostrum almamış buzağuların GGT aktivite seviyeleri normal yetişkin bir sığırinki kadardır. Kolostrol alamayan buzağuların süt yerine geçen süt tozlarıyla veya kaynatılmış sütler ile beslenmeleri serum GGT seviyelerinde çok zayıf bir artışa neden olmaktadır (4).

İmmüoglobulin terimi yüksek moleküler ağırlığa sahip, ortak fizikokimyasal karakteristiklere ve antijenik belirteçlere sahip proteinler için kullanılmaktadır. Bu proteinler serumda ve diğer vücut sıvılarında bulunmaktadır (3).

Sığırlarda IgA, IgM, IgG olmak üzere üç tip immüoglobulin olduğu belirlenmiştir. IgG'nin iki alt tipi vardır, bunlar IgG1 ve IgG2'dir. IgG1 meme bezi tarafından dolaşımdan aktif olarak süt salgısında kullanılmak üzere transfer etmektedir. IgG1 buzağuların pasif immünitesinde temel immüoglobulindir. IgG2 daha homojen bir biçimde sığır serumunda yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Sığır IgM serum, kolostrum ve sütte bulunmaktadır. IgM primer immun yanıtta komplement fiksasyonunda önemlidir ve serumun aglütinasyon antikoruna olma özelliği vardır (3). IgA'nın intestinal mukozanın patojenlere ve toksinlere karşı korunmasında ilk savunma hattı olarak görev aldığı bildirilmektedir (12). IgA sığırlarda sütte ve kolostrumda bulunur (3).

Nitrik oksit (NO) birçok fizyolojik fonksiyonda önemli bir role sahip, kısa yarı ömürlü bir serbest radikaldir (13,14). NO enzimler aracılığıyla L-arjininden üretilir. Bu izoformlardan ikisi kalsiyum ve kalmodulin bağımlıdır ve temel olarak nöronlarda (nNOS) ve endotelial (eNOS) hücrelerde bulunurlar. NO sentetazın indüklenebilir izoformu (iNOS), sitokinler veya bakteriyel ürünler tarafından indüklenebilir ve çeşitli hücrede görülür (14). Bakteri, virüs ve parazitlere karşı savunmada oldukça etkili bir molekül olan NO bazı doku ve organlar için zararlı ve yangı doğurucu olabilmektedir (9). NO'nin toksik etkisi O_2^- ile etkileşime geçerek doku zedelenmesine neden olan güçlü bir oksidan olan peroksinitritten kaynaklandığı belirtilmektedir (14).

Bu çalışmada, omfalitisli ve artritli buzağularda serum immüoglobulin ve NO düzeylerinin belirlenmesi ve sağlıklı buzağulara göre bu parametrelerdeki değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın hayvan materyalini Van ili ve çevresinden sağlanan yalnızca artrit (arthritis grubu n=20) ve yalnızca omfalitis

(omfalitis grubu n=20) teşhisi konulan, değişik ırk, yaş ve cinsiyette buzağı ile klinik olarak sağlıklı buzağular (kontrol grubu n=15) oluşturmuştur. Çalışma grupları sadece artrit ve sadece omfalitis tanısı konan hayvanlar dahil edilmiştir.

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi cerrahi kliniğine getirilen buzağuların anamnez bilgileri alındı. Genel ve radyografik muayenelerinin ardından artrit ve omfalitis teşhisi konan buzağulardan usulüne uygun olarak vena jugularisten kan örnekleri alındı. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı buzağular çevre işletmeler dolaşarak tespit edildi ve kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3500 d/dk da santrifüj edildi ve serumları alınarak ayrı ependorf tüplerinde analizlerin yapılacağı güne kadar -20 °C de muhafaza edildi. Serum örneklerinden IgA, IgM, IgG, GGT ve NO Van YYÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Laboratuvarında ELİSA Cihazı (ELISA Reader® DAS) kullanılarak ölçüldü.

İstatistik Analiz

Elde edilen verilere non-parametrik bir yöntem olan Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır (IBM SPSS Statistics 26).

BULGULAR

Kliniğimize getirilen hayvanların gün yaş ortalaması omfalitis grubu için 23.26 gün, artrit grubu için 20.55 gün olarak tespit edilmiştir. Omfalitis teşhisi konan buzağuların %42.1'i erkek, %57.9'unun dişi olduğu, artrit teşhisi konan buzağuların ise %68.4'ü erkek, %31.6'sının dişi olduğu belirlenmiştir.

Omfalitis olgularında göbek bölgesi yangılı ve akıntılı bir hal aldığı belirlendi (Şekil 1). Artrit vakalarında eklem bölgelerinde şişlik, ağrı, pasif eklem hareketlerinde kısıtlanma belirlendi. Etkilenen hayvanların çoğunda yürüyüş sırasında belirgin topallık söz konusuydu.



Şekil 1. Bir buzağıda omfalitis olgusu

IgA, IgM, IgG, GGT ve NO parametreleri incelendiğinde serum NO seviyelerinin artrit grubunda, kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. NO dışındaki diğer parametrelerde ise istatistik olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Tablo 1'de kontrol, omfalitis ve artrit gruplarının IgA, IgM, IgG, GGT ve NO parametreleri için ortalama değerleri ve standart sapma değerleri belirtilmiştir.

Tablo 1. Serum İmmünoglobulin ve NO Seviyelerinin çalışma grupları arasında istatistik

	Kontrol	Omfalitis	Artritis	P Değerleri
	Ortalama±Std Sapma	Ortalama±Std Hata	Ortalama±Std Hata	
IgA (mg/ml)	0.58±0.17 ^a	0.52±0.062 ^a	0.55±0.13 ^a	0.393
IgM (mg/ml)	4.22±0.86 ^a	4.39±0.67 ^a	4.63±1.57 ^a	0.997
IgG (mg/ml)	2.53±1.88 ^a	2.04±0.55 ^a	4.33±8.74 ^a	0.267
GGT (ng/ml)	28.22±7.33 ^a	28.51±7.21 ^a	29.63±15.76 ^a	0.254
NO (µmol/L)	466.82±172.84 ^b	538.75±131.21 ^{ab}	624.10±266.17 ^a	0.026

a,b: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğum sonrasında buzağların göbek bölgesi doğum yapılan alandaki patojenlere oldukça açık durumdadır. Göbek bölgesi bakımının uygun biçimde yapılmaması ve yetersiz kolostrum alımı omfalitis olarak isimlendirilen göbek bölgesi lezyonlarının oluşumunda rol almaktadır (9,15). Ayrıca alınan kolostrumun buzağda pasif immüniteyi sağlayacak nitelik ve kalitede olması önemlidir. Kolostrumun kalitesi annenin maruz kaldığı hastalıklar, yaş, beslenme düzeyi, güç doğum gibi birçok faktörce etkilenmektedir (16).

Yeni doğanların en önemli hayatta kalma mekanizmalarından birisi de pasif immünitedir (1). Pasif immünite, anneden kolostrum aracılığı ile immunoglobulinlerin alınması ile gerçekleşir (2). Pasif immünite yetersizliği septik artritis ve göbek kordonu enfeksiyonlarında önemli bir risk faktörüdür (15,17). Omfalitis, umbilikal fitik, gelişim geriliği ve sürüdeki mortalite oranlarında artış ile ilişkilendirilmektedir (15).

Septik artritis yeni doğan buzağları etkileyen yaygın bir hastalıktır. Genellikle göbek bölgesi enfeksiyonları gibi sistemik hastalıklar sonucu oluşabilmektedir. Eklemde şişlik, ağrı, topallık, ateş ve iştah kaybı gibi klinik semptomlara sebep olabilmektedir (Şekil 2) (18).



Şekil 2. A) Artiritisli bir buzağın tarsal eklemine radyografik görünümü. Ok: Eklem efüzyonuna bağlı lokal şişlik. Kesik çizgiler: Eklemde şekillenen septik artritis ve yangı sonucu kalkaneus kemiğinde osteolitik lezyonlar. B) Aynı hayvanın inspeksiyon görünümü.

Bu çalışma artritis ve omfalitisli buzağlarda Serum IgA, IgM, IgG, GGT ve NO düzeylerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

GGT tüm dokularda bulunan bir enzim olmasına rağmen, yoğun olarak karaciğer ve böbrek dokusunda bulunur ve pratikte karaciğer hastalıkları için spesifik olarak bakılan önemli parametrelerdendir. Kolestaz, karaciğer hasarı ve böbrek yetmezliklerinde artışı gözlemlenebilmektedir. Bozukluhan ve arkadaşları (19) omfalitisli buzağlarda yaptıkları bir çalışmada GGT değerinin kontrol grubu hayvanlarına göre yükseldiğini bildirmiştir ve bu durumun hastalığa bağlı oluşan kortikosteroid aktivitesi veya stres kaynaklı olabileceği bildirmiştir. Ancak çalışmamızda omfalitis ve artritis gruplarındaki GGT seviyelerinin kontrol grubumuza göre istatistik olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermediği belirlenmiştir.

Düşük Ig seviyeli buzağlarda diyare ve solunum sistemi hastalıkları şekillendiği bildirilmektedir (20). IgA vücutta en çok bulunan antikor izotipidir ve gastrointestinal kanal, solunum yolları ve vajinal kanal gibi mukozal yüzeylerde immün yanıt konusunda önemli rol oynamaktadır (21). Çalışmamızda omfalitis ve artritis gruplarında IgA açısından kontrol grubuyla anlamlı derecede bir fark oluşmamıştır.

Akbulut ve arkadaşları (22) sağlıklı buzağlarda yaptıkları çalışmada ortalama IgM seviyesini 2.85 ile 4.01 olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda da serum immunoglobulin M seviyesi ortalaması, belirtilen (22) serum IgM seviyelerinden daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda istatistik değerlendirmelerde immunoglobulin M seviyesinin, omfalitis ve artiritisli buzağlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık ortaya koymadığı belirlenmiştir.

IgG seviyeleri ve artritis arasında bir ilişki olup olmadığı henüz tam anlamıyla ortaya konabilmiş değildir (23,24). Çalışmamızda da IgG seviyelerinin, omfalitis ve artiritisli buzağlarda kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

NO sentetazın inhibe edildiği çalışmalarda, septik artiritis görülme olasılığının ve eklem kırıkdağlarında oluşturdukları dejenerasyonun kontrol grubuna göre belirgin şekilde arttığı, peritoneal makrofajların intraselüler öldürme kapasitelerinin ise belirgin şekilde azaldığı ortaya konmuştur (25). Romatoid artiritisli insanlarda serum NO seviyelerinin sağlıklı bireylere oranla yüksek olduğu belirtilmektedir (26). Benzer şekilde kemirgenlerde otoimmün inflamatuvar artritis ile ilgili önceki çalışmalar, NOS inhibitörlerinin kolajen kaynaklı, streptokok hücre duvarını veya adjuvan kaynaklı artriti geciktirdiği veya ortadan kaldırdığı için NO eksikliğinin koruyucu olduğunu göstermiştir (27). NO'ün yüksek seviyelerde üretimi yangısal lezyonların varlığında söz konusudur. NO sentetazın iNOS'ün tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α), interlökin-1

beta (IL-1 β) ve interferon gama (IFN- γ) gibi proinflamatuvar sitokinler ya da LPS (Lipopolisakarit) ve enterotoksinler gibi bakteriyel ürünler tarafından upregüle (uyarıldığı) edildiği bilinmektedir. iNOS enzim varlığı makrofaj, endotelial hücreler, kondrositler ve sinoviyal fibroblastlar gibi çeşitli hücre tiplerinde belirlenmiştir (27). Çalışmamızda septik artritli buzağuların serum NO seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Bunun sebebinin NO sentezleyen enzimlerin eklem yapısını oluşturan hücre çeşitlerinde (kondrositler, sinoviyal fibroblastlar) bolca bulunması ve bölgedeki bakteriyel kaynaklı yangının NO üretimini tetiklemesi olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak omfalitis ve artritisi konan buzağuların serum IgA, IgM, IgG ve GGT seviyelerinde kontrol grubuna göre istatistik açıdan herhangi bir farklılık olmamasına rağmen IgA ve IgM ortalama değerleri kontrol grubuna göre düştüğü gözlenmiştir. IgG ortalama değerleri omfalitis grubunda düşmüş, artritisi grubunda ise artmıştır. GGT ortalama değerlerinin ise her iki grupta kontrol grubuna göre artış gösterdiği gözlenmiştir. NO serum seviyelerinin ise omfalitis grubunda bir değişiklik gözlenmezken artritisi grubunda istatistik anlamda belirgin bir artış belirlenmiştir.

ETİK ONAYI

Bu çalışma Van YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 25.02.2016 tarih ve 2016/02 sayılı kararıyla etik kurul onayı gerektirmeyen çalışma olarak belirtilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TSA-2017-5926 nolu proje kapsamında gerçekleştirilmiş, 3. Uluslararası Çukurova Tarım ve Veteriner Kongresinde sözlü olarak sunulmuş ve kongre kitapçığında özet olarak yer almıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Wernery U. (2001). Camelid Immunoglobulins and Their Importance for the New-Born – A Review. *J Vet Med B*. 48 (8): 561–568.
2. Çakıroğlu D, Meral Y, Pekmezci D, Onuk EE, Gökalp G. (2010). Yeni Doğan Buzağularda Çeşitli Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler ile Kolostral İmmün Globulinler Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*. 24 (1): 43–46.
3. Butler JE. (1969). Bovine Immunoglobulins: A Review. *J Dairy Sci*. 52 (12): 1895–1909.
4. Parish SM, Tyler JW, Besser TE, Gay CC, Krytenberg D. (1997). Prediction of Serum IgG1 Concentration in Holstein Calves Using Serum Gamma Glutamyltransferase Activity. *J Vet Intern Med*. 11 (6): 344–347.
5. Morrill KM, Tyler HD. (2012). Two Methods to Determine IgG Concentration in Calf Serum. *Iowa State University Animal Industry Report*. 9 (1).
6. Şahal M, Terzi OS, Ceylan E, Erdal K. (2018). Buzağı İshalleri ve Korunma Yöntemleri. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*. 58 (3): 41–49.

7. Jackson P. (1999). Treatment of Septic Arthritis in Calves. *In Pract*. 21 (10): 596–601.
8. Desrochers A, Francoz D. (2014). Clinical Management of Aseptic Arthritis in Cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 30 (1): 177–203.
9. Bozukluhan K, Merhan O, Öğün M, Cihan M, Gökçe G. (2016). Omfalitisli Buzağularda Bazı Oksidatif Stres Parametre Düzeylerinin Belirlenmesi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*. 30 (2): 79–81.
10. Thompson JC, Pauli JV. (1981). Colostral Transfer of Gamma Glutamyl Transpeptidase in Calves. *N Z Vet J*. 29 (12): 223–226.
11. Erbaş D, Anıl A, Kösebalaban Ş. (1989). Vitamin E ve Selenyum'un Diyet Nitrozamin Hepato Toksikitesine Karşı Etkileri. *GÜ Dış Hek Fak Derg*. 6 (1): 9–14.
12. Cerutti A, Chen K, Chorny A. (2011). Immunoglobulin Responses at The Mucosal Interface. *Annu Rev Immunol*. 29 273.
13. Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün AD, Gözükkara EM. (2001). Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*. 10 (4): 226–236.
14. Boulanger V, Zhao X, Lauzon K, Lacasse P. (2007). Effects of Nitric Oxide on Bovine Polymorphonuclear Functions. *Can J Vet Res*. 71 (1): 52–58.
15. Grover WM, Godden S. (2011). Efficacy of a New Navel Dip to Prevent Umbilical Infection in Dairy Calves. *Bov Pract (Stillwater)* 45 (1): 70–77.
16. Kozat S. (2019). Yenidoğan Buzağularda Kolostrum Yönetiminin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*.14(3): 343-353.
17. Constant C, Nichols S, Desrochers A, Babkine M, Fecteau G, Lardé H, et al. (2018). Clinical Findings and Diagnostic Test Results for Calves With Septic Arthritis: 64 cases (2009–2014). *J Am Vet Med Assoc*. 252 (8): 995–1005.
18. Dogan E, Yanmaz LE, Okumus Z, Kaya M, Senocak MG, Cengiz S. (2016). Radiographic, Ultrasonographic and Thermographic Findings in Neonatal Calves with Septic Arthritis: 82 cases (2006–2013). *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*. 11 (1): 6–12.
19. Bozukluhan K, Merhan O, Ogun M, Kurt B, Cihan M, Erkilic EE, et al. (2018). Investigation of Haptoglobin, Serum Amyloid A, and Some Biochemical Parameters in Calves With Omphalitis. *Vet World*. 11 (8): 1055–1058.
20. Murphy BM, Drennan MJ, O'Mara FP, Earley B. (2005). Cow Serum and Colostrum Immunoglobulin (IgG₁) Concentration of Five Suckler Cow Breed Types and Subsequent Immune Status of Their Calves. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*. 44 (2): 205–213.
21. Blutt SE, Miller AD, Salmon SL, Metzger DW, Conner ME. (2012). IgA is Important for Clearance and Critical for Protection From Rotavirus Infection. *Mucosal Immunol*. 5 (6): 712–719.
22. Akbulut Ö, Bayram B, Yanar M, Keleş S. (2003). Serum Immunoglobulin Concentrations of Brown Swiss and Holstein Friesian Calves and Their Relationship with Growth Characteristics / Esmer ve Siyah Alaca Buzağuların Serum İmmünoglobulin Konsantrasyonları ve Bunların Büyüme ve Gelişme Özellikleri ile İliş. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*. 34 (2): 157 – 159.
23. Beard LJ, Ferris L, Ferrante A. (1990). Immunoglobulin G Subclasses and Lymphocyte Subpopulations and Function in Osteomyelitis and Septic Arthritis. *Acta Paediatr Scand*. 79 (6–7): 599–604.
24. Bloom KA, Chung D, Cunningham-Rundles C. (2008). Osteoarticular Infectious Complications in Patients with Primary Immunodeficiencies. *Curr Opin Rheumatol*. 20 (4): 480–485.

25. Sakiniene E, Bremell T, Tarkowski A. (1997). Inhibition of Nitric Oxide Synthase (NOS) Aggravates Staphylococcus Aureus Septicaemia and Septic Arthritis. Clin Exp Immunol. 110 (3): 370–377.
26. Weinberg JB, Lang T, Wilkinson WE, Pisetsky DS, St Clair EW. (2006). Serum, Urinary, and Salivary Nitric Oxide in Rheumatoid Arthritis: Complexities of Interpreting Nitric Oxide Measures. Arthritis Res Ther. 8 (5): R140.

27. McInnes IB, Leung B, Wei XQ, Gemmell CC, Liew FY. (1998). Septic Arthritis Following Staphylococcus Aureus Infection in Mice Lacking Inducible Nitric Oxide Synthase. J Immunol. 160 (1): 308–315.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Caner KAYIKCI
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi
Anabilim Dalı, Van/TÜRKİYE
E-posta: caner5246@hotmail.com



Investigation of Immunohistochemical Localization of Oxytocin Receptor in Diabetic and Non-Diabetic Mouse Heart

Serkan ARICI^{1,a,✉}, Seyit Ali BİNGÖL^{1,b}

¹Ministry of Education, Yenişehir Ertuğrul Gazi Anatolian High School, Bursa, TÜRKİYE

²Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Kafkas University, Kars, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-2405-2206; ^bORCID: 0000-0001-6422-9582

Geliş Tarihi/Received
22.12.2022

Kabul Tarihi/Accepted
24.04.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Abstract

The aim of this study was to investigate the immunohistochemical localization of oxytocin receptor (OTR) in diabetic and non-diabetic mouse heart tissue. Eighteen male Balb-c adult (8-12 week) mice were used in the study. Animals were divided into three groups; control, sham and diabetes. The diabetes group was given STZ by intraperitoneally (i.p) injections and diabetes was induced. Sham group was again treated with sodium citrate solution by i.p. The animals in the control group did not receive any treatment. After 30 days of STZ application, mice were cervical dislocated under ether anesthesia and their heart tissues were removed. Each heart tissue was vertically divided into two parts and routine histological procedures were applied and then tissues were blocked in paraffin and sections were taken. For histological examination, Haematoxylin&Eosin (H&E), Crossman's Triple staining and Periodic Acid Schiff (PAS) were applied to the sections. Immunoreactivity of OTR was determined by Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) method. At the end of the study period; the body weight of the groups, blood glucose level, tissue weights and immunohistochemical localization of OTR in heart tissue samples and histological structure of tissue were compared. When weights of heart tissue were compared between the groups, there was no statistically significant difference between the groups ($p>0.05$). As a result of histological examinations, it was found that there was more degeneration in the cells in the myocardium of the heart in the diabetes group compared to the other groups. Immunohistochemical examinations showed that OTR showed similar immunoreactivity in sham and control groups. In the diabetic group, the immunoreactivity of OTR was similar in endothelial and capillary areas, but less in cell membrane, cytoplasm and purkinje cells. In conclusion, the results of this study showed that there is a significant relationship between the OTR, diabetes and heart tissue. As a result, it is thought that diabetes may have an effect on the cardiovascular system through the OTR ($p<0.05$).

Key Words: Diabet, heart, immunohistochemistry, oxytocin, oxytocin receptor

Diabetik ve Non-Diabetik Fare Kalbinde Oksitosin Reseptörünün İmmunohistokimyasal Lokalizasyonunun İncelenmesi

Öz

Bu çalışmada, diyabetik ve non-diyabetik fare kalp dokusunda oksitosin reseptörünün (OTR) immunohistokimyasal lokalizasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 18 adet Balb-c cinsi ergin (8-12 haftalık) erkek fare; kontrol, sham ve diyabet grubu olarak belirlenmiştir. Diyabet grubu intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonla streptozotisin (STZ) verilerek oluşturulmuştur. Sham grubuna ise i.p. yolla sodyum sitrat çözeltisi uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlara ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. STZ uygulandıktan 30 gün sonra farelere eter anestezi altında servikal dislokasyon yapılarak kalp dokuları alınmıştır. Alınan her bir kalp dokusu düzey olarak ikiye bölünerek rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafinde bloklanıp kesitler alınmıştır. Alınan kesitler histolojik olarak incelenmek üzere Hematoksilen Eosin (H&E), Crossman'ın üçlü boyaması ve Periyodik Asit Schiff (PAS) yapıldı. Oksitosin reseptörünün (OTR) immunoreaktivitesi Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleksi (ABC) metodu uygulanarak belirlenmiştir. Müdahale sonrasında, grupların canlı ağırlıkları, kan glikoz seviyesi, doku ağırlıkları ve kalp doku örneklerinde oksitosin reseptörünün immunohistokimyasal lokalizasyonu ve dokunun histolojik yapısı karşılaştırılmıştır. Kalp dokusunun ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). Histolojik incelemeler sonucunda diyabet grubunda diğer gruplara kıyasla kalbin miyokard bölgesindeki hücrelerde daha fazla dejenerasyon olduğu tespit edildi. İmmunohistokimyasal incelemeler sonucunda, sham ve kontrol grupları arasında OTR'nin immunoreaktivite seviyesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Diyabet grubunda diğer gruplara kıyasla OTR'nin immunoreaktivite seviyesi hücre membranı, sitoplazma ve purkinje hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az iken endotel ve kapiller alanlarda fark saptanmamıştır. Bu çalışma sonuçları oksitosin reseptörü, diyabet ve kalp dokusu arasında önemli bir ilişkinin olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, diyabetin oksitosin reseptörü vasıtasıyla kardiovasküler sistem üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir ($p<0.05$).

Anahtar Kelimeler: Diyabet, immünohistokimya, kalp, oksitosin, oksitosin reseptörü

INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease triggered by hyperglycemia caused by lack insulin secretion in pancreas beta cells or impaired insulin action. Since DM affects diabetic cardiomyopathy, hypertension, autonomic neuropathy and endothelial dysfunction, it can increase cardiovascular mortality (1-3).

Oxytocin (OT) is a peptide hormone consisting of 9 amino acids, and effective on glucose metabolism (4) so it is also effective glycemic control, and causes to increase related hormones (5). OT and OTR in the heart have cardioprotective effects directly or by stimulating nitric oxide (NO) of atrial natriuretic peptide (6-8). It is also known to trigger parasympathetic impulses to decrease systemic blood pressure (9). For this reason, it has been stated that oxytocin prevents the development of hypertension by causing a decrease in arterial pressure (10).

OT has come to the fore with its anorexigenic effect. In addition to a decrease in food intake and concomitant weight loss, getting better in oral glucose tolerance test and insulin sensitivity can be observed following OT administration (11). It is also known that OT level increases in hypoglycaemia (12). OT application increases the secretion of OTR (13), insulin and glucagon in pancreas (14, 15), and causes a significant increase in insulin levels in rabbits (16) and increase plasma glucose and insulin in dogs (17).

While the negative effects of diabetes on cardiovascular system attract intense scientific attention, the possible beneficial effects of the OT on the cardiovascular system are not yet known. From this point of view, we aimed to investigate the effect of diabetes on OTR in heart tissue by using immunohistochemical technique.

MATERIAL AND METHODS

Experimental Animals

Approval for this study was obtained from Kafkas University Experimental Animals Local Ethics Committee (Date: 25 May 2016, Number: 042). The experimental animals used in this study were obtained from Atatürk University Medical Experimental Application and Research Center. Eighteen male Balb-c adult (8-12 week) mice were used, and they were randomly divided into three groups and mice in each group kept in one cage. The animals were housed at constant conditions in terms of temperature and humidity on a 12-hour dark-light cycle. The samples were fed with pellet in steel containers on cages and tap water in drinkers with steel balls. The cages, containers and drinkers were cleaned daily. The animals were allowed to adapt to the environment without any application for two weeks after obtaining them. After these two weeks for adaptation, we named groups as sham, control and diabetic each of which had 6 mice. The diabetic group received once at dose of 100 mg/kg streptozotocin (STZ) (S0130-1G, Sigma-Aldrich, USA), via intraperitoneally (i.p.) (18). STZ was dissolved in 0.1 M Citrate buffer (pH:4.5). The sham group was treated only once via i.p. with sodium citrate solution in which STZ was dissolved. The control group did not receive any experimental treatment. The

day of STZ injections was accepted as day 0, and the experimental period lasted for 30 days. After 12 hours fast, the blood glucose was measured, and body weight was scaled by a precision digital balance (Precisa-XB220A) on 0th and 30th of the study.

Determination of Blood Glucose Level

Blood glucose level of all groups was measured with glucometer (Rocho Accucheck Go) by taking blood drop from the tail vein. All animals left fasted for 12-hour before the blood glucose level was measured. Animals in the diabetic group were fasted for 12-hour to determine 72 hours later blood glucose level. It was considered as diabetic if blood glucose level equal or above 200 mg/dL (19). On the 30th day of the study, before the tissues were collected, the animals were again fasted for 12 hours and their blood glucose level were measured for the last time.

Taking Tissue Samples

Before the tissues were taken, the animals were fasted for 12 hours to measure their glucose level and to scale their weight. On the 30th day after STZ administration, cervical dislocation under ether anaesthesia was performed and all animals were euthanized. Then, the heart tissues of the subjects were removed and weighted. The heart tissues divided into two parts to be examined histologically and immunohistochemically.

Histological and Immunohistochemical Procedures

Taken the heart tissues were fixed in 10% formol to be examined histologically and immunohistochemically. Then, the tissues were passed through graded alcohols, methyl benzoate and benzyl series, and at the end they were blocked in paraffin. The 5 µm thick sections were taken from these paraffin blocks to the slides which were coated with chrome alum gelatine. H&E, Crossman's Triple staining and PAS staining techniques were applied to examine the heart tissue (20). PAS was used to determine glycogen in cardiac muscle cells and elastic fiber in great vessels wall and valves. The preparations were examined under a light microscope (Olympus Bx43, Japan) for evaluation, and the necessary parts were photographed with the Olympus DP21 camera.

Some of the sections (5 µm thickness) were used for routine histological examination, and some of them used to examine the immunohistochemical localization of the OTR in heart tissue. Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) was used to detect the OTR in heart tissue (21). After deparaffinization and dehydration processes, sections were washed in phosphate buffered saline (PBS) (0.1 M, pH:7.2). Endogenous peroxidase activity in tissues was blocked by incubating them with 3% H₂O₂ prepared in PBS for 20 min. After washing with PBS, sections were kept in a microwave oven for 12 min to reveal the antigens. They were washed with PBS again, and then incubated in serum (%10) which was compatible with seconder antibody. Sections were washed with PBS, and incubated with anti-OTR antibody (abcam:ab217212, Cambridge, UK) at a dilution of 1:250 for 1 hour at room temperature. Then, tissues were washed

with PBS and incubated with biotinylated secondary antibody which is specific to species in which the primary antibody was produced. After washed with PBS, sections were incubated with streptavidin peroxidase for 30 min at room temperature. After washed with PBS again, Diaminobenzidine (DAB) (Thermo TA-125-HD, USA) was used for chromogen application. Finally, haematoxylin was applied to the sections as a counter staining, and the sections were covered with a coverslip with the help of entellan. The prepared slides were examined under the light microscope and photographed.

The degree of immunoreaction was determined as 0 (no reaction), +1 (weak reaction), +2 (moderate reaction) and +3 (strong reaction). In order to make clear whether the immunoreactivity was specific or not, the primary antibody step was skipped and all other processes were applied in the negative control slides.

Statistical Analysis

SPPS version 16.0 was used for statistical analysis (SPSS 2007). One-way ANOVA was used for multiple comparisons between groups. Bonferroni test was used for homogenous groups and Tamhane tests were applied for non-homogeneous groups. Paired sample t-test was used for pairwise comparisons. Statistical significant was determined as $p < 0.05$.

RESULTS

Body Weight Results

The body weights of the animals scaled on the 0th and 30th days were evaluated statistically. In our study, body weight of each group was statistically compared within itself in order to determine whether there is a difference between 0th and 30th days. There was a statistically significant decrease in diabetic group between body weights on 0th and 30th ($p < 0.05$). On the other hand, there was an increase in the control group between body weights on 0th and 30th

($p < 0.05$). There was an increase but not statistically significant in body weight of sham group between those days ($p > 0.05$), (Table 1).

Table 1. Comparison of body weight of each group by days

Group/Day	N	Body weight mean (g) ± SD	p-value
Diabetic 0 th day	6	37.67±3.27	0.010*
Diabetic 30 th day	6	31.00±3.90	
Sham 0 th day	6	36.17±4.36	0.217
Sham 30 th day	6	39.00±2.97	
Control 0 th day	6	35.00± 4.34	0.026*
Control 30 th day	6	41.00 ±3.52	

* $p < 0.05$, there was significant difference. (SD: standard deviation). Each group was evaluated separately.

Heart Weight Results

The heart tissue was taken on the 30th of the study and were weighted as soon as they were taken. As a result of the statistical evaluation in our study, there was not a statistically difference between groups in terms of heart weight (Table 2).

Table 2. Comparison of heart weights between groups

Group	N	Heart weight mean (g)±SD	F
Diabetic	6	1.62±0.29	2.428
Sham	6	1.76 ±0.12	
Control	6	1.88±0.17	

(SD: standard deviation, F: F value)

Blood Glucose Level

The blood glucose levels were measured on 0th and 30th days. When the results were compared between groups, it was found that only the blood glucose level of diabetic group on 30th day was statistically significant higher than that of diabetic group on 0th day and other groups on 0th and 30th days (Table 3).

Table 3. Comparison of blood glucose level on 0th and 30th days between groups

Group/Day	N	Blood glucose (mg/dL) ± SD	Min.	Max.	F
Diabetic 0 th day	6	81.50 ^a ±10.05	71	95	88.75*
Sham 0 th day	6	91.00 ^a ±13.89	72	108	
Control 0 th day	6	86.33 ^a ±6.62	78	95	
Diabetic 30 th day	6	265.50 ^b ±40.49	218	318	
Sham 30 th day	6	87.67 ^a ±9.09	76	102	
Control 30 th day	6	93.50±8.76	83	106	

Different superscript letters indicate a statistically significant difference. * $p < 0.05$ (SD: Standard deviation)

Histological Results

The tissues stained with H&E, Crossman’s Triple and PAS were histologically examined. We saw that heart valves and great vessels wall were most prominently stained with PAS in all group (Figure 1C-D). Heart muscle cells close to the pericardium in the diabetic group had weaker staining than

those of control and sham groups when we examined slides prepared with Triple staining (Figure 1E-F). In the control and sham groups, there was not a change in terms of the histological structure part of heart such as endothelium, Purkinje cells and cardiac muscle cell. In diabetic group, it was seen that there was mild degeneration of the heart muscle cells in some myocardial regions (Figure 1).

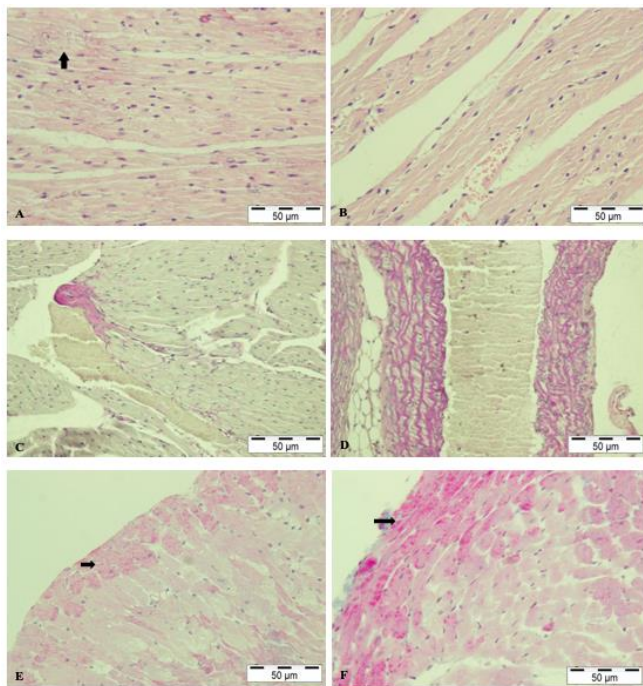


Figure 1. A. Focal mild degeneration of myocyte (black arrow) in diabetic group. H&E. Bar: 50µm. B. The histological view of myocytes of control group. H&E. Bar: 50µm. C. The histological view of heart tissue and valve tissue in diabetic group. PAS. Bar: 50µm. D. The histological view of great vessel walls in control group. PAS. Bar: 50µm. E. Muscle cells nearby pericardium (black arrow) in diabetic group. Triple. Bar: 50µm. F. Muscle cells nearby pericardium (black arrow) in control group. Triple. Bar: 50µm.

Immunohistochemical Results

When the localization of OTR in heart tissues were examined immunohistochemically, it was observed in the myocyte membrane, heart valves, capillaries and endothelial layer in all groups (Figure 2). The immunoreactivity was observed in the cytoplasm of a few myocytes in some regions (Figure 2). It was observed that the OTR immunoreactivity was stronger in control and sham groups than diabetic group (Figure 2) (Table 4).

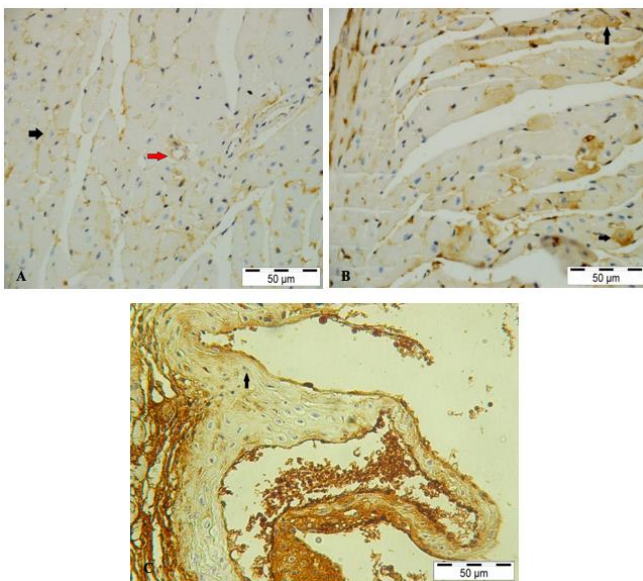


Figure 2. A. Oxytocin receptor immunoreactivity in mouse heart tissue of diabetic group. Red arrow: immunoreactivity in endothelial cells. Black arrowhead: immunoreactivity in cell membrane. Bar: 50µm. B. Oxytocin receptor immunoreactivity in mouse heart tissue of control group. Arrow: Immunoreaction in some cytoplasm of myocyte. Arrowhead: Immunoreaction surround of nucleus. Bar: 50µm. C. Oxytocin immunoreactivity in valve of mouse heart in sham group (arrow). Bar: 50µm.

Table 4. Scores of OTR immunoreactivity

Part of heart	N	Control group	Sham group	Diabetic group
Cell membrane	6	+++	+++	++
Cytoplasm	6	++	++	+
Nucleus	6	++	++	+
Endothelium	6	+++	+++	+++
Purkinje cell	6	++	++	+
Small vessel	6	+++	++	+++

DISCUSSION AND CONCLUSION

In our study, experimental diabetes was induced in mice by applying STZ. In addition to examine immunohistochemical localization of OTR, the body and heart weight of mice and their fasting blood glucose levels were evaluated.

In studies, different STZ doses have been used to induce diabetes in mice such as 100 mg/kg (18), 150 mg/kg (22) and 200 mg/kg (23). We induced diabetes in mice of diabetic group using STZ at dose of 100 mg/kg via i.p. injection.

The fasting mice blood glucose level, which is consider sign of diabetes, differs from one study to another study. Yeğın and Mert (2013) confirmed mice as diabetic if their blood glucose level was above 210 mg/dL (24), Demir and Yılmaz (2013) accepted mice as diabetic if blood glucose level was between 140-200 mg/dL (25), and Kanitkar and Bhone (2004) verified mice as diabetic if it was 200 mg/dL. In our study, mice with ≥ 200 mg/dL fasting blood glucose level established as diabetic (19).

The relationship between body weight and diabetes was evaluated by many studies. Grover et al. (2001) reported that diabetes did not cause body weight loos in mice with experimental diabetes by applying STZ at 150 mg/kg dose (22). Korođlu et al. (2014) stated that diabetes created body weight loos in rats which were applied STZ at 65 mg/kg dose and kept for 28 days (26). Shin et al. (2014) determined that diabetes caused body weight loos in mice with experimental diabetes which they created with using STZ (23). We found that body weight decreased statistically significant in diabetic group during the 30 days. We thought that this result became because of glucose metabolism deficit during diabetes.

Harackova and Murphy (1988) reported that there were not significant changes in ventricular muscle cells of rats between diabetic and control groups (27). Contrary to this study, Cai et al. (1989) stated that myocardia layer was thinner in diabetic male rat heart (28). Cai et al. (1989) and Sun et al. (1993) expressed that there was damage to myofibrils in the heart muscle cell (28,29). Çetin et al. (2013) mentioned that pycnotic nuclei and eosinophilic cytoplasm were observed in myocyte of heart in the experimental diabetic group (30). They also stated that vacuoles with miscellaneous dimensions were seen in cytoplasm of those cells. We determined that degeneration of myocytes in some region and irregularity in some intercalated discs in diabetic mice heart.

When we reviewed the literature, we could not encounter any study about OTR immunoreactivity in diabetic

mouse heart. Jankowski et al. (2004) announced that they showed OTR in endothelial cells of rat hearts at the 21st day of embryonic development and at the 1st postnatal day in their study related to development ontogeny. Wigger et al. (2004) reported that OTR was shown in the heart muscles, and in vessel wall and endothelial cells (31). Merz et al. (2020) showed OTR immunoreactivity in heart tissue (32). We saw OTR in membrane of myocytes, cytoplasm of some cells, valve of heart and small capillaries. We also determined that the OTR immunoreactivity in the diabetic mice heart was weaker than that of others. We considered that there is a suppressing effect of hyperglycaemia on OTR expression as Liu et al. (33) previously mentioned.

In conclusion, we found that diabetes caused degeneration in some part of heart, and decreased OTR immunoreactivity in heart tissue. Because of this results, we considered that there is a clear relationship between OTR, diabetes and heart tissue triad. In conclusion, we thought that diabetes might have an effect on the cardiovascular system through OTR.

CONFLICTS OF INTEREST

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENT

We thank Dr. Erhan Arıcı, Dr. Serdar Yiğit, Dr. Ayşe Aydoğan, Dr. Engin Yalmanlı and Dr. Yakup Zühtü Birinci. This study was supported by a grant from Kafkas University, BAP (Project No: 2016-TS-42). This results described in this paper were part of Serkan ARICI's master thesis (2019) at Kafkas University, Medical Science Institute

REFERENCES

1. Çavuşoğlu T, Çiftçi ÖD, Çağiltay E, et al. (2017). Diyabetik Kardiyomiopati Sıçan Modelinde Oksitosin Etkilerinin Histolojik ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi. *Dicle Tıp Dergisi*. 44(2): 135-143.
2. Işık S, Delibaşı T, Berker D, Aydın Y, Güler S. (2009) Kalp Hastalıklarında Diyabet Yönetimi. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*. 9: 238-247.
3. Özel CB, Arıkan H, Dağdelen S, et al. (2021). Investigation of Cardiovascular Disease Risk Factors Knowledge and Physical Activity Levels in Patients with Type 2 Diabetes. *Journal of Exercise Therapy and Rehabilitation*. 8(1): 99-105.
4. Du Vigneaud V. (1956). Trail of Sulfur Research: From Insulin to Oxytocin. *Science*. 123: 967-974.
5. Bjorkstrand E, Eriksson M, Uvna Moberg K. (1996). Evidence of Peripheral and a Central Effect of Oxytocin on Pancreatic Hormone Release in Rats. *Neuroendocrinology*. 63: 377-383,
6. Wang P, Wang SC, Liu X. (2022). Neural Functions of Hypothalamic Oxytocin and its Regulation. *American Society for Neurochemistry*. 14: 1-33.
7. Paquin J, Danalache BA, Jankowski M, Mccann SM, Gutkowska J. (2004). Oxytocin Induces Differentiation of P19 Embryonic Stem Cells to Cardiomyocytes. *Proc Natl Acad Sci*. 99: 9550-9555.
8. Jankowski M, Danalache B, Wang D, et al. (2004). Oxytocin in Cardiac Ontogeny. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 13074-13079.
9. Houshmand F, Faghihi M, Zahedi S. (2009). Biphasic Protective Effect of Oxytocin on Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury in Anaesthetized Rats. *Peptides*. 30(12): 2301-2308.
10. Ondrejčáková M, Ravingerová T, Bakos J, Panca D, Jezová D. (2009). Oxytocin Exerts Protective Effects on in Vitro Myocardial Injury Induced by Ischemia and Reperfusion. *Can J Physiol Pharmacol*. 87: 137-142.
11. Balazova L, Krskova K, Suskp M, Sisovsky V, Hlavacova N, Olshanecki R. (2016). Metabolic Effects of Subchronic Peripheral Oxytocin Administration in Lean and Obese Zucker Rats. *J Physiol Pharmacol*. 67:4531-4541.
12. Gutkowska J, Jankowski M, Lambert C, Mukaddam-Daher S, Zingg HH, Mccann SM. (1997): Oxytocin Releases Atrial Natriuretic Peptide by Combining with Oxytocin Receptors in the Heart. *Proc Natl Acad Sci*. 94: 11704-11709.
13. Biggs LM, Hammock EAD. (2022). Oxytocin via Oxytocin Receptor Excites Neurons in the Endopriform Nucleus of Juvenile Mice. *Scientific Reports*. 12(1): 11401.
14. Mineo H, Ito M, Muto H, Kamita H. (1997). Effect of Oxytocin Arginine-Vasopressin and Lysine-Vasopressin on Insulin and Glucagon Secretion in Sheep. *Res in Veterinary Science*. 62: 105-110.
15. Wallin LA, Fawcett CP, Rosenfeld CR. (1996). Oxytocin Stimulates Glucagon and Insulin Secretion in Fetal and Neonatal Sheep. *Endoc*. 125: 2289-2296.
16. Knudson J. (1981). Acute Effect of Oxytocin and Vasopressin on Plasma Levels of Glucagon, Insulin and Glucose in Rabbits, *Horm Metab Res*. 15:103-106.
17. Aitzuler N, Hamshire J. (1981). Oxytocin Infusion Increases Plasma Insulin and Glucagon Levels and Glucose Production and Uptake in the Dog. *Diabetes*. 30: 112-114.
18. Bingöl SA, Kocamış H. (2010). The Gene Expression Profile by RT-PCR and Immunohistochemical Expression Pattern of Catalase in the Kidney Tissue of Both Healthy and Diabetic Mice. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 16 (5): 825-834.
19. Shaukat A, Hussain G, Ijaz MU, Anwar H. (2022). Therapeutic Potential of MgO and MnO Nanoparticles within the Context of Thyroid Profile and Pancreatic Histology in a Diabetic Rat Model. *Dose-Response*. 20(3): 1-11.
20. Luna LG. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of Armed Forces Institute of Pathology*. 3th ed., pp. 222-226. Mc GrawHill Book Comp, New York.
21. Hsu SM, Raine L, Fanger H. (1981). A Comparative Study of the Peroxidase-Antiperoxidase Method and an Avidin-Biotin Complex Method for Studying Polypeptide Hormones with Radioimmunoassay Antibodies. *American Journal of Clinical Pathology*. 75(5): 734-738.
22. Grover JK, Vats V, Rathi SS, Dawar R. (2001). Traditional Indian Anti-Diabetic Plants Attenuate Progression of Renal Damage in Streptozotocin Induced Diabetic Mice. *J Ethnopharmacol*. 76(3): 233-238.
23. Wada T, Furuichi K, Sakai N, et al. (2000). Upregulation of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Tubulointerstitial Lesions of Human Diabetic Nephropathy. *Kidney Int*. 58(4): 1492-1499.
24. Yeğin SÇ, Mert N. (2013). Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda HbA1c, MDA, GSH-Px ve SOD Miktarlarının Tayini. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*. 24: 51-54.
25. Demir E, Yılmaz Ö. (2013). Streptozotocin İle Tip-2 Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Çam Yağının Antihiperglisemik ve Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkisi. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*. 25(3): 140- 156.

26. Koroglu P, Senturk GE, Yucel D, Ozakpinar OB, Uras F, Arbak S. (2014) The Effect of Exogenous Oxytocin on Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Adult Rat Testes. *Peptides*. 63: 47-54.
27. Harackova M, Murphy MG. (1998). Effects of Chronic Diabetes Mellitus on the Electrical and Contractile Activities, $45Ca^{2+}$ Transport, Fatty Acid Profiles and Ultrastructure of Isolated Rat Ventricular Myocytes. *Pflugers Arc*. 411: 564-572.
28. Cai F. (1989). Studies of Enzyme Histochemistry and Ultrastructure of the Myocardium in Rats with Streptozotocin Induced Diabetes. *Zhonghua Yixue Za Zhi*. 69(5): 276-278.
29. Sun S, Dawuti A, Gong Difei. (2022). Puerarin-V Improve Mitochondrial Respiration and Cardiac Function in a Rat Model of Diabetic Cardiomyopathy via Inhibiting Pyroptosis Pathway through P2X7 Receptors. *Int J Mol Sci*. 23(21): 13015.
30. Çetin A, Vardı N, Orman D. (2013). Deneysel Diyabetin Sıçan Kalp Dokusunda Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler Üzerine Aminoguanidinin İyileştirici Etkileri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*. 4(1): 1-11.
31. Wigger DC, Gröger N, Lesse A. (2020). Maternal Separation Induces Long-Term Alterations in the Cardiac Oxytocin Receptor and Cystathionine γ -Lyase Expression in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020: 1-10.
32. Merz T, Denoix N, Wigger D. (2020). The Role of Glucocorticoid Receptor and Oxytocin Receptor in the Septic Heart in a Clinically Relevant, Resuscitated Porcine Model with Underlying Atherosclerosis. *Frontiers in Endocrinology*. 11: 1-8.
33. Liu J, Liang Y, Jiang X, et al. (2021). Maternal Diabetes-Induced Suppression of Oxytocin Receptor Contributes to Social Deficits in Offspring. *Frontiers in Neuroscience*. 15: 634781.

✉ **Corresponding Author:**

Serkan ARICI
Ministry of Education, Ertuğrul Gazi Anatolian High
School, Bursa, TÜRKİYE
E-posta: serkanarici05@gmail.com



Investigation of the Effects of Different Surgical Techniques on Behavior in Self-Sucking Cows in Modern and Individual Family Farms

Nahit SAYLAK^{1,a,✉}, Semih ALTAN^{1,b}

¹Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Dicle University, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0003-2008-5403; ^bORCID: 0000-0003-3158-3678

Geliş Tarihi/Received
03.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
05.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Abstract

Self-sucking or sucking other animals in the herd, which has an abnormal behavior disorder, and it is an important problem in dairy cattle farms. Surgical treatment is mostly recommended as a treatment for this disease, which causes economic problems. In this study, which was carried out on self-sucking cows, it was aimed to investigate the effects on different surgical treatment techniques in modern and individual family farms. While the surgical treatment of self-sucking behavior disorder in family farms has been successful, the operation results of this behavior disorder in modern farms have been unsuccessful. It was concluded that surgical treatment was unsuccessful in modern farms due to herd management problems. Surgical treatments for this visually acquired behavioral disorder of cows are insufficient. It has been concluded that environmental factors cause this behavior disorder and taking them into consideration while performing the operation will increase the chance of success.

Key Words: Minimally invasive, self-sucking cow, tongue surgery, ventral glossectomy

Modern ve Aile İşletmelerindeki Kendini Emen İneklere Uygulanan Farklı Operasyon Tekniklerinin Davranış Üzerine Etkileri

Öz

Kendi kendini ya da sürüdeki diğer hayvanları emme, süt sığırcılığı işletmelerinde karşılaşılan önemli bir davranış bozukluğudur. Ekonomik sorunlara neden olan bu davranış bozukluğunun tedavisi olarak çoğunlukla operatif tedavi önerilmektedir. Kendi kendini emen inekler üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, modern ve bireysel aile işletmelerinde farklı cerrahi tedavi teknikleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Aile işletmelerindeki ineklere uygulanan operatif tedavilerin sonuçları olumlu olurken, modern işletmelerdeki ineklerin operatif tedavisinde aynı başarı sağlanamamıştır. Modern işletmelerde yapılan operatif tedavilerde istenilen sonuçlara ulaşılamaması sürü yönetimindeki sorunlara bağlandı. Operatif tedavilerin yetersiz kaldığı bu davranış bozukluğunu inekler görsel olarak edinmelerine rağmen etiolojisinde çevresel etmenlerinde rol oynadıkları ve tedavi sürecinde bunlarında göz önünde bulundurulmasının başarı şansını arttıracak kanaatine varıldı.

Anhtar Kelimeler: Dil cerrahisi, kendini emen inek, minimal invaziv, ventral glossektomi

INTRODUCTION

Self-sucking is a behavioral disorder, but it can lead to visual behavioral disorders as other animals in the herd may also be affected by this behavior disorder. Self-sucking creates big problems in terms of herd management (1). Another problem seen in cows with this behavioral disorder is tongue-playing disease, and it is known that they usually showed together. It has been reported that various causes are involved in the etiology of tongue-playing disease. While some researchers emphasize that it may occur especially from manganese (Mn) and copper (Cu) deficiency (2), others argue that trace elements do not cause this problem (3). It is thought that this self-sucking behavior is mostly caused by multifactorial reasons. These can be listed as genetic factors,

diet, nutritional deficiency, and shelter systems (4,5). Self-sucking causes serious economic losses in terms of dairy industry and total farm expenses, as it leads to a decrease in milk production, resulting in calf malnutrition, udder injuries and increase in veterinary expenses (6). Several conservative methods (such as pointed nose rings, weaning rings, neck collars) are used to overcome this problem (figure 1). However, these methods may be insufficient to eliminate this behavior disorder (7). Surgical treatment is the most reliable treatment method in this behavioral disorder, as it provides a radical solution. Among these, invasive methods such as the ventral/lateral glossectomy technique (figure 2) (1,8,9) and recently some apparatuses are used in the ventral part of the tongue. In addition to these, less invasive tech-

niques have been started to be used that prevent the formation of grooves formed by the tongue during sucking with suture applications (figure 3) (10,11). There are studies for self-sucking treatment in the literature review about this behavior disorder. However, no study has been found on the reasons for the relationship between this situation, which is a behavioral problem, and the farms structure and management. Therefore, in this study, it is aimed to investigate whether farm structure and management methods are effective on the success of surgical treatment in cows with self-sucking behavioral disorder.

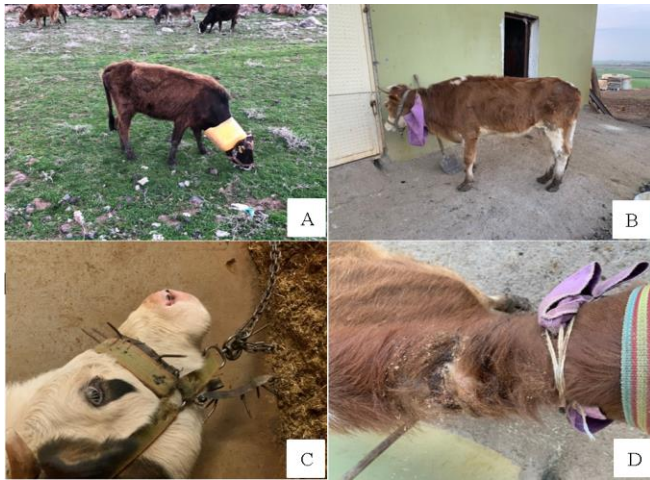


Figure 1. Some methods applied by the patient owner to prevent self-sucking

Deterrent methods:

- A. A collar made from a drum
- B. Wrapping the cow's mouth with a piece of cloth
- C. Special nosepiece made of pointed iron
- D. Thread tying method resulting in an open wound



Figure 2. Ventral glossectomy stages

- A. Infiltration anesthesia (6- point injection locally)
- B. Incision shape
- C. Separation of mucosa
- D. Stitching application
- E. The final state of the suture application
- F. Wound healing on the 7th postoperative day

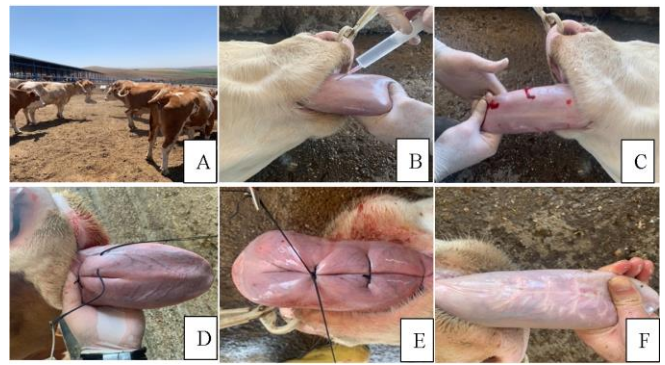


Figure 3. Minimally invasive suture application

- A. Paddock image of self-sucking cows of modern farms
- B. Local infiltration injection
- C. After local infiltration injection
- D. Minimally invasive suture application
- E. Final of minimally invasive suture application
- F. Recovery period 2 weeks post operative

MATERIALS AND METHODS

Total of 190 cows constituted the material of the research. In the study, ventral glossectomy (n=46) and a minimally invasive surgical method, ventral suture (n=40) were performed on 86 cows sucking themselves or another cow in traditional family farms. Ventral glossectomy (n=7) and minimally invasive suture (n=7) were performed on cows in a modern dairy farm with 14 self-sucking cows. In addition, 90 healthy cows without any behavioral problems in modern and family farms were followed up regularly for six months to observe how and to what extent they were affected by animals with self-sucking problems.

Operative Process

Before starting the operation, the physiological parameters of the animals such as heart rate, respiratory rate, rectal temperature, and rumen movements were examined and recorded. As a result of clinical examinations, cows suitable for the operation in animals were included in the study. For anesthesia, each cow was restrained by the Rueff method using 0.02 mg/kg xylazine HCl (Rompun 2%, Bayer, Türkiye) as preanesthetic. An assistant manually grasped the head and tongue over the mouth by pressing on the basal septum, and the tongue was pulled out and inverted. Tourniquet was applied by placing a gauze strip at the root of the tongue, and this bandage was tied over the head to keep the tongue out. After applying 10-15 ml of lidocaine HCl (Vilcain, Vilsan, Türkiye) for local infiltration anesthesia from 4 or 6 points depending on the size of the tongue, the operation was completed with ventral glossectomy and minimally invasive suture method. In the post-operative period, ceftiofur sodium (Excede, Zoetis) 1.5 ml/45 kg SC was administered as antibiotherapy for 5 days. For postoperative analgesia, a single dose of 0.5 mg/kg meloxicam (Boehringer Ingelheim, Metacam 20 mg/ml) was administered as SC. Postoperatively, 10% glycerine iode was applied for oral antisepsis.

RESULTS

Management

The number of animals in the family farms was 3-6 cows and they were fed with a tied system. The diet of the cows was grazing all day long in the pasture and supplemented with a tied system in the barn. It was learned that the cows with this abnormal behavior in family farms were fed only with milk for one month during the calving period and then fed only with feed two months after the milk was reduced and feed supplements were made. It was learned that the calf was tied up next to its mother during milking, and after milking was over, the calf was allowed to suckle the milk allocated to it, and during this period, it was fed with milk from both udder of its mother for the first month and with milk from one udder of its mother after 1 month. It was learned that all animals in the family farms were fed this way and the cows showing this abnormal behavior had not shown such behavior before, but after one cow showed this behavior in the farm, this problem started in other cows if they were not treated in the farm. In the modern dairy farm, there were over 400 cows and all of them were fed on a free system. Cows were kept side by side and in groups of 15 in each paddock. Neighboring cows were constantly seeing each other.

These animals, whose diet was in the form of concentrated feed twice a day, completed the feeding period for 20 minutes each time and spent all other times of the day resting. It has been learned that the cows showing this behavior disorder in the nutrition system in modern farms are separated from their mothers as soon as they are born and fed with a bottle and then reared together in the paddock system during the calf period. The calves that were transferred to the paddock system were fed with udder milk given with a bottle for the first three days, and then started to be fed with milk replacer feeds and concentrated feeds.

Operation Findings

Ventral glossectomy operation took an average of 15 ± 4 minutes, while minimally invasive suturing took 8 ± 3 minutes. After the operation in all cows, the inability to put their tongues in the mouth and lying on the ground for about 10 minutes because of anesthesia. All the cows were able to stand up without any complications after the operation and this period lasted 34 ± 7 minutes. After approximately 1 hour, it was determined that the animals returned to their original state and physiological values (heart rate, respiratory rate, rectal temperature, and rumen movements) approached normal values. All operations were followed for six months, and no complications related to the operation wound occurred. In both techniques applied in the study, success was achieved in all cows operated in family farms, while success was achieved in only 1 of the 14 cows included in the study in a modern dairy farm where many cows were together. There was only one successful cow out of 7 cows who underwent ventral glossectomy, and this cow was pregnant for 6 months and passed into the dry period after the operation. No success was obtained from 7 cows that underwent minimally invasive suture technique. In the modern farm, it was decided by the owners to remove all the cows from the farm

because of the rapid weight loss in addition to the nutritional problems in the cows after the operation.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Self-sucking or sucking another cow is a common problem in dairy farms and causes serious economic losses as it causes udder damage, mastitis and breeding animal culling as well as milk loss (12). It has been proven in Gaude's study that the amount of feed during the calf period, the duration of the milk drinking period and the crowded feeding phase are the most important risk factors for self or other animal sucking behavior disorder (13,14) stated that if the number of fed during the day is increased and the time between milk substitutes offered is reduced, the motivation for sucking and thus the probability of cross-sucking will decrease (15). Cross-sucking in motherless calf breeders is not considered a disorder but rather a natural behavior that occurs as an abnormality in individual animals under favorable environmental conditions such as a restrictive diet, absence of mother cows, or the presence of tolerances (15,16).

It is claimed that conservative practices made with traditional methods to prevent self-sucking of animals fail and that other cows in the farms are also affected by this behavior disorder and self or inter-sucking. It is known that surgical treatment is a more radical solution instead of traditional control methods for treatment and surgical procedures are more satisfactory (8). Surgical treatment is based on the excision of tongue tissues of different thickness, which prevents the tongue from curling, which is important for suction by disrupting the normal contour of the tongue. At the end of the surgical procedures, these procedures are a permanent and radical solution, as the tongue cannot grasp the breast, which is necessary for the sucking function. Although there are many surgical techniques, some advantages and disadvantages of these techniques are reported (10). Because mouth sores heal faster and with less scarring than skin wounds (17-19).

The etiology of the behavioral disorder is very important to eliminate this behavior disorder with deterrent, medical or operative methods (20). The success rates of invasive and minimally invasive operations performed by the same person in modern and family farms are very different; It has been the proof of the negative effect of calf nutrition of animals in modern farms on this behavior disorder.

It has been concluded that this behavioral disorder, which occurs later in family farms, can be treated with surgery. Even though all operations were performed by the same method and by the same person, the results were very different according to the type of operation, which is an indication that the behavioral disorder in these animals has become a habit. The success of the operations in terms of changing habits; It has been concluded that it depends on the environment of the enterprise and the animal, the shelter and nutrition of the animal. The completely positive results from both operations in family farms show that both operations can be performed in animals fed with the connected system. In addition to the diet in the farm management and the way of sheltering with other animals, especially in

the same paddock with the animals with behavioral problems or in the paddock next to it, the formation of this behavior disorder and its course like a contagious disease visually shows that the behavior patterns of the animals have changed.

In conclusion, with this study, it was revealed that mistakes in herd management were effective on behavioral disorders and some behavioral disorders in animals affected the behavior of other animals. In the postoperative period, animals attempt to suck themselves as they did before, but since their operated tongue cannot grasp their breasts, they accept that this attempt has failed, because of learned habit, and give up this behavior. However, if the stimulating factors are not removed, there may be a re-orientation to this behavior disorder. As a result of the observation of 90 healthy cows without behavioral disorder and included in the study for six months after the research; While there was no problem in family farms, this behavioral disorder was observed in modern farms after a certain period. Observation of cows showing this behavior disorder in the same paddock or side by side in modern farms suggested that this behavior is a visual acquired behavior disorder. Although the success rate of operations is high in individual family farms, the reason why this success rate is low in modern farms is that other animals in the herd are affected by self-sucking cows, especially in large enterprises. While the method of surgical treatment of self-sucking behavioral disorder does not matter, it is concluded that environmental factors affect the success.

CONFLICTS OF INTEREST

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

REFERENCES

1. Salman Y, Semieka M, Karmi M, Al-Lethie ALA. (2022). A Novel Surgical Technique for Prevention of Self-Sucking in Cattle and Buffaloes: Tongue Piercing. *BMC Veterinary Research*. 18(1): 1-7.
2. İssi M, Özçelik M, Gül Y. (2009). Dil Oynatma Hastalıklı Sığırlarda Hematolojik Bulgularla Birlikte Bazı Mineral Madde ve Vitamin Düzeyleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*. 15: 931-935.
3. Okatan AG, Yücel ÇAM, Leblebici Z. (2008). Kayseri Yöresinde Dil Oynatma Hastalığı Olan Sığırlarda Bazı İz Elementlerin Serum Düzeylerinin Değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*. 17: 16-22.
4. Debrecéni O, Juhás P. (1999). Milk-Sucking in Dairy Cattle in Loose Housing in Slovakia. *Livestock Production Science*. 61: 1-6.
5. Keil NM, Audigé L, Langhans W. (2000). Factors Associated with Inter-sucking in Swiss Dairy Heifers. *Preventive Veterinary Medicine*. 45: 305-323.
6. Nazih MA, El-Sherif MW. (2019). Anatomic Surgical Orientation of the Intraglossal Neurovascular Termination of Egyptian Bovine. *World J Vet Res*. Pp. 1001.
7. Bademkiran S, Üstün B, Kanay, BE. (2006). Diyarbakır Bölgesindeki Sütçü İneklerde Kendini Emmenin Engellenmesi Amacıyla Uygulanan Bazı Yöntemler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 17: 59-64.
8. Abou-El-Ella AG. (1999). Surgical Treatment of Anomalous Milk Sucking in Friesian Dairy Cattle. *Assiut Vet Med J*. 42: 260-70.

9. Yong H, Cho J, Kim S. (2008). Tongue Surgery of a Cow Showing a Constant Inter Sucking Behavior. *J Vet Clin*. 25: 136-8.
10. El-Sherif MW. (2018). Tongue Reshaping: A New Surgical Method to Prevent Self-Sucking in Dairy Cows. *Open Veterinary Journal*. 8: 140-143.
11. Seddek AM, Abdelfattah M, Elrashidy MH, Mahmoud FA, Zakaib FA. (2019). Intra-Lingual Suture Pattern for Prevention of Self-Suckling in Cows. *Veterinary and Animal Science*. 8: 100062.
12. Ahmed IA, Helal MA, Ramadan SG, et al. (2014). Risk Factors Associated with Galactophagia and Its Impacts on Some Productive and Reproductive Traits in Dairy Cows and Buffaloes. *Res Rev: J Dairy Sci Technol*. 4(2): 1-7.
13. Gaude I. (2014). Besaugen Bei Kälbern der Rasse Deutsches Fleckvieh, Risikofaktoren und Bedeutung der Individuellen Stressreaktion (Doctoral Dissertation, Bibliothek der Tierärztlichen Hochschule Hannover).
14. Brummer S. (2004). Untersuchungen zur Reduzierung des Gegenseitigen Besaugens bei Kälbern in Gruppenhaltung mit Tränkeabrufautomaten (Doctoral Dissertation, Technische Universität München).
15. Schuldt A, Dinse R. (2020). Investigations into Cross-Sucking and Possibilities of Reducing This During Calf Rear Hochschule Neubrandenburg. Reihe I, Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften. Bd. 8.
16. Lidfors L, Isberg L. (2003). Intersucking in Dairy Cattle-Review and Questionnaire. *Appl Anim Behav Sci*. 80: 207-31.
17. Brand HS, Ligtenberg AJ, Veerman EC. (2014). Saliva and Wound Healing. *Saliva: Secretion and Functions*. 24: 52-60.
18. Geiger D, Debus ES, Ziegler UE, et al. (2005). Capillary Activity of Surgical Sutures and Suture-Dependent Bacterial Transport: A Qualitative Study. *Surgical Infections*. 6(4): 377-383.
19. Silver E, Wu R, Grady J, Song L. (2016). Knot Security-How is it Affected by Suture Technique, Material, Size, and Number of Throws? *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 74: 1304-1312.
20. Allmacher G. (1998). Mouth-Nose Ring to Prevent Cattle from Sucking. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 105: 104-105.

✉ Corresponding Author:

Nahit SAYLAK

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine,
Dicle University, Diyarbakır, TÜRKİYE

E-posta: nsaylak@gmail.com



Koyunlarda Koç Katımı Öncesi Antioksidan Kullanımının Oksidatif Stres ve Bazı Fertilitte Parametreleri Üzerine Etkisi

Yasemin KAPLAN BİLMEZ^{1,a,✉}, Nihat ÖZYURLU^{2,b}

¹GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi, Diyarbakır, TÜRKİYE

²Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-3071-4130; ^bORCID: 0000-0001-8115-2222

Geliş Tarihi/Received
21.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
05.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Bu çalışma, üreme sezonunun olduğu yaz mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde kalan koyunlarda, koç katımı öncesinden verilen antioksidanların (A, D, E ve Se) oksidatif stres ve fertilitte parametreleri üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapıldı. Çalışma 71 baş Zom koyunu üzerinde yürütüldü. Koyunlar koç katımından 2 ay öncesinden antioksidan verilen çalışma grubu (Grup I; n=36) ve verilmeyen kontrol grubu (Grup II; n=35) olmak üzere ikiye ayrıldı. Tüm hayvanlardan, total antioksidan statüsü (TAS) ve total oksidan statüsü (TOS) düzeyleri için koç katımından 2 ay önce, 1 ay önce ve koç katım anında, malondialdehit (MDA) için koç katımı sonrası 16. ve 24. günlerde kan örnekleri toplandı. Çalışma süresince bölgenin sıcaklık verileri ve sıcaklık nem indeksi değerleri kaydedildi. Meteorolojik verilere göre koç katımı anında hayvanların sıcaklık etkisiyle, özellikle temmuz ve ağustos aylarında, öğlen saatlerinden akşam saatlerine kadar Sıcaklık Nem İndeksi (SNI)'nin yüksek etkisine maruz kaldığı belirlendi. Yapılan antioksidan uygulamalarının; Grup I ve Grup II'nin aynı günlerdeki oksidatif stres parametreleri sonuçlarını istatistiksel olarak değiştirmedikleri görüldü ($P>0.05$) Ancak her iki grubun farklı günlerinde anlamlı bulunan değerler elde edildi ($p<0.05$). Fertilitte parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmadı ($P>0.05$). Ancak, ikizlik oranının Grup I'de (%30), kontrol grubuna göre (%10,5) yaklaşık üç kat fazla çıktığı tespit edildi. Gruplar arasında aynı günlerde alınan örneklerin sonuçları arasında oksidatif stres parametreleri açısından herhangi bir fark bulunamadı. Ancak antioksidan uygulamasının ikizlik oranına olumlu bir etkisinin olduğu görüldü. Meteorolojik veriler dikkate alındığında hayvanların üreme mevsimi boyunca sıcaklık stresine maruz kaldıkları görüldü. Sonuç olarak, yazın sıcaklık stresinin olumsuz etkilerine karşı koruyucu önlemler alınmasının ve antioksidan uygulamalarının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, dölverimi, koyun, sıcaklık stresi

The Effect of Using Antioxidant on Oxidative Stress and Some Fertility Parameters in Sheep Before Ram Introduction

Abstract

This study was carried out in order to determine using effects of antioxidants (A, D, E and Se) administration before ram introduction on the oxidative stress and fertility parameters in sheep under the effect of heat stress in the summer season during the breeding season. The study was conducted on 71 Zom sheep. The sheep were divided into two groups as the study group (Group I; n=36), which was given antioxidants 2 months before the ram introduction and control group (Group II; n=35) not given. Blood samples were collected from animals in all animals 2 months before, 1 month before and at the time of ram introduction for TAS and TOS levels, and at 16 and 24 days after ram introduction for MDA. The temperature data and temperature-humidity index values of the region were recorded during the study. According to the meteorological data, animals were exposed to the high effect of THI from noon to evening hours, especially in July and August, with the effect of temperature during ramming. It was observed that antioxidant applications did not statistically change the results of oxidative stress parameters in group I and group II on the same days ($P>0.05$). However, significant values were obtained in terms of TAS, TOS and OSI on different days of both groups ($p<0.05$). There was no difference between the groups in terms of fertility parameters in the study ($P>0.05$). However, the twinning rate was found to be approximately three times higher in Group I (30%) compared to the control group (10.5%). No difference was found between the results of the samples taken on the same days between the groups in terms of oxidative stress parameters. However, it was observed that antioxidant application had a positive effect on twinning rate. According to meteorological data animals were exposed to heat stress during the breeding season. In conclusion, taking protective measures against the negative effects of heat stress in summer and antioxidant applications will be beneficial.

Key Words: Antioxidant, fertility, heat stress, sheep

GİRİŞ

Koyunculuk hem ekonomik hem de sosyo-politik yönleriyle önem arz eden bir hayvancılık dalıdır. Yüksek fertilitte kapasitesine sahip olmaları, verime geçiş aralığının uzun olmaması,

daha düşük sermaye ile yürütülebilmesi ve düşük yatırım giderleri gibi avantajlar koyun yetiştiriciliğinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir (1). Koyunlarda verimliliği etkileyen en önemli faktörlerin başında beslenme yetersizlikleri ve sıcak iklimlerde meraya dayalı beslenme şeklinde oluşan verim kayıpları gelmektedir (2). Yüksek çevre ısı ile nispi nem

oranı hayvanda stres oluşturan önemli faktörlerdendir (3,4). Özellikle sıcak yaz aylarında kritik seviyelerin aşıldığı bölgelerde gerek beslenme yetersizliği gerekse sıcaklık stresi hayvanların et, süt ve fertilitate verimlerinde azalmalara sebep olmaktadır. Bu da yem tüketiminin azalması ve artan stres ile oluşan oksidatif dengenin bozulmasından kaynaklanmaktadır (3,5). Oksidatif stres hücrenel veya bireysel düzeyde oksidan ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine oluşan dengelessness olarak tanımlanır (6). Oksidatif stres, hayvanlarda erken embriyonik ölümler, sepsis, periparturient ve postpartum hastalıklar, luteolizis, follikül gelişim bozukluğu, metabolik hastalıklar ve mastitis gibi problemlere neden olarak çiftlik hayvanlarında önemli verim kayıplarına yol açmaktadır (7,8). Öte yandan, sıcaklık stresi durumunda yem tüketiminin azalması ile enerji dengesi olumsuz yönde etkilendiğinden hayvanlarda insülin, glikoz ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) seviyelerinde azalma olur. Bunun yanında gonadotropin salıverici hormon (GnRH), follikül uyarıcı hormon (FSH), luteinleştirici hormon (LH), progesteron ve östrojen hormonlarının salınım ve sentezinde sorunlar yaşanır. Sıcaklık stresinin etkisiyle; follikül gelişiminde gecikme, oosit kalitesinde azalma, ovulasyonda gecikme veya ovulasyonun şekillenememesi, embriyonun implantasyonunda başarısızlıklar, embriyonik ölümler ve düşük canlı ağırlığa sahip yavrular, gebelik oranında azalma, östrüs siklusunda aksamalar ve östrüs tespitinde güçlükler, anöstrüs ve uygun olmayan uterus ortamı gibi fertilitate ile direkt ilişkili olumsuzluklar görülmektedir (3,4,9). Bu amaçla, sıcaklık stresinin neden olduğu olumsuz etkileri azaltmak için; bakım ve beslenme koşullarının düzeltilmesi, azalan yem tüketimi kaybının önüne geçilmesi, dengeli rasyon, yem katkı maddeleri ilavesi, antioksidan uygulamaları, serinletme, gölgeleme, genetik seleksiyon, hormon kullanımı ve üremenin denetlenmesi gibi uygulamalar yapılmaktadır (4,5,10,11). Antioksidan olarak da bilinen vitamin, mineral ve iz elementler oksidatif stresin engellenmesi, metabolizmanın düzenlenmesi ve fertilitate verilerinin iyileştirilmesinde önemli rollere sahiptirler (12-14). Antioksidanlar vücuttaki serbest radikallerin hücrelere hem hasar vermesini engeller hem de serbest radikallerin vücuttan temizlenmesine yardım eder (15-17). Organizmada belli bir seviyede üretilen oksidan molekülleri etkisiz hale getiren antioksidanlar; vücutta aşırı miktarda üretilen serbest radikalleri hem azaltarak hem de endojen antioksidan savunma sistemini serbest radikallere karşı uyararak etkinlik göstermektedir. Bazı durumlarda vücuttaki antioksidan seviyesi yeterli gelmediğinden eksojen antioksidanlara ihtiyaç duyulur (16,18). Ayrıca, eksojen antioksidan maddeler, endojen antioksidan maddelerin üretiminde ve yapısında yer aldıklarından antioksidan savunma sistemi için çok önemlidirler (19). Oksidatif stres çalışmalarında, organizma veya çevresel faktörlerden kaynaklı ortaya çıkan oksidanların belirteci olarak total oksidan seviyesine (TOS), vücudun oksidanlara karşı olan antioksidan kapasitesi açısından total antioksidan seviye (TAS) düzeyine bakılmaktadır (20,21). Ayrıca, hücrelerde lipid peroksidasyon sonucu ortaya çıkan malondialdehit (MDA) de hasarın bir göstergesi ve oksidatif stresin bir belirteci olarak değerlendirilmektedir (22).

Koyunlarda çevre sıcaklığı 25-30 °C'nin üzerine çıktığında olumsuz etkiler oluşmaya başlar. Çalışmanın yapıldığı

bölgede üreme sezonuna girişin olduğu yaz aylarında sıcaklık hayvancılık açısından kritik seviyelere erişmektedir. Yapılan çalışmada, üreme mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde olan koyunlarda, koç katımı öncesinden düzenli aralıklarla yapılan antioksidan uygulamalarının fertilitate ile oksidan ve antioksidan seviyeleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışmanın Yapıldığı Bölge ve İklim

Çalışma Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde yürütüldü (Enlem; 37° 55' 41" N, boylam; 40° 16' 46" E, rakım; 660 metre). Çalışmanın yapıldığı bölgenin iklimi sert karasal bir iklim özelliğinde olup yaz ayları çok sıcak geçmektedir. Çalışma başlangıcından itibaren çiftliğin lokasyonunun bulunduğu bölgenin sıcaklık ve sıcaklık nem indeksi verileri (gün/en düşük ve en yüksek sıcaklığı ve gün/sıcaklık nem indeksi) çalışma başından çiftleştirme sonrası sıcaklığın devam ettiği ağustos ayı sonuna kadar takip edildi. Veriler Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden (MGM) alındı. Sıcaklık nem indeksi hesaplaması ve stres/risk etkisini gösteren detaylı veriler ulusal araştırma konseyi (NRC) tarafından da ifade edildiği gibi SNİ verileri için aşağıdaki hesaplama yönteminin kullanıldığı ifade edilmiştir (23).

$$SNİ = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T - 26.8)] \quad (23,24).$$

(T : °C olarak hava sıcaklığını, RH ise % olarak nispi nem ifade etmektedir).

Yukarıdaki hesaplama göre SNİ; 66-71 arası hafif stres, 72-79 arası stres, 80-89 arası yoğun stres olarak ifade edilmiştir (23,24). Diğer bir kaynağa (25) göre de ≤ 74 normal, 75-78 alarm durumu, 79-83 tehlikeli aralık, 84 ve üzeri ise acil ve ağır durum olarak ifade edilmiştir. Bu çalışmadaki SNİ açısından değerlendirilen aralıklar NRC ve MGM referanslarına (23,24) göre ele alındı.

Hayvan Materyali ve Çalışma Düzeni

Çalışmada 71 adet en az bir doğum yapmış Zom koyunu kullanıldı. Çalışma materyalini oluşturan koyunlar klinik olarak sağlıklı ve vücut kondisyon skoru daha önce tanımlanan 5 skalasına (26) göre 2,5-3,5 olan koyunlardan seçildi. Tüm hayvanlara meraya dayalı bir örnek beslenme uygulandı. Koyunlar koç katımından yaklaşık 2 ay öncesinden; Grup I (n=36) antioksidan kullanılan çalışma grubu ve Grup II (n=35) antioksidan uygulaması yapılmayan kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Kontrol grubundaki hayvanların hastalıklarından dolayı fertilitate açısından 2 hayvan, MDA değerleri açısından 3 hayvan çalışma sonuçlarını etkilememesi için çalışmadan çıkarıldı.

Antioksidan Uygulaması ve Kan Alınması

Grup I; bu gruptaki koyunlara çiftleştirmeden 2 ay öncesinden (mayıs ayı) başlanarak 30 gün aralıklarla 3 defa antioksidan olarak A, D, E vitamini ve Selenyum; 500.000 IU A, 75.000 IU D3, 110 mg E vitamini ve 1 mg selenyum baza eşdeğer sodyum selenit (Ademin® 100 ml flakon, Ceva Türkiye, Yelvit® 100 ml flakon Teknovet Türkiye) enjeksiyonu kas içi

yolla yapıldı. Antioksidan enjeksiyonu günlerinde TAS ve TOS değerleri için hayvanlardan vakumlu jelli tüplere (BD Vacutainer) vena jugularisten kan örnekleri alındı. Grup I'den kan alınan günlerde Grup II'deki hayvanların da TAS ve TOS değerlerinin belirlenmesi için koç katımına kadar antioksidan enjeksiyonu yapılan günlerde kan örnekleri toplandı. MDA seviyesinin belirlenmesi için tüm koyunlardan koç katımından sonra 16. ile 24. günlerde kan örneği toplanmaya devam edildi. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dakika'da 10 dk. santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Çıkarılan serumlar analiz aşamasına kadar derin dondurucuda (-18 °C) saklandı.

Koyunların Senkronizasyonu

Koç katım tarihinden yaklaşık 2 ay öncesinden koçlar koyunlardan ayrı tutuldu. Koç katımından 9 gün önce tüm hayvanlara senkronizasyon amacıyla vajinal sünger (60 mg medroksiprogesteron asetat, Esponjavet Hipra) uygulandı. Süngerlerin çıkarılması esnasında tüm koyunlara aynı anda 400 IU PMSG (OVISER®, gebe kısarak serum gonadotropini, Hipra, Türkiye) ve 1 ml PGF2α kas içi (Gestavet Prost®, 1 ml'de d-Cloprostenol 75µg, Hipra, Türkiye) yolla verildi. Süngerlerin çıkarılmasını takip eden günde 10 koyuna 1 koç düşecek şekilde koç katımı yapıldı. Östrus tespiti koçun aşımı esnasında koyunun hareketsiz durması ve çiftleşmeyi reddetmemesi ile belirlendi. Kızgınlıklar koç katımı sonrası beş gün boyunca takip edildi. Grup I ve II'deki koyunların fertilité parametreleri aşağıdaki yöntemle belirlendi.

- Östrus oranı: östrusa gelen koyun sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Gebelik oranı: gebe kalan koyun sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Kuzulama oranı: doğan kuzu sayısı / toplam koyun sayısı x 100
- Doğurganlık (fecundity): doğan kuzu sayısı / gebe koyun sayısı
- İkizlik: ikiz doğuran koyun sayısı / doğum yapan koyun sayısı x 100

Gebeliklerin doğrulanması ve gebe olmayanların belirlenmesi amacıyla çiftleşme sonrası 45. günde transrektal ultrasonografi (SIUI, CTS-800, linearprobe, 5 MHz, Guangdong, China) ile gebelik kontrolleri yapıldı.

Kan Parametrelerinin Ölçümü

Elde edilen serum örneklerinden TAS ölçümü için total antioksidant status kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) ve TOS ölçümü için total oksidant status kit (Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanıldı. Serum TOS ve TAS düzeyleri kolorimetrik ölçüm yöntemi kullanılarak değerlendirildi. TAS sonuçları mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (mmol Trolox Eq/L). TOS analizinin sonuçları µmol H₂O₂ equivalent/L (µmol H₂O₂ Eq/L) olarak ifade edildi (21,27).

Oksidatif stres indeksi (OSI); TOS'un TAS'a oranı şeklinde hesaplandı (TOS (µmol H₂O₂ Eq/l) / TAS (mmol Trolox Eq/l) x 100). Hesaplama yapılmadan önce TAS sonuçlarının birimi (mmol Trolox equivalent/L), µmol Trolox equivalent/L'e dönüştürüldü (28,29,30). Lipitlerin yıkım ürünü olan MDA, tiyobarbutirik asit ile reaksiyona dayanan bir yöntemle belirlendi.

İstatistik Analizi

Verilerin normal dağılıma uygunlukları Kolmogrov-Smirnov testi ile analiz edildi. Çalışma ve kontrol gruplarından alınan kan örneklerinden bakılan oksidatif stres parametrelerinin (TAS, TOS, OSI ve MDA) gruplar arasındaki (Grup I ve Grup II) ve kendi bulunduğu grup içindeki tekrarlayan zaman aralığına göre istatistiki değerlendirmesi için tek yönlü varyans analizi yapıldı. Uygulama grupları arasındaki çoklu karşılaştırma için Tukey testi yapıldı. Gruplar arasında TAS değerleri p<0.05, TOS ve OSI değerleri p<0.01'e göre önemli kabul edildi. Dölverimi parametreleri için gruplar arasındaki karşılaştırmada Ki-kare testi (x² testi) kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiki önemlilik seviyesinde p<0.05 esas alındı ve önemli bulunanlar tabloda farklı harfler ile gösterildi. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiki analizi için SPSS, 2012 (IBM SPSS Statistics for Windows, version 21.0) programı kullanıldı.

BULGULAR

Yapılan çalışmanın yer aldığı Diyarbakır Sur ilçesine ait Mayıs-Ağustos ayları günlük ortalama, maksimum ve minimum sıcaklık değerleri Tablo 1'de verilmiştir (24).

Tablo 1. 2021 yılı Mayıs-Ağustos ayları Diyarbakır ili Sur ilçesi sıcaklık günlük ortalama, minimum ve maksimum sıcaklık verileri (°C)

	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
Günlük ortalama (°C)	22.97	27.43	32.12	30.75
Maksimum (°C)	33.20	36.64	41.00	40.65
Minimum (°C)	12.72	17.17	22.84	21.35

Çalışmada günlük kaydedilen SNI verilerinin aylık ortalamalarına bakıldığında; Mayıs ayında çalışmanın başlandığı günden itibaren ay sonuna kadar SNI ortalamasında henüz yoğun bir stres durumunun olmadığı Haziran ayından itibaren stres aralığının (72-79 arası) günün belli saatlerinden itibaren etkili olmaya başladığı görüldü. Temmuz ayında hafif stres aralığının kalmadığı, günün öğlen saatlerine kadar stres ve öğlen saatlerinden itibaren akşama doğru (11:00-17:00 aralığında) yoğun stres (80-89 arası SNI) seviyelerine erişildiği gözlemlendi. Ağustos ayı boyunca da Temmuz ayına benzer biçimde gecenin ilk saatlerinden itibaren yüksek SNI seviyesinin devam ettiği, öğlen saatlerinde (saat 12:00-16:00 aralığında) yoğun stresin etki gösterdiği, sıcaklık stresinin en fazla olduğu saat dilimlerine ulaşıldığı görüldü.

Grup I ve Grup II arasındaki TAS, TOS ve OSI değerleri Tablo 2'de yer almaktadır. Grupların aynı günlerindeki TAS (mmol Trolox Eq/L) ve TOS (µmol H₂O₂ Eq/L) sonuçlarının karşılaştırmalarında istatistiki açıdan bir fark bulunmadı. Ancak çalışma grubunun koç katımından 1 ay öncesi ile (1.10 mmol Trolox Eq/L) kontrol grubunun koç katımından 2 ay önce bakılan TAS sonuçları (1.14 mmol Trolox Eq/L) açısından istatistiki bir fark bulundu (p<0.05). Grup içi ve karşılıklı aynı zamanda alınan kan örneklerinden elde edilen sonuçlar arasında TAS açısından istatistiksel bir fark bulunmadı (Tablo 2). Total oksidatif stres seviyesi açısından kontrol grubunun kendi içinde ilk (-2 ay) ve son (0.gün) kan analizleri ile ikinci kan analizleri (-1 ay) arasında istatistiki bir fark bulundu (p<0.01). Çalışma

ve kontrol grubunun karşılaştırmasında TOS seviyesi açısından antioksidan kullanılan gruptaki hayvanların (Grup I) koç katım anındaki TOS seviyesi ortalamasının (3.11 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L), kontrol grubunun koç katım anından 1 ay önceki değerine göre (5.86 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L) anlamlı çıktığı görülmektedir ($p<0.01$). Diğer grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada ise istatistiki açıdan önemli bir farklılık tespit edilmedi (Tablo 2). Oksidatif stres indeksi açısından, Grup I'in kendi içerisindeki değerleri arasında herhangi bir fark bulunmaz iken kontrol grubunun kendi içinde ilk (-2 ay) ve son (0.gün) kan ana-

lizleri ile ikinci (-1 ay) kan analizleri arasında önemli fark bulundu ($p<0.01$). Oksidatif stres indeksinde grupların karşılıklı karşılaştırılmasında TOS analizinde olduğu gibi Grup I'in koç katım anındaki (0.28) OSI verisinin kontrol grubunun koç katım anından 1 ay önceki değerine (0.52) göre anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$). Bunun dışındaki gruplar arası ve grup içi değerler açısından istatistiksel bir fark bulunmadı ($P>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Grup I ve Grup II arasındaki ve grup içi TAS, TOS ve OSI verilerinin analiz sonuçları

Gruplar	Uygulamalar	TAS*	TOS**	OSI**
		X \pm SD	X \pm SD	X \pm SD
Grup I (n:36)	-2 ay	1.11 \pm 0.06 ^{ab}	4.40 \pm 2.53 ^{ab}	0.39 \pm 0.22 ^{ab}
	-1 ay	1.10 \pm 0.05 ^b	4.48 \pm 2.17 ^{ab}	0.40 \pm 0.20 ^{ab}
	0. gün (koç katım anı)	1.11 \pm 0.04 ^{ab}	3.11 \pm 2.11 ^b	0.28 \pm 0.19 ^b
Grup II (n:35)	-2 ay	1.14 \pm 0.05 ^a	4.01 \pm 2.15 ^b	0.35 \pm 0.18 ^b
	-1 ay	1.13 \pm 0.05 ^{ab}	5.86 \pm 3.69 ^a	0.52 \pm 0.32 ^a
	0. gün (koç katım anı)	1.13 \pm 0.05 ^{ab}	3.63 \pm 2.87 ^b	0.31 \pm 0.25 ^b

TAS (Total antioksidan seviyesi; mmol Trolox Eq/l), TOS (Total oksidan seviyesi); $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/l, OSI (oksidatif stres indeksi). Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak farkın anlamlı olduğunu gösterir, * $p<0.05$; ** $p<0.01$

Hayvanların koç katım sonrası 16. gün ve implantasyon bitimine doğru 24. günlerdeki Grup I ve Grup II'nin MDA değerlerine bakıldı (Tablo 3). Buna ilaveten gruplar içindeki gebe olan ve olmayan hayvanların MDA değerleri de karşılaştırıldı (Tablo 4). Grup I ve Grup II arasında istatistiksel olarak bir önemlilik bulunmadı. Her iki grup dahil tüm hayvanlarda gebe ve gebe olmayanların da belirtilen günlerdeki MDA sonuçları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo 3. Grup I ve Grup II MDA analiz sonuçları

Gruplar	Zaman (gün)	n	MDA
			X \pm SE
Grup I	KKS-16.gün	36	35.42 \pm 3.94
	KKS-24.gün		28.29 \pm 3.79
Grup II	KKS-16.gün	32	40.33 \pm 2.77
	KKS-24.gün		34.15 \pm 2.70

KKS; koç katım sonrası

MDA (Malondialdehit); $\mu\text{mol/L}$; X \pm SE, ortalama \pm standart hata

Tablo 4. Grup I ve Grup II gebe ve gebe olmayanların grup içi ve gruplar arası MDA analiz sonuçları

Gruplar	Zaman (gün)	n	MDA
			X \pm SE
Grup I, Gebelik (+)	KKS-16.gün	20	36.93 \pm 5.72
	KKS-24.gün	20	27.38 \pm 4.93
Grup I, Gebelik (-)	KKS-16.gün	16	33.53 \pm 5.41
	KKS-24.gün	16	29.42 \pm 6.06
Grup II, Gebelik (+)	KKS-16.gün	18	39.19 \pm 4.54
	KKS-24.gün	18	34.56 \pm 2.89
Grup II, Gebelik (-)	KKS-16.gün	14	41.81 \pm 2.63
	KKS-24.gün	14	33.61 \pm 5.07

MDA (Malondialdehit); $\mu\text{mol/L}$; X \pm SE, ortalama \pm standart hata

Fertilite Parametreleri

Çalışmada Grup I ve Grup II'de östrus oranları sırasıyla %83.3 ve %78.8 gebelik oranları ise %55.6 ve %57.6 olarak bulundu. Grup I ve II için kuzulama oranları sırasıyla %72.2 ve %63.6 olarak elde edildi. Doğurganlık (fecundity) Grup I'de 1.3, Grup II'de ise 1.11 olarak belirlendi. Gruplardaki ikizlik oranı ise Grup I için %30, grup II için ise %10.5 olarak görüldü (Tablo 5). Bu parametreler açısından yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0.05$).

Tablo 5. Gruplarda elde edilen fertilite parametreleri

Parametreler	Grup I (n: 36)	Grup II (n: 32)
Östrusa gelme oranı (%)	83.3	78.8
Gebelik oranı (%)	55.6	57.6
Kuzulama oranı (%)	72.2	63.6
Doğurganlık (fecundity)	1.3 (26/20)	1.11 (21/19)
İkizlik oranı (%)	30	10.5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sunulan çalışmada, üreme mevsiminde sıcaklık stresi etkisinde olan koyunlarda, sıcaklık stresinin fertiliteye olumsuz etkisini azaltmak amacıyla koç katımı öncesinden olmak üzere düzenli aralıklar (koç katımından 2 ay, 1 ay önce ve koç katım anında) ile yapılan antioksidan uygulamalarının, fertilite ile oksidan ve antioksidan seviyeleri (TOS, TAS) üzerine ne ölçüde etkili olacağı araştırıldı. Buna ilaveten gebelik başlangıcından (çiftleşme anı), kritik dönem olan implantasyon sürecine kadar gebelik ile karakterize olabilen ve oksidatif stresin bir diğer belirteci olan MDA düzeyi de değerlendirildi.

Hayvanların barındığı çevrede yaz aylarında sıcaklığın 25-26.5 °C'nin üzerine çıkması ve artan nispi nem değerinin aşıldığı bölgelerde hayvanlar sıcaklık stresine maruz kalmaktadırlar (3-5,10). Koyunların termonötral aralığı araştırmacılar tarafından farklı şekillerde ifade edilmektedir. Bazı araştırmacılara göre sıcaklığın 25-26.5 °C'nin üzerine çıkması ve SNİ; 66-

71 arası hafif stres, 72-79 arası stres, 80-89 arası yoğun stres (23,24) başka bir veride (25) ≤ 74 normal, 75-78 alarm durumu, 79-83 tehlikeli aralık, 84 ve üzeri ise acil ve ağır durum olarak ifade edilmiştir. Yapılan çalışmada da elde edilen verilere göre SNI değerlerinin 80 ve üzeri seviyelere denk gelen yoğun stres seviyelerine eriştiği görülmüştür. Sıcaklık nem indeksi şekillerine bakıldığında sıcaklık stresinin mayıs ayında fazla etkili olmadığı, haziran ayında daha uzun süreli etkisinin olduğu görülmektedir. Temmuz ayında sıcaklık stresi etkisi günün belli saatlerinde (11:00-17:00) daha fazla olmakta ve yoğun stres seviyelerine erişmektedir. Ağustos ayında ise bu yoğun etkinin günün belli saatlerinde (12:00-16:00) etkili olduğu tespit edildi. Elde edilen sıcaklık ve SNI verilerine göre koyunların üreme mevsimine geçiş yaptığı dönem ve üreme sezonunun içinde bulunduğu süre boyunca sıcaklık stresinin etkisinde kaldıkları tespit edilmiştir. Araştırmacılar sıcaklık stresinin folliküllere ve oosite zarar verdiğini, embriyo ve gebeliği olumsuz etkilediğini ve fertilitede aksamalara sebep olduğunu ifade etmiştir. Buna ilaveten sıcaklık stresinin olduğu dönemlerde hayvanların yem tüketiminde azalma meydana gelmektedir. Bu azalmanın sonucunda da düzensiz kızgınlıklar, follikül gelişiminde yetersizlik, oosit kalitesinde düşüş görülmektedir (12).

Yapılan bu araştırmalarda TAS ve TOS seviyesinin beslenme (30) ve oksidatif stresle bağlantılı hastalıklarda değişebileceği vurgulanmıştır (8,14,31). Tashla ve ark.'nın (33) yaptıkları çalışmada gebe koyunlarda TAS, TOS ve MDA değerleri açısından çalışmalarında önemli farklılığın olduğu gözlemlenmiş olup TOS ve MDA değerinin gebelik öncesine göre gebeliğin erken, orta ve geç aşamalarında arttığı bulunmuştur. Total antioksidan düzeyinin ise gebelik sürecinde azaldığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada her ne kadar gruplar arası sonuçlarda önemli bir fark çıkmasa da total oksidan seviyesi ve OSI değerlerinin antioksidan verilen hayvanların ortalamasının daha düşük olduğu görülmektedir. Bunun olası nedeninin çalışma grubuna verilen antioksidan uygulamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nawito ve ark.'nın (34) yapmış olduğu çalışmada koyunlarda gebelik döneminde MDA'nın önemli oranda arttığını bildirmektedirler. Yapılan benzer çalışmalarda da iyi veya düşük beslenmeye bakılmaksızın gebelik döneminde MDA açısından aynı sonuçların elde edildiği belirtilmiştir (35). Avellini ve ark.'nın (36) atlarda yaptıkları bir çalışmada antioksidan kullanımının serbest radikal hasarının bir belirteci olan MDA'nın plazma konsantrasyonunun azalmasında etkili olduğu belirtilmiştir. Tashla ve ark.'ı (33) gebeliğin değişik aşamalarında MDA'nın gebe olmayanlara göre önemli düzeyde artmaya başladığını bunun da artan lipid peroksidasyon ve aşırı üretilen serbest radikallerden kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

Sunulan çalışmada gebe olan ve olmayan hayvanların MDA değerleri açısından istatistiki bir farkın olmadığı bulundu. Ancak, çalışma grubundaki gebe hayvanların MDA değerleri kontrol grubundaki gebe hayvanların MDA değerinden sayısal olarak daha düşük çıktığı görüldü. Bunun da çalışma grubuna uygulanan antioksidanlardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda oksidan değerleri açısından bir farklılığın bulunması veya bulunmaması

başta endojen kaynaklı olmak üzere hayvanların o anlık antioksidan kapasitesinin durumuyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Birdane ve Avdatek'in (37) yaptıkları çalışmada sıcaklığın 38.7 °C'ye kadar çıkmasına rağmen vitamin enjeksiyonunun (A, D3, E) reproduktif parametreleri etkilemediği bildirilmiştir. Sunulan çalışma, Özyurtlu ve ark.'nın (38) Zom koyunlarında üreme mevsimine geçiş döneminde yaptığı çalışma ile karşılaştırıldığında östrus oranının bir miktar daha düşük, gebelik oranının bir miktar daha fazla olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada antioksidan verilen gruptaki koyunların ikizlik oranının, Özyurtlu ve ark.'nın (38) yaptığı çalışmaya göre bir miktar fazla olması ise çalışmanın üreme mevsiminde olması ve antioksidan uygulamasına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Elde edilen fertilité parametrelerine baktığımızda çalışma ve kontrol grupları arasında kızgınlık, gebelik oranı, kuzulama oranı ve doğurganlık açısından bir fark bulunmamıştır. Bu da koyunların Birdane ve Avdatek'in (37) belirttiği gibi günün sıcak saatlerinde ağılda bulunması ve sıcaklık stresinden daha az etkilenmeleri ile açıklanabilmektedir. Sunulan çalışmada antioksidan uygulamasının fertilité parametrelerine olumlu etkisinin daha yüksek çıkması beklenmekteydi. Ancak fertilitéye pozitif etkisi açısından vitamin ve mineral takviyesi yapılan hayvanlarda istenilen düzeyde etki görülmemesinin sebebi hayvanların bahar aylarından itibaren meraya çıkıp taze otlar ile beslenerek bu ihtiyaçlarını gidermiş olmalarından kaynaklı olabileceği kanısındayız. Fertilité parametreleri açısından değişkenlik olmasının diğer bir sebebi ise koyunların buldukları bölgeye yıllar içinde adapte olmasıyla sıcaklığa karşı dayanıklılık kazanmaları, koyunların ideal ortam sıcaklığına toleransının büyükbaş ruminantlara göre daha esnek olduğu ve SNI'ne göre koyunların değişkenlik gösterebileceklerinden dolayı reproduktif verimlerinin daha az etkilenmeleri ile de açıklanabilmektedir (3,37,39). Koç katımı öncesinden itibaren yapılan antioksidan uygulamalarının oksidatif stres parametreleri açısından elde edilen sonuçları incelendiğinde, uygulama yapılan gruptaki hayvanların belli günlerdeki TOS ve OSI değerlerinin kontrol grubuna göre daha düşük çıktığı tespit edildi.

Antioksidan verilen ve verilmeyen hayvanlar arasında araştırılan fertilité parametreleri sonuçları incelendiğinde; östrusa gelme, gebelik, kuzulama ve doğurganlık oranları arasında herhangi bir farkın olmadığı görüldü. Ancak, antioksidan verilen çalışma grubundaki hayvanların ikizlik oranı uygulama yapılmayan kontrol grubundaki hayvanlara göre yaklaşık üç kat daha fazla bulundu.

Sonuç olarak, yazın sıcaklık stresinin olumsuz etkilerine karşı koyunlarda koruyucu önlemler alınmasının ve antioksidan uygulamalarının faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından Veteriner.21.003 numaralı proje ile desteklenen Doktora Tezinden üretilmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Günaydın G. (2009). Koyun Yetiştiriciliğinin Ekonomi Politikası. U Ü Ziraat Fak Derg. 23(2):15-32.
- Özyurtlu N, Bademkiran S. (2010). Koyunlarda Östrus Senkronizasyonu ve Östrusu Uyarma Yöntemleri. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 1(1):17-22.
- Durmuş M, Koluman N. (2019). Yüksek Çevre Sıcaklığına Maruz Kalan Ruminant Hayvanlarda Meydana Gelen Hormonal Değişimler. J Anim Prod. 60(2): 159-169.
- Topuzoğlu B, Baştan A. (2010). Sütçü İneklerde Isı Stresinin Fertilité Üzerine Etkisi. Vet Hekim Der Derg. 81(2): 29-32.
- Alkoyak K, Çetin O. (2016). Süt Sığırlarında Sıcaklık Stresi ve Korunma Yolları. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi, 5(1):40-55.
- Puppel K, Kapusta A, Kuczyńska B. (2015). The Etiology of Oxidative Stress in The Various Species of Animals, A Review. J Sci Food Agric. 95(11): 2179-2184.
- Lykkesfeldt J, Svendsen O. (2007). Oxidants and Antioxidants in Disease: Oxidative Stress in Farm Animals. The Veterinary Journal. 173: 502-511.
- Durgut R, Sağkan Öztürk A, Öztürk OH, Güzel M. (2016). Evaluation of Oxidative Stress, Antioxidant Status and Lipid Profile in Cattle with Displacement of The Abomasum. Ankara Üniv Vet Fak Derg, 63: 137-141.
- Ronchi B, Stradaoli G, Verini Supplizi A, et al. (2001). Influence of Heat Stress or Feed Restriction on Plasma Progesterone, Oestradiol-17b, LH, FSH, Prolactin and Cortisol in Holstein Heifers. Liv Prod Sci. 68: 231-241.
- West JW. (2003). Effect of Heat-stress on Production in Dairy Cattle. J Dairy Sci. 86: 2131-2144.
- Çenet Z, Korkmaz Ö. (2020). Şanlıurfa İlinde Isı Stresindeki İneklerde Bazı Ovulasyon Senkronizasyon Yöntemlerinin Gebelik Oranlarına Etkisi. Harran Üniv Vet Fak Derg. 9 (1): 59-63.
- Küçükaslan İ, Kaplan Y, Özyurtlu N. (2021). Koyun ve Keçilerde Beslemenin Üreme Üzerine Etkisi. (İçinde): Koyun ve Keçilerin Rasyonel Beslenmesi ve Beslenme Hastalıkları Baran MS. (editör). Baskı 1. s. 48-52. Türkiye Klinikleri. Ankara, Türkiye.
- Gupta PK. (2021). Minerals Play Role in Reproduction of Animals and Their Deficiency Diseases in Animals: A review article. Journal of Entomology and Zoology Studies. 9(2): 534-536.
- Kurt S, Eşki F, Salar S, Sel T, Baştan A. (2021). The Effect of Heat Stress on Total Oxidant Capacity in Hair Goats. Vet Hekim Der Derg. 92(1): 24-30.
- Kurt S. (2019). İneklerde Parturition Antioksidan Uygulamalarının Oksidatif Stres Enerji Metabolizması ve Kolostrum Kalitesine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof. Dr. Şükrü Küplülü).
- Karabulut H, Gülay MŞ. (2016). Antioksidanlar. MAE Vet Fak Derg. 1(1): 65-76.
- Gökpinar Ş, Koray T, Akçiçek E, Göksan T, Durmaz Y. (2006). Algal antioksidanlar. E Ü Su Ürünleri Derg. 23(1): 85-89.
- Kasapçopor Özel GS, Birdane YO. (2014). Antioksidanlar. Kocatepe Vet J. 7(2): 41-52.
- Kurt S, Koca RH, Hürkul MM, Seker U, Köroğlu A. (2021). The Antioxidant Effect of Michauxia Campanuloides on Rat Ovaries. J Hellenic Vet Med Soc. 72(3): 3163-3170.
- Macun HC, Çınar M, Azkuran AH, Kalender H, Erat S. (2018). Oxidative Stress in Akkaraman Ewes with Seropositive for Schmallenberg Virus. Atatürk Üniv Vet Bil Derg. 13(2): 128-134.
- Erel O. (2005). A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status. Clin Biochem. 38(12): 1103-1111.
- Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. (2015). Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. J Clin Exp Invest. 6(3): 331-336.
- National Research Council (NRC). (1971). A Guide to Environmental Research on Animals Natl Acad Sci. Washington, DC, p. 361.
- MGM, (Meteoroloji Genel Müdürlüğü). Erişim; <https://mgm.gov.tr/> Erişim tarihi; 2021.
- LCI (1970). Patterns of Transit Losses. Livestock Conservation Inc., Omaha, NE.
- Baran MS. (2017). Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. Birinci Baskı. Dicle Üniversitesi Basım ve Yayınevi. Diyarbakır.
- Erel O (2004). A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. Clin Biochem. 37(4): 277-285.
- Yumru M, Savas HA, Kalenderoglu A, Bulut M, Celik H, Erel O. (2009). Oxidative Imbalance in Bipolar Disorder Subtypes: A Comparative Study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 31;33(6): 1070-4.
- Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. (2005). Increased Oxidative Stress in Children Exposed to Passive Smoking. Int J Cardiol. 100: 61-64.
- Harma M, Harma M, Erel O. (2003). Increased Oxidative Stress in Patients with Hydatidiform Mole. Swiss Med Wkly. Nov 1; 133(41-42): 563-536.
- Mandebvu P, Castillo JB, Steckley DJ, Evans E. (2003). Total Antioxidant Capacity: A Tool for Evaluating the Nutritional Status of Dairy Heifers and Cows. Can J Anim Sci. 83(3): 605-608.
- Atakisi O, Oral H, Atakisi E, et al. (2010). Subclinical Mastitis Causes Alterations in Nitric Oxide, Total Oxidant and Antioxidant Capacity in Cow Milk. Res Vet Sci. 89(1): 10-13.
- Tashla T, Cosic M, Kurcubic V, Prodanovic R, Puvaca N. (2021). Occurrence of Oxidative Stress in Sheep during Different Pregnancy. Acta Agric Serbica. 26(52): 111-116.
- Nawito MF, Abd El Hameed AR, Sosa ASA, Mahmoud KGM. (2016). Impact of Pregnancy and Nutrition on Oxidant/Antioxidant Balance in Sheep and Goats Reared in South Sinai, Egypt. Veterinary World. 9(8): 801-805.
- Mohebbi-Fani M, Mirzaei A, Nazifi S, Shabbooe Z. (2012). Changes of Vitamins A, E, and C and Lipid Peroxidation Status of Breeding and Pregnant Sheep during Dry Seasons on Medium-To-Low Quality Forages. Trop Anim Health Prod. 44: 259-265.
- Avellini L, Chiaradia E, Gaiti A. (1999). Effect of Exercise Training, Selenium and Vitamin E on Some Free Radical Scavengers in Horses. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 123(2): 147-154.
- Birdane MK, Avdatek F. (2020). Effect of Vitamin A, D3, E Treatment on Fertility in the Pırlak Sheep. Kocatepe Vet J. 13(2): 179-184.
- Özyurtlu N, Köse M, Bayrıl T, Küçükaslan İ. (2016). Üreme Mevsimine Geçiş Döneminde Östrus Siklusu Uyarılan İvesi ve Zom Koyunlarında Bazı Fertilité Özelliklerinin Karşılaştırılması. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2(4): 67-72.
- Perez RV, Cruzb UM, Reyes LA, Correa-Calderonb A, Baca MAL, Rivera ALL. (2020). Heat Stress Impacts in Hair Sheep Production, Review. Rev Mex Cienc Pecuarias. 11(1):205-222.

✉ Sorumlu Yazar:

Yasemin KAPLAN BİLMEZ
GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi,
Diyarbakır/TÜRKİYE
E-posta: jasmin-2127@hotmail.com



The Effect of Cake Waste Addition to Alfalfa Silage on Silage Quality and Fermentation Properties

Sadık Serkan AYDIN^{1,a,✉}

¹Department of Animal Nutrition & Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Sanliurfa, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-3252-3944

Geliş Tarihi/Received
22.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
09.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Abstract

In this study, it was aimed to determine the effects of addition of cake waste, which is a food industry waste, to alfalfa silage as a readily soluble carbohydrate source on silage quality, fermentation properties, *in vitro* organic matter digestion and *in vitro* CH₄ values. In the study, while silage group without additives constituted the control group, silages with 1%, 2%, 4% and 6% cake waste additions constituted the test groups. Statistically significant differences were found in crude protein (CP), crude ash (CA), dry matter (DM), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* organic matter digestion (IVOMD), metabolizable energy (ME) and *in vitro* CH₄ values of silages (P<0.05). When IVOMD, ME and *in vitro* CH₄ values of silages were examined, increases were observed in all groups with additive compared to the control group. When the pH, ammonia nitrogen (NH₃-N/TN), carbon dioxide (CO₂), lactic acid (LA) and acetic acid (AA) values of the silages were examined, while the highest values were found in the control group, the lowest values were found in the silage group to which 6% cake waste was added (P<0.05). While propionic acid (PA) was detected in the control group, it was not detected due to the addition of cake waste. While butyric acid (BA) values were controlled and found due to 1% cake waste addition, it was not found in the other test groups. As compared to the control group, the silage's yeast values declined as cake waste increased. While mold values of the silages were controlled and found in the control group with 1% cake waste addition, it was not found in the other test groups. As a result, it was determined that the addition of 6% cake waste as a readily soluble carbohydrate source had a positive effect on silage quality and fermentation properties.

Key Words: Alfalfa, fermentation, silage additives, waste

Yonca Silajına Pasta Atığı İlavesinin Silaj Kalitesi ve Fermantasyon Özellikleri Üzerine Etkisi

Öz

Bu çalışmada gıda sanayi atığı olan pasta atığının kolay eriyebilir karbonhidrat kaynağı olarak yonca silajına ilavesinin silaj kalitesi, fermantasyon özellikleri, *in vitro* organik madde sindirimi ve *in vitro* CH₄ değerleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada katkısız silaj grubu kontrol grubunu oluştururken, %1, %2, %4 ve %6 pasta atığı ilaveli silajlar deneme gruplarını oluşturmuştur. Silajların kuru madde (DM), ham kül (CA), ham protein (CP), asit deterjan fiber (ADF), nötral deterjan fiber (NDF), *in vitro* organik madde sindirimi (IVOMS), metabolize olabilir enerji (ME) ve *in vitro* CH₄ değerlerinde gruplar arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar bulunmuştur (P<0.05). Silajların IVOMD, ME ve *in vitro* CH₄ değerleri incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla tüm katkılı gruplarda artışlar gözlemlenmiştir (P<0.05). Silajların pH, amonyak azotu (NH₃-N/TN), karbondioksit (CO₂), lactic asit (LA) ve asetik asit (AA) değerleri incelendiğinde, en yüksek değerler kontrol grubunda tespit edilirken, en düşük %6 pasta atığı ilave edilen silaj grubunda tespit edilmiştir (P<0.05). Silajların propiyonik asit (PA) kontrol grubunda tespit edilirken pasta atığı ilavesine bağlı olarak tespit edilmemiştir. Bütirik asit (BA) değerleri kontrol ve % 1 pasta atığı ilavesine bağlı olarak tespit edilirken diğer deneme gruplarında tespit edilmemiştir. Silajların maya değerleri kontrol grubuna kıyasla pasta atığı artışına bağlı olarak düşüş gözlemlenmiştir. Silajların küf değerleri ise kontrol ve %1 pasta atığı ilaveli grupta tespit edilirken diğer deneme gruplarında tespit edilmemiştir. Sonuç olarak kolay eriyebilir karbonhidrat kaynağı olarak % 6 oranında pasta atığı ilavesinin yonca silaj kalitesi ve fermantasyon özellikleri üzerine olumlu etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Atık, fermantasyon, silaj katkıları, yonca

INTRODUCTION

Roughage supply is an important problem in ruminant feeding (1,2). Especially in winter months, silage is produced in order to meet the water-rich green feed requirement of ruminant animals (3-5). Silage, which is used extensively in countries with advanced animal husbandry, is a storage method that minimizes nutrient losses in feeds (6,7). Alfalfa is one of the most widely grown forage crops in the world.

One of the most important features of alfalfa is its high nutritional quality as animal feed. Alfalfa is a perennial and multi-forming plant among leguminous feed crops, and is a delicious feed plant rich in nutrients, especially protein (8,9). Since alfalfa does not contain enough water-soluble carbohydrates as in other legume green feeds, lactic acid production is insufficient because lactic acid bacteria (LAB) do not multiply sufficiently during ensiling (10). Since it is the lactic

acid that causes the pH to decrease in silage and in this case a rapid decrease in pH cannot be achieved, when the pH desired for a good silage cannot be reached, undesirable reactions occur in the material and silage quality decreases (11). Alfalfa, which is rich in leaves and has a very high grass yield, has significant nutrient losses during the period from drying to feeding to animals due to the thin and weak leaf stalks or due to incomplete drying in areas with high rainfall, significant nutrient losses occur due to mold and microbial spoilage (8,9,11). In order to prevent these physical and microbiological losses, ensiling alfalfa grass with a material with high water-soluble carbohydrate content can be a solution. In order to ensure the safe ensiling of feed plants with low water-soluble carbohydrate content and high buffering capacity such as alfalfa, it is necessary to add external additives while making silage (12). For this purpose, additives such as cereal grains, molasses, grape pulp, sugar as well as fruit and fruit pulp can be used to compensate for the lack of soluble carbohydrates, which are insufficient in the environment (1,7,13).

This study was carried out to determine the effects of the addition of cake waste, one of the food industry wastes, to alfalfa silage as an easily soluble carbohydrate source on silage quality and fermentation properties.

MATERIAL AND METHODS

Ethical Statement

This study is not subject to HADYEK permission in accordance with Article 8 (k) of the "Regulation on Working Procedures and Principles of Animal Experiments Ethics Committees" with the decision of Harran University Animal Experiments Local Ethics Committee (HRÜ-HADYEK) numbered 161607 dated 07/09/2022.

Study Design and Silage Preparation

The alfalfa (*Medicago sativa*) plant was used in this study as the silage material. The method reported by Playne and McDonald (14) was used in the analysis of the buffering capacity of the fresh alfalfa plant. The control group in the study consisted of alfalfa without any additives, while the experimental groups included alfalfa with 1% cake waste (1% CW), 2% cake waste (2% CW), 4% cake waste (4% CW), and 6% cake waste (6% CW) waste added. Each silage group was prepared with six replications and was compressed and ensiled in 1.5 L glass jars equipped with a lid that enables gas release only by hand compressing to a final density of 600 g/L. For 60 days, silages were kept in a dark location at room temperature (22–24 °C).

Fermentation Profile Analysis

The upper 3-5 cm of the silages in the opened jars was discarded. One hundred millilitres of distilled water were added

to 25 g of the silage sample taken homogeneously from each jar, which was then crushed. The pH value of the filtrate obtained after the silage was crushed was quickly measured with a pH meter (Hanna HI991002, pH/ORP meter, Romania) and recorded. In addition, the obtained filtrates were placed into 10 ml centrifuge tubes for ammonia nitrogen and volatile fatty acid analysis. While 0.1 ml of 1M HCl was added to the tubes prepared for the determination of ammonia nitrogen, 0.25 ml of 25% metaphosphoric acid was added to the tubes prepared for the analysis of lactic and volatile fatty acids and kept in the deep freezer (-20°C) until the analysis was done. Ammonia nitrogen analyses of the silage samples were made according to the method reported by Broderick and Kang (15), and the lactic and volatile fatty acids (acetic, butyric, and propionic acid) analyses were conducted using the technique described by Suzuki and Lund (16). To analyze lactic acid (LA) and essential fatty acids, an HPLC device (with a Shimadzu L.C-20 AD HPLC pump, Icsep Coregel (87H3 column), a Shimadzu SIL-20 ADHT Autosampler, a Shimadzu cto-20ac Colum oven, and a Shimadzu SPD M20A Detector (DAD)) was used. The opened silages were exposed to oxygen for five days to measure aerobic stability (determination of CO₂ production values) (17). Dry matter (DM) (method 950.01), crude ash (CA) (method 942.05) and crude protein (CP) (method 945.01) analyses of the silages obtained in the study were calculated according to AOAC (18). NDF and ADF analyses were performed by Van Soest et al. (19). For all analyses, fresh silage materials and the silages were dried by air drying method, ground in a laboratory mill and passed through a 1 mm sieve to be prepared for analysis. The methane (CH₄) content of the silages was determined using the method described by Menke and Steingass (20), and the IVOMD and metabolizable energy (ME) values of the silages were determined using the method described by Menke et al. (21). The total amount of yeast and mold analyses of the silages followed the reports of Filya et al. (22).

Statistical Analysis

In the study, One-Way Analysis of Variance (One-Way Anova) was used to determine whether the data obtained from the groups were widely different. Duncan's multiple comparison tests were used to control the significance of the difference between the groups and p<0.05 considered as significant. For this purpose, the SPSS (23) software program was used.

RESULTS

The nutrient analysis results of alfalfa plant used as silage material and pastry waste used as additive in the study are presented in Table 1.

Table 1. Nutrient content of the alfalfa used as silage material and the cake waste used as the additive in the study

	BC	DM	CA	CP	ADF	NDF	IVOMD	ME	CH ₄
Alfalfa	454	23.60	10.86	16.64	32.95	58.30	52.82	7.54	7.80
CW	-	98.00	0.96	7.50	-	-	78.80	11.05	10.30

CW: Cake Waste; BC: Buffering capacity meq/kg DM; DM: Dry matter, %; CA: Crude ash DM%; CP: Crude protein, DM%; ADF: Acid detergent insoluble fiber, %DM; NDF: Neutral detergent insoluble fiber, %DM; IVOMD: *In Vitro* organic matter digestibility %, ME: Metabolizable energy, CH₄: *In Vitro* methane gas (%).

The nutrient contents of the silages prepared by adding different levels (1%, 2%, 4% and 6%) of cake waste (CW) to

alfalfa plant and their IVOMD, ME and *in vitro* CH₄ values are given in Table 2.

Table 2. Nutrient content and IVOMD, ME and *in vitro* CH₄ values of the alfalfa silages prepared by adding cake waste at different rates

Groups	DM	CA	CP	ADF	NDF	IVOMD	ME	CH ₄
Control	20.58 ^d	12.50 ^a	17.13 ^a	35.21 ^a	47.67 ^a	46.93 ^c	6.70 ^b	7.07 ^c
%1 CW	21.62 ^d	10.75 ^b	17.00 ^a	34.09 ^a	44.63 ^b	54.51 ^b	8.19 ^a	7.54 ^c
%2 CW	23.53 ^c	10.21 ^c	16.90 ^a	31.55 ^b	43.78 ^{bc}	56.90 ^a	8.47 ^a	7.83 ^{bc}
%4 CW	25.30 ^b	10.18 ^c	16.90 ^a	31.58 ^b	43.01 ^c	57.12 ^a	8.60 ^a	8.58 ^{ab}
%6 CW	27.00 ^a	9.76 ^c	16.25 ^b	31.90 ^b	40.10 ^d	58.18 ^a	8.63 ^a	8.94 ^a
SEM	0.58	0.23	0.08	0.41	0.59	0.99	0.19	0.19
P	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.001

^{a-d} Values with different letters in the same column were different ($p < 0.05$); CW: Cake Waste; DM: Dry matter, %; CA: Crude ash, DM%; CP: Crude protein, DM%; ADF: Acid detergent insoluble fiber, DM%; NDF: Neutral detergent insoluble fiber, DM%; IVOMD: *In vitro* organic matter digestion; ME: Metabolizable energy MJ/kg DM; CH₄: *In vitro* methane, %.

In the present study, when Table 2 was examined, the differences between the groups in DM, CA, CP, ADF, NDF, IVOMD, ME and *in vitro* CH₄ values of the silages were found to be statistically significant ($p < 0.05$).

Within the scope of this study, the fermentation properties of silages prepared by adding cake waste to alfalfa plants and the correlation results of the analyzes are given in Table 3 and Table 4.

Table 3. Fermentation properties of the silages prepared by adding cake waste at different rates

Groups	pH	NH ₃ -N	LA	AA	PA	BA	CO ₂	Yeast	Mold
Control	5.49 ^a	26.23 ^a	2.66 ^e	6.87 ^a	0.75 ^a	9.40 ^a	2.55 ^a	3.12 ^a	5.70 ^a
%1 CW	5.27 ^a	10.99 ^b	4.66 ^d	5.30 ^b	0.00 ^b	6.48 ^b	2.40 ^b	2.89 ^b	1.30 ^b
%2 CW	4.37 ^b	8.66 ^c	10.27 ^c	4.49 ^c	0.00 ^b	0.00 ^c	1.80 ^c	2.80 ^c	0.00 ^c
%4 CW	4.22 ^b	7.98 ^{cd}	10.88 ^b	4.11 ^d	0.00 ^b	0.00 ^c	1.57 ^d	2.41 ^d	0.00 ^c
%6 CW	4.09 ^b	7.31 ^d	20.50 ^a	3.08 ^e	0.00 ^b	0.00 ^c	1.54 ^e	2.33 ^e	0.00 ^c
SEM	5.49	1.64	1.43	0.29	0.07	0.92	0.10	0.068	0.507
P	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^{a-e} Values with different letters in the same column were found to be different ($p < 0.05$); CW: Cake Waste; NH₃-N/TN: Ammonia nitrogen, LA: Lactic acid g/kg DM, AA: Acetic acid g/kg DM, PA: Propionic acid g/kg DM; BA: Butyric acid g/kg DM; CO₂: Carbondioxide g/kg DM.

Table 4. Correlation relationship between fermentation characteristics and yeast values of the alfalfa silages prepared by adding cake waste at different rates

		NH ₃ -N	pH	LA	AA	PA	BA	Yeast	Mold	CO ₂	IVOMD	ME	CH ₄
NH ₃ -N	PC	1	,758**	-,688**	,904**	,981**	,867**	,783**	,993**	,797**	-,946**	-,891**	-,644**
	P		,0001	,001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,002
pH	PC		1	-,831**	,874**	,652**	,926**	,842**	,788**	,935**	-,782**	-,760**	-,734**
	P			,0001	,0001	,002	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001
LA	PC			1	-,928**	-,573**	-,807**	-,888**	-,690**	-,873**	,729**	,632**	,776**
	P				,0001	,008	,0001	,0001	,001	,0001	,0001	,003	,0001
AA	PC				1	,827**	,913**	,936**	,903**	,925**	-,893**	-,812**	-,791**
	P					,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001
PA	PC					1	,777**	,684**	,973**	,683**	-,903**	-,861**	-,547*
	P						,0001	,001	,0001	,001	,0001	,0001	,013
BA	PC						1	,840**	,901**	,970**	-,871**	-,793**	-,712**
	P							,0001	,0001	,0001	,0001	,0001	,0001
Yeast	PC							1	,778**	,923**	-,773**	-,713**	-,828**
	P								,0001	,0001	,0001	,0001	,0001
Mold	PC								1	,824**	-,944**	-,890**	-,649**
	P									,0001	,0001	,0001	,002
CO ₂	PC									1	-,815**	-,735**	-,765**
	P										,0001	,0001	,0001
IVOMD	PC										1	,958**	,640**
	P											,0001	,002
ME	PC											1	,614**
	P												,004
CH ₄	PC												1
	P												

PC: Pearson correlation; *: Correlation is significant at the 0.05 level; **: Correlation is significant at the 0.01 level; P: Significance degree, NH₃-N/TN: Ammonia nitrogen, CO₂: Carbondioxide g/kg DM; LA: Lactic acid g/kg DM, AA: Acetic acid g/kg DM, PA: Propionic acid g/kg DM; BA: Butyric acid g/kg DM, IVOMD: *In Vitro* organic matter digestibility %, ME: Metabolizable energy MJ/kg DM, CH₄: *In Vitro* methane %.

DISCUSSION AND CONCLUSION

When the DM contents of the silages prepared by adding different ratios of cake waste to alfalfa plants were examined, an increase in the DM levels was observed in parallel with the increase in the addition of cake waste compared to the control group. It was concluded that this increase in DM level occurred due to the high DM level (98.00%) of cake waste. When CA values were examined, a decrease was observed due to the addition of cake waste. This decrease was realized due to the low CA level of cake waste. When the CP values of the silages were examined, a decrease was observed due to the addition of cake waste compared to the control group. This decrease was due to the low CP content of the cake waste. When ADF and NDF values of the silages were examined, a decrease was observed in parallel with the addition of cake waste. In this study, the reason for the difference in ADF and NDF values between the control and test groups is thought to be due to the low ADF and NDF content of cake waste. In the present study, it was determined that the addition of increased cake waste significantly decreased the ADF content of alfalfa silage. The digestibility of feeds with low ADF content is also high (24,25). In the study conducted by Canbolat et al. (13), in which grape pulp was added to alfalfa silage at different ratios; it was reported that NDF and ADF levels decreased, and water-soluble carbohydrate increased as the amount of grape pulp added to the silage increased. When IVOMD, ME and *in vitro* CH₄ values of the silages were examined, although increases were observed in all test groups compared to the control group, the highest IVOMD value (58.18%), ME value (8.63) and *in vitro* CH₄ value (8.94%) occurred due to the addition of 6% CW. It is thought that LA is the main fermentation product in silages and LA is fermented in rumen and utilized by ruminants and accordingly increases IVOMD and ME values (26). When Table 4 is examined, the positive correlation observed between LA and IVOMD (R: 0.729) as well as between LA and ME (R: 0.632) supports this statement. When *in vitro* CH₄ values of silages were examined, an increase was observed in all test groups compared to the control group, but the highest value was reached with the addition of 6% CW. *In vitro* CH₄ values increased in parallel with the increase in IVOMD level. When Table 4 is examined, the positive correlation observed between IVOMD and *in vitro* CH₄ (R:0,614) supports this statement. In a study in which waste jam mixture was used as an alfalfa silage additive, Yayla (27) reported that while the additive used generally decreased the CP, NDF, ADF content of silage, it increased the digestible dry matter and dry matter consumption.

When the pH values of the silages obtained were examined, while the highest pH value (5.49) was obtained from the control group, the lowest pH value (4.09) was determined in the group with 6% CW addition (p<0.05). As the water-soluble carbohydrate content of the silage material increases, the ideal acidic environment required for obtaining quality silage is formed. Therefore, it is expected that the pH of silage decreases with the addition of cake waste to alfalfa silage. In the study, the low pH values in the groups with additives compared to the control group were due to the low amount of water-soluble carbohydrates in alfalfa plant. The

pH values of silages are influenced by many factors such as the WSC content, dry matter level, buffering capacity of the plant (28). When the correlation table (table 4) of the silages obtained in this study was examined, it was observed that there was a negative correlation between pH and LA (R: - ,831).

When the NH₃-N/TN values of the silages prepared in this study were compared, the highest NH₃-N/TN value (26.23%) was determined in the control group and the lowest NH₃-N/TN value (7.31%) was determined in the group with 6% cake waste addition (p<0.05). Total nitrogen levels <10% indicate good fermentation (29). Yakışır and Aksu (12) reported that the use of additives with easily soluble carbohydrate content as additives in making silage from alfalfa plants creates a good fermentation environment for lactic acid bacteria, microorganisms can multiply rapidly and minimize protein destruction by lowering the pH of the environment. When the correlation table was examined, the negative correlation between LA and NH₃-N/TN (R: - 0,688) and the positive correlation between pH and NH₃-N/TN (R: 0,758) supported this statement. When the LA values of the silages obtained from this study were examined, an increase was observed in all test groups compared to the control group, but the highest LA value (20.50 g/kg DM) was determined in the group with 6% CW addition (p<0.05). When the AA values of the silages were examined, a decrease was observed in all test groups compared to the control group, but the lowest AA value (3.08 g/kg KM) occurred due to the addition of 6% CW. While PA was detected in the control group, it was not detected with the addition of cake waste (p<0.05). While BA values were controlled and found in the groups with 1% CW addition, it was not found in the groups with 2%, 4% and 6% CW addition (p<0.05). In this study, the yeast values of alfalfa silages made with cake waste added reduced as a result of the increased cake waste in comparison to the control group. Mold values of the silages were controlled and found due to 1% CW addition; it was not found in the other test groups. It was reported that silage pH values decreased due to LA conversion of easily soluble carbohydrate sources and prevented yeast as well as mold growth in silage. In the study conducted by Canpolat et al. (1), it was reported that the addition of gladiolus fruit as a readily soluble carbohydrate source to alfalfa silage increased the LAB value and decreased the number of molds, which supports the current study. In the study, the CO₂ production amounts of the silage groups varied between (1.54-2.55 g/kg DM), but a decrease was observed in all experimental groups due to the increase in cake waste (p<0.05). Canpolat et al. (13) reported that the addition of grape pulp as a readily soluble carbohydrate source to alfalfa silage improved aerobic stability. It was determined that the lowest yeast, mold and CO₂ levels and the highest LA value in the groups with 6% CW addition decreased the pH value in the silages in the groups with additives and accordingly prevented the growth and activity of yeasts as well as molds and had an improving effect on aerobic stability values. When the correlation table is examined, negative correlation between LA and CO₂ (R:-,873), negative

correlation between LA and yeast (R:-,888) and negative correlation between LA and mold (R:-,690) support this statement.

In this study, the addition of cake, which is a food industry waste, as an alternative easily soluble carbohydrate source to alfalfa, which is one of the difficult to ensiled plants, positively affected the chemical and microbiological properties of silages. When examined in terms of all parameters, it was concluded that 6% of cake waste should be added.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- Canbolat Ö, Yıldırım HK, Filya İ. (2013). The Use of Honey Locust Pods as A Silage Additive for Alfalfa Forage. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 19(2): 291-297.
- Zahal S, Kaya Ş. (2020). Determination of Nutrient Contents of Some Roughages Produced in Hatay. *OKÜ Fen Bil Enst Derg.* 3(2): 83-89.
- Atalay Aİ. (2009). Investigation on the Use of Molasses and Laurus nobilis Mixture in Alfalfa Silage and the Effect on the Silage Quality. Master's Thesis. Kahramanmaraş Sütçü İmam University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Kahramanmaraş.
- Gürsoy E, Kara E, Sürmen M. (2021). The Effects of Different Cutting Stage and Crushed Barley Applications on Silage Properties of Annual Forage Crops Mixture. *Turk J Agric Res.* 8(3): 273-281.
- İrez Şerbetçi M. (2020). Effects of Wafer Addition on Fermentation Properties, Aerobic Stability and Feed Value of Alfalfa Silages. Master's Thesis, Tekirdağ Namık Kemal University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Tekirdağ.
- Burgu L. (2021). Determination of Silage Yield and Quality Traits of Different Silage Maize Varieties Sown as Second Crop in Bilecik Ecological Conditions. Master's Thesis, Bilecik Şeyh Edebali University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Bilecik.
- Şahin İF, Zaman M. (2010). An Important Cattle Feed: Silage. *Doğu Coğrafya Derg.* 15(23): 1-18.
- Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, et al. (2013). Feeds, Feed Hygiene and Technology. 5. edn, Pozitif Baskı, Ankara.
- Orak A, Gökaya G. (2014). Alfalfa Farming. 2. edn, İlgı Matbaacılık, Ankara.
- Yayla D, Soycañ Öneç S. (2021). The Effects of Waste Jam Mixture on Silage Fermentation, and in Vitro Digestibility of Alfalfa Silages. *Turkish J Agric Food Sci Technol.* 9(2): 301-307.
- Kızılsimsek M, Keklik K, Günaydın T. (2020). Using Possibilities of New Lactic Acid Bacteria Isolates as Microbial Inoculant on Different Dry Matter Containing Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Silage. *KSU J Agric Nat.* 23(5), 1331-1339.
- Yakışır BÖ, Aksu T. (2019). The Effect of Different Levels of Molasses's Dried Sugar Beet Pulp on the Quality of Alfalfa Silage. *Van Vet J.* 30(2): 71-76.
- Canbolat Ö, Yıldırım HK, Karaman Ş, Filya İ. (2010). The Investigation of Possibility of Grape Pomace as Carbohydrate Source in Alfalfa Silages. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 16(2): 269-276.
- Playne MJ, McDonald P. (1966). The Buffering Constituents of Herbage and of Silage. *J Sci Food Agric.* 17(6): 264-268.
- Broderick GA, Kang JH. (1980). Automated Simultaneous Determination of Ammonia and Total Amino Acids in Ruminal Fluid and In Vitro Media. *J Dairy Sci.* 63(1): 64-75.
- Suzuki M, Lund CW. (1980). Improved Gas-Liquid Chromatography for Simultaneous Determination of Volatile Fatty Acids and Lactic Acid in Silage. *J Agric Food Chem.* 28(5): 1040-1041.
- Ashbell G, Weinberg ZG, Azrieli A, Hen Y, Horev B. (1991). A Simple System to Study the Aerobic Determination of Silages. *Can Agric Eng.* 34: 171-175.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 18th edn. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Van Soest PV, Robertson JB, Lewis BA. (1991). Methods For Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J Dairy Sci.* 74(10): 3583-3597.
- Menke KH, Steingass H. (1988). Estimation of the Energetic Feed Value Obtained From Chemical Analysis and in vitro Gas Production Using Rumen Fluid. *Anim Res Dev.* 28: 7-55.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. (1979). The Estimation of the Digestibility and Metabolizable Energy Content of Ruminant Feedingstuffs From the Gas Production When They are Incubated With Rumen Liquor in vitro. *J Agric Sci.* 93(1): 217-222.
- Filya İ, Ashbell G, Hen Y, Weinberg ZG. (2000). The Effect of Bacterial Inoculants on the Fermentation and Aerobic Stability of Whole Crop Wheat Silage. *Anim Feed Sci Technol.* 88(1-2): 39-46.
- SPSS Inc. (1991). SPSS Statistical Algorithms. SPSS Incorporated.
- Kamal MT, Hashem MA, Al Mamun M, Hossain MM, Razzaque MA, Ritu JH. (2020). Investigating the Quality of Commercial Beef Cattle Feeds and feed Ingredients Used in Bangladesh. *SA-ARC J Agric.* 18(1): 197-208.
- Özkan Ö. (2021). Determination of Suitable Mixture Ratios for High Forage Yield and Quality in Forage Pea (*Pisum arvense* L.)-Triticale (*xTriticosecale Wittmack*) Mixed Sowings. Master's Thesis, Akdeniz University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Antalya.
- Okuyucu B, Özdüven ML, Koç F. (2018). The Effects of Lactic Acid Bacterial with Enzymes Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and in vitro Digestibility of Wet Brewers Grain Silages. *Alinteri J Agric Sci.* 33(2): 145-151.
- Yayla D. (2019). The Effects of Waste Jam Mixture on Silage Fermentation, Aerobic Stability and in vitro Digestibility of Alfalfa Silages. Master's Thesis. Namık Kemal University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Tekirdağ.
- Basmacioğlu H, Ergül M. (2002). Silage Microbiology. *J Anim Prod.* 43(1): 12-24.
- Yakışır BÖ. (2018). The Effect of Different Levels of Molasses Dried Sugar Pulp on the Quality of Alfalfa Silage. Master Thesis. Yüzüncü Yıl University. Graduate School of Health Sciens, Van.

✉ Corresponding Author:

Sadık Serkan AYDIN
Department of Animal Nutrition & Nutritional Diseases,
Faculty of Veterinary Medicine, Harran University,
Sanlıurfa, TÜRKİYE
E-posta: sadik.aydin@harran.edu.tr



Alabalık Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Siyah Asker Sineği Larvası (*Hermetia illucens*)'nın Büyüme Performansı ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkileri

Fatih AKDEMİR^{1,a,✉}

¹Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Malatya, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-5779-6631

Geliş Tarihi/Received
27.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
09.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Bu çalışmada, Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine farklı düzeylerde katılan dondurulmuş siyah asker sineği larvası (*Hermetia illucens*)'nin büyüme performansı ve bazı kan parametreleri üzerine olan etkileri araştırıldı. Her grupta 20 toplamda 80 adet balık olacak şekilde balıklar tartılıp boyları ölçüldükten sonra 4 gruba ayrıldı. Gruplar; canlı ağırlığın (CA) %1.5'i bazal diyetle beslenen kontrol grubu, CA'nın %1.5'i larva ile beslenen larva grubu, CA'nın %1.125'i bazal diyet + CA'nın %0.375'i larva ile beslenen L1 grubu ve CA'nın %0.75'i bazal diyet + CA'nın %0.75'i larva ile beslenen L2 grubu şeklinde oluşturuldu. Çalışmanın başında ve 21 günlük süre sonunda ağırlık ve boy ölçümleri yapıldı. Çalışma sonunda bütün balıklar kesilerek kan örnekleri alınıp karkas ağırlıkları ve karkas verimleri belirlendi. L1 ve L2 gruplarının kontrol ve larva gruplarına göre yem tüketimi, canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma oranı, karkas ağırlığı ve karkas verimi gibi büyüme parametreleri açısından daha iyi olduğu görüldü ($P<0.05$). Kan örneklerinde yapılan analizlerde LYM (Lenfosit, %), MID (Monosit, %), MCV (Ortalama Eritrosit Hacmi), MCH (Hücre hemoglobin ortalaması), RDW-SD (Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-standart sapma), RDW-CV (Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-varyasyon katsayısı) ve PLT (Trombosit) değerlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık olduğu bulundu ($P<0.05$). Sonuç olarak, alabalıkları bazal diyetle ilave olarak dondurulmuş siyah asker sineği larvası ile beslemenin büyüme performansında anlamlı düzeyde iyileştirmeler yaptığı görüldü. Ayrıca, balıkların kan yapımı hücreleri ile ilgili çok belirgin iyileştirmeler yapmamasına rağmen savunma sistemini destekleyici yönde etkiler yaptığı görüldü. Bu çalışma ile alabalıkların beslenmesinde larvaların tek başına kullanımından ziyade, bazal diyetle belli oranlarda karıştırılarak beslemenin daha faydalı olacağı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme performansı, gökkuşluğu alabalığı, siyah asker sineği larvası

The Effects of Black Soldier Fly Larva (*Hermetia illucens*) Added to Trout Feed in Different Proportions on Growth Performance and Some Blood Parameters

Abstract

In this study, the effects on growth performance and some blood parameters of frozen black soldier fly larva (*Hermetia illucens*) supplemented with different levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets were investigated. A total of 80 fish were divided into 4 groups after weighing and measuring their lengths, with 20 in each group. The groups were formed as follows: 1.5% of live weight (LW) basal diet fed control group, 1.5% of LW larva fed larvae group, 1.125% of LW basal diet + 0.375% of LW L1 group fed larvae and 0.75% of LW basal diet + 0.75% of LW larval fed L2 group. Weight and length measurements were made at the beginning of the study and at the end of the 21-day period. At the end of the study, all fish were slaughtered and blood samples were taken and carcass weights and carcass yields were determined. It was observed that L1 and L2 groups were better than control and larval groups in terms of growth parameters such as feed consumption, live weight gain, feed conversion ratio, carcass weight and carcass yield ($P<0.05$). Statistical differences were found between the groups in the analysis of blood samples in LYM(%), MID(%), LYM, MCV, MCH, RDW-SD, RDW-CV and PLT values. As a result, it was observed that feeding the trout with frozen black soldier fly larvae in addition to the basal diet significantly improved the growth performance. In addition, although it did not make significant improvements in the blood-forming cells of fish, it made impacts to support the defense system. With this study, it can be said that it would be more beneficial to feed the trout by mixing them with the basal diet in certain proportions rather than using the larvae alone.

Key Words: Black soldier fly larva, growth performance, rainbow trout

GİRİŞ

Balık, insanoğlu için en değerli besin kaynaklarının başında gelmektedir. Kaliteli ve yüksek oranda vitamin, mineral ve protein içeriğinin dışında insanlar için esansiyel olan Omega-

3 ve Omega-6 yağ asitleri açısından zengin oluşu balık tüketiminin gerekliliğini ve önemini açıkça ortaya koymaktadır (1). İnsan beslenmesinde günlük protein ihtiyacının mutlaka temin edilmesinin dengeli beslenme konusunda büyük önem taşıdığı bilinmektedir (2). Uzmanlar yakın gelecekte dünya

çapında özellikle hayvansal protein açığının yaşanabileceğini ve bu durumun mevcut hayvansal üretimle karşılanamayacağı konusunda uyarılarda bulunmaktadır (3). Bu açığın kapatılmasında gerek balık gerekse de diğer hayvan türlerinin beslenmesinde ucuz ve bol miktarda yem ham maddesi üretimi ve böylece de yem maliyetinin düşürülmesi esastır (4). Nitekim balık beslemede maliyetin yüksek bir kısmını yem girdileri oluşturmakta olup bu girdiler içerisinde de balık unu gibi günümüzde pahalı ve üretimi hızla düşen protein kaynaklı ham maddeleri yüksek düzeyde önem arz etmektedir (5). Balık rasyonlarının olmazsa olmazı olan balık unu, maliyet fiyatının artması ve üretim miktarının durağanlaşması/azalması neticesinde rasyondaki payının büyük bir kısmını öncelikle bitkisel protein kaynaklarına, daha sonra da solucan unu, kan kurdu unu ve bazı böcek larva unlarına bırakması kaçınılmaz bir durumdur (6-8). Böcek proteinlerinin balık yemlerinde kullanılabilme olanakları içerisinde üretiminin ucuz ve kolay olması, süreklilik arz etmesi, tüketim sonrası çevreye verilen zararın daha az olması, balık ununa yakın protein (9) ve yağ içeriğine (10) sahip olması gibi çok sayıda avantajlara sahip olan siyah asker sineği larvaları ön plana çıkmaktadır (11,12).

Anavatanı Amerika'nın tropikal ve ılıman bölgeleri olan siyah asker sineği (SAS), *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), Türkiye'de doğal olarak bulunan bir böcektir (13). SAS, her türlü hayvan dışkısı, sebze ve meyve artıkları, hayvanların iç organları ve birçok organik materyalleri canlı ağırlıklarının iki katı kadar tüketebilen büyük larvalara (13-20 mm) sahiptir (14,15). SAS larvaları, önemli düzeyde protein (%37-42 HP) ve yağ (%35 HY) içeriğine sahip olup (16) öncelikli olarak kanatlı (17) ve balık rasyonlarında (18) kullanılmalarının yanında dışkı kokularının azaltılması ve patojen mikroorganizmaların üremesinin engellenmesi ile daha hijyenik bir ortamın oluşturulmasında, ayrıca biyodizel üretiminde de kullanılabilir (19,20).

Bu çalışmanın amacı, Gökkuşuğu alabalıklarının farklı miktarlarda bazal diyet ve dondurulmuş siyah asker sineği larvasıyla beslemenin büyüme performansı ve bazı kan parametreleri üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Malatya Turgut Özal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Uygulama Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Malatya'da faaliyet gösteren yasal bir firmadan temin edilmiştir. Her birinde 20 adet alabalık (CA: 72 ± 0.5 gr; Boy: 165 ± 0.8 mm) olacak şekilde ve stoklama tankından rastgele seçilerek toplam 80 adet balık 4 gruba ayrılmıştır. Çalışma grupları; canlı ağırlığın (CA) %1.5'i bazal diyetle beslenen kontrol grubu, CA'nın %1.5'i larva ile beslenen larva grubu, CA'nın %1.125'i bazal diyet + CA'nın %0.375'i larva ile beslenen L1 grubu ve CA'nın %0.75'i bazal diyet + CA'nın %0.75'i larva ile beslenen L2 grubu şeklinde oluşturulmuş ve çalışma 21 gün sürmüştür. Çalışma boyunca tanklarda (250 lt, fiberglas) akarsu sistemi oluşturulmuş ve balıkların ihtiyacı düzeyinde havalandırma yapılmıştır. Suyun oksijen (8.5 mg/L), pH (8.25), tuzluluk (%8.4), iletkenlik (16.9 µS/cm), toplam çözünmüş katı madde (11.25 mg/L) ve sıcaklık (14.7

°C) değerleri çalışma boyunca bir multimetre yardımı ile ölçülerek kayıt edilmiştir. Balıklar bazal diyet (Tablo 1) ve dondurulmuş SAS larvaları ile günde iki öğün beslenmişlerdir. Larvalar (%45.61 HP, %31.75 HY ve %6.76 rutubet), NATURANSA Ekolojik Teknoloji Ürünleri Üretim Tic. Ltd. Şti. (Kocaeli, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Bazal diyetin ve larvaların kuru madde içerikleri göz önünde bulundurularak balıkların canlı ağırlıklarının toplam %1.5'i olacak şekilde hesaplanarak tartılan yemler balıklara verilmiştir. Larvalar yeme öncesi dondurucudan çıkarılıp çözündürülerek gruplarda belirlenen düzeylerde hayvanlara sunulmuştur. Yem tüketimleri günlük olarak belirlenip kaydedilmiştir.

Tablo 1. Bazal yemin bileşimi ve kimyasal kompozisyonu

Yem Hammaddeleri	%
Balık unu	41.10
Mısır gluteni	13.70
Soya fasulyesi küspesi	21.20
Buğday	13.00
Balık yağı	8.50
Bağlayıcı (sodyum alginat)	1.00
Vitamin karması ¹	1.00
Mineral karması ²	0.50
Kimyasal analiz (KM)	
Kuru madde	91.90
Ham protein	49.60
Ham kül	10.60
Ham yağ	13.70
Metabolize edilebilir enerji (MJ kg ⁻¹)	16.8

¹**Vitamin karması:** A vitamini 10,000,000 IU, D3 vitamini 1,000,000 IU, E vitamini 100,000 IU, K vitamini 15,000 mg, B1 vitamini 5,000 mg, B2 vitamini 15,000 mg, Niasin 150,000 mg, Kalsiyum D-Pantothenate 50,000 mg, B6 vitamini 10,000 mg, B12 vitamini 20 mg, Folik Asit 3,000 mg, D-Biotin 1,000 mg, Kolin Klorid 500,000 mg, C vitamini 300,000 mg.

²**Mineral karması:** Mn 80.000 mg/kg, Fe 35.000 mg/kg, Zn 50.000 mg/kg, Cu 5.000 mg/kg, I 2.000 mg/kg, Co 400 mg/kg, Se 150 mg/kg.

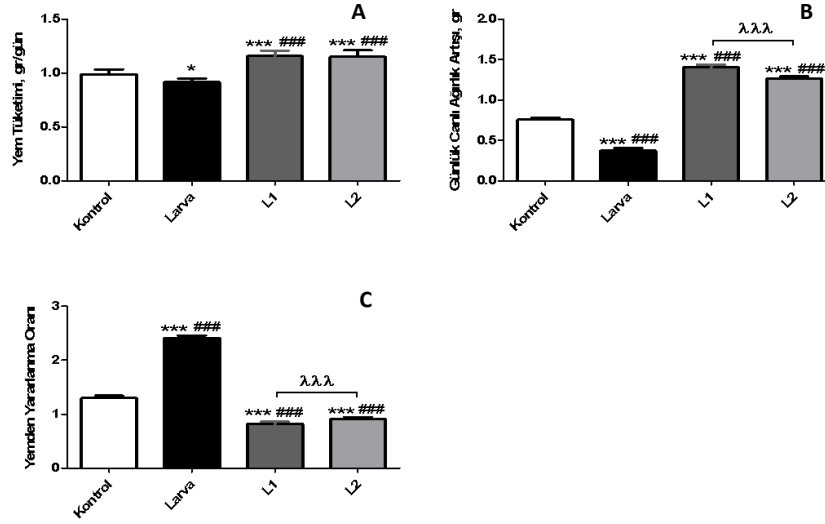
Çalışma etik kurala uygun olarak yapılmıştır (İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Etik Kurulu, Protokol No: 2018/A-07). Kesim günü balıklara yem verilmemiş ve balıklar anestezi madde ile (Benzocaine 30 mg/L) bayıltıldıktan sonra kesim ağırlığı, boy, karkas ağırlığı ve karkas verimi belirlenip günlük canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranları hesaplanmıştır. Balıkların kuyruk venalarından enjektörle alınan kan örnekleri EDTA'lı tüplere doldurulmuştur. Kan örneklerinde WBC (Lökosit), LYM (Lenfosit), MID (Monosit), RBC (Eritrosit), HGB (Hemoglobin), HCT (Hematokrit), MCV (Ortalama Eritrosit Hacmi), MCH (Hücre hemoglobin ortalaması), MCHC (Ortalama Eritrosit Hacmi), RDW-SD (Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-standart sapma), RDW-CV (Kırmızı kan hücresi dağılım genişliği-varyasyon katsayısı), PLT (Trombosit), MPV (Ortalama trombosit hacmi), PDW (Trombosit dağılım genişliği), PCT (Trombosit yüzdesi), P-LCR (Trombosit-hücre genişliği oranı) değerlerinin ölçümü, tam otomatik hematoloji analiz cihazı (PROCAN PE6800VET) ile yapılmıştır.

Çalışma sonunda elde edilen veriler SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) paket programı yardımıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilirken grupların ikili karşılaştırmaları Tukey post-hoc test ile değerlendirildi. İstatistiki anlamlılık için P < 0.05 kabul edildi.

BULGULAR

Farklı miktarlarda bazal diyet ve dondurulmuş siyah asker sineği larvasıyla beslenen alabalıklarda günlük yem tüketimi, günlük canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranları Şekil 1'de gösterilmiştir. L1 ve L2 gruplarındaki balıklar kontrol ve larva gruplarına göre anlamlı bir şekilde daha fazla yem tüketmişlerdir (P<0.05; Şekil 1-A). Günlük canlı ağırlık artışı değerlerine bakıldığında en düşük değer larva grubunda elde

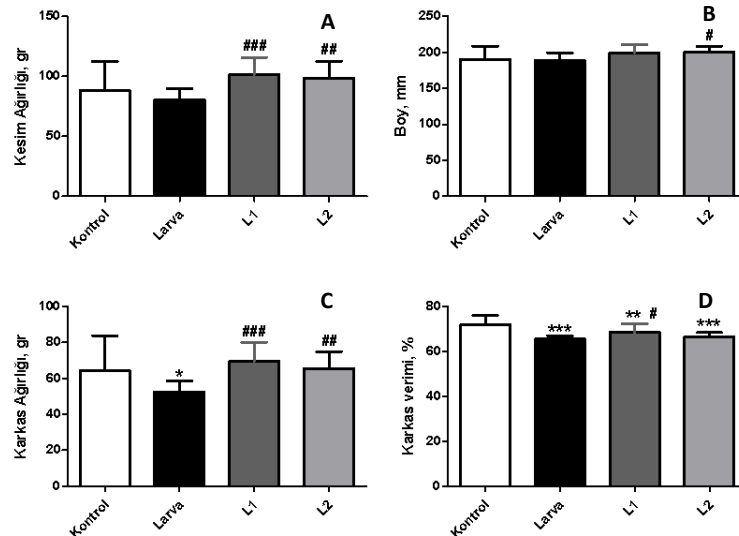
edilmiş olup, L1 ve L2 grupları diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek günlük canlı ağırlık artışı göstermişlerdir (P<0.05; Şekil 1-B). Diğer taraftan yem tüketimi ve günlük canlı ağırlık artışına paralel olarak yemden yararlanma oranında en iyi değerler L1 ve L2 gruplarında elde edilmiş (P<0.05) ve larva grubunda ise en kötü değer görülmüştür (Şekil 1-C).



Şekil 1. Çalışma gruplarındaki balıkların yem tüketimi (gr), günlük canlı ağırlık artışı (gr) ve yemden yararlanma oranları

Balıkların kesim ağırlıkları kontrol, larva, L1 ve L2 gruplarında sırasıyla 88.5gr, 80.4gr, 101.7gr, 98.8gr olup L1 ve L2 grubundaki balıklar anlamlı bir şekilde diğer gruplara göre daha ağır bulunmuştur (P<0.05; Şekil 2-A). Sadece L2 grubundaki balıkların boylarının anlamlı bir şekilde diğer gruplardan daha uzun olduğu ortaya konmuştur (P<0.05; Şekil 2-B). Karkas ağırlıklarına bakıldığında L1 grubundaki balıkların diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek değere sahip olduğu tespit edilmiş olup en düşük karkas ağırlığı larva grubunda elde edilmiştir (P<0.05; Şekil 2-C). Kesim ve karkas ağırlıklarından farklı olarak en yüksek karkas verimi kontrol grubunda görülmüş ve diğer gruplardaki değerlerin birbirine benzer olduğu ortaya konmuştur (Şekil 2-D).

Balıklardan alınan kan örneklerinde yapılan analizlerde %LYM, %MID, MCV, MCH, RDW-SD, RDW-CV ve PLT değerlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık bulunmuştur (P<0.05; Tablo 2). %LYM değeri L2 grubunda diğer gruplara göre en yüksek ve %MID değeri kontrol, larva ve L1 gruplarında L2 grubuna göre yüksek bulunmuştur (P<0.05). Diğer taraftan MCV, MCH, RDW-SD, RDW-CV ve PLT miktarları ise L1 ve L2 gruplarında kontrol ve larva gruplarına göre istatistiksel olarak daha yüksek ölçülmüştür (P<0.05). WBC, %GRAN, RBC, HGB, HCT, MCHC, MPV, PDW, PCT ve P-LCR değerlerinde ise gruplar arasında fark bulunmamıştır (P>0.05).



Şekil 2. Çalışma gruplarındaki balıkların kesim ağırlığı (gr), boy (mm), karkas ağırlığı (gr) ve karkas verimi (%)

Tablo 2. Çalışma gruplarındaki balıklarda ölçülen kan parametreleri

Parametreler	Gruplar			
	Kontrol	Larva	L1	L2
WBC (10 ³ /µL)	48.41±2.18	45.96±0.95	50.01±0.79	93.23±2.18
LYM (%)	93.01±0.33 ^b	93.15±0.20 ^b	93.23±0.29 ^b	94.74±0.61 ^a
MID (%)	4.56±0.17 ^{ab}	4.68±0.14 ^a	4.50±0.20 ^{ab}	3.95±0.14 ^b
GRAN (%)	2.43±0.17	2.17±0.86	2.28±0.1	2.20±0.21
RBC (10 ⁶ /µL)	1.46±0.09	1.53±0.03	1.63±0.05	1.64±0.29
HGB (g/dL)	7.75±0.45	8.12±0.08	8.92±0.26	8.14±0.75
HCT (%)	18.57±1.1	19.33±0.24	21.99±0.62	18.79±1.69
MCV (fL)	127±1.42 ^{bc}	126±1.57 ^c	134±1.32 ^a	133±2.58 ^{ab}
MCH (pg)	52.17±0.68 ^b	53.20±1.03 ^{ab}	54.45±0.68 ^{ab}	55.36±0.67 ^a
MCHC (g/dL)	41.71±0.49	42.22±0.43	40.63±0.49	41.72±1.2
RDW-SD (fL)	65.53±2.82 ^b	67.48±1.17 ^{ab}	73.99±1.91 ^a	69.81±1.41 ^{ab}
RDW-CV (%)	11.19±0.53 ^b	11.35±0.21 ^b	12.23±0.3 ^b	14.18±0.48 ^a
PLT (10 ³ /µL)	10.10±0.48 ^b	9.30±0.6 ^b	14.4±1.18 ^a	12.10±1.61 ^{ab}
MPV (fL)	13.26±0.41	13.55±0.10	13.47±0.38	12.84±0.58
PDW (%)	11.62±1.36	15.16±2.05	13.65±1.92	14.81±1.49
PCT (%)	0.01±0.003	0.01±0.002	0.01±0.002	0.02±0.003
P-LCR (%)	48.77±2.18	48.12±0.96	49.85±1.28	47.55±1.71

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çeşitli böcek larva veya onların protein kaynağı olarak katnatlı hayvanlar başta olmak üzere diğer hayvanların rasyonlarında da farklı oranlarda kullanıldığı ve büyüme performansı veya verimde önemli sayılabilecek sonuçların elde edildiği bildirilmektedir (19). Diğer hayvanlara benzer şekilde balıklar da protein, aminoasit ve yağ gibi besin maddelerine yüksek miktarda ihtiyaç duyarlar. Böcekler hayvanlar için kaliteli bir besin kaynağı olup yaklaşık %45-60 protein, %30-45 yağ ve %5'ten daha düşük oranda ham kül içermektedir (13). Balık rasyonlarının en önemli öğesi olan balık ununun son zamanlarda daha az üretilmesi ve maliyetinin artması, böcek gibi besin içeriği balık ununa yakın alternatif ham maddelerin balık rasyonlarında kullanımını kaçınılmaz kılmaktadır (13,21,22). Nitekim, Bondari ve Sheppard (23) yaptıkları çalışmada kanal yayını ve çipuraların sinek larvaları ile doğrudan beslenme konusunda istekli olduklarını bildirirken Ng ve ark. (24) un kurdu larva ununun karabalık yemlerinde balık unu ile birlikte %40 düzeyine kadar büyüme performansını etkilemeden kullanılabileceğini bildirmiştir. Yine St-Hilaire ve ark. (25) tarafından yapılan bir çalışmada, %25 böcek ikamesi ile beslenen alabalıkların ağırlık kazanımları ve yemden yararlanma oranlarında kontrol grubuna göre önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada canlı yem olarak morio kurdu kullanılmış ve %25 düzeyinde ikameyi yem ile beslenen grupların en yüksek canlı ağırlık değerine ulaştığı görülmüş, ayrıca morio kurdu kullanım miktarı arttıkça hem canlı ağırlık kazancı hem de balık boylarının azaldığı ortaya konmuştur (26). Benzer şekilde bu çalışmada bazal diyete ilave olarak dondurulmuş SAS larvaları ile beslenen alabalıklarda yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı bazal diyetle beslenen balıklara göre anlamlı bir şekilde iyileşmiş, sadece SAS larvaları ile beslenen grupta ise balık boyları ve yemden yararlanma oranı kötüleşmiştir (P<0.05; Şekil 1). Yine bu çalışmayı destekleyici yönde

Lock ve ark. (27) tarafından Atlantik somonlarında balık unu ile SAS larva unu kullanılarak yapılan çalışmada, yemden yararlanma oranında iyileşme olduğu rapor edilmiştir.

LYM, MID, MCV ve MCH gibi hematolojik parametrelerin balıklarda belirgin bir şekilde kan ve bağışıklık sistemi hücrelerinin yapımının uyarımında görev aldığı bildirilmektedir (28). Bazı bitkisel yağlar, fitokimyasallar ve çeşitli antioksidan özelliklere sahip maddelerin alabalıklarda bu parametreleri artırdığı gösterilmiştir (29,30). Avrupa levreği (31) ve yılanbaşı balıklarında (32) SAS larva unu, pacu balıklarında ise bütün halde larva (33) kullanılarak yapılan çalışmalarda balıkların kanlarında ölçülen hematolojik parametrelerde gruplar arasında her hangi bir farklılığın olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada ise yukarıda bildirilen çalışmaların aksine L1 ve L2 gruplarındaki alabalıkların kanlarında ölçülen %LYM, %MID, MCV, MCH, RDW-SD, RDW-CV ve PLT değerleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur (P<0.05; Tablo 2).

Sonuç olarak, bazal diyete ilave olarak dondurulmuş siyah asker sineği larvası ile beslenen alabalıkların büyüme performansının arttığı ve savunma sisteminin güçlenmesi yönünde uyarıldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre, siyah asker sineği larvalarının alabalıkların beslenmesinde protein kaynağı olarak belirli düzeylerde kullanılabileceği söylenebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, İÜBAP Koordinatörlüğünce Lisans Öğrencisi Katılımlı FLO-2018-1113 nolu proje ile desteklenmiş olup 3. Uluslararası Karadeniz Modern Bilimsel Araştırmalar Kongresi (23-24 Mart, 2023, Samsun, Türkiye)'nde sözlü olarak sunulmuştur. Yazar hem adı geçen koordinatörlüğe hem de kongre düzenleme kuruluna teşekkür eder.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Turan H, Kaya Y, Sönmez G. (2006). Balık Etinin Besin Değeri ve İnsan Sağlığındaki Yeri. *EgeJFAS*. 23(3): 505-508.
2. Oliva-Teles A, Enes P, Peres H. (2015). Replacing Fishmeal and Fish Oil in Industrial Aquafeeds for Carnivorous Fish. In: Davis DA, Editor. *Feed and Feeding Practice in Aquaculture*. Cambridge: Woodhead Publishing. 203–233.
3. FAO. (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture: Contributing to Food Security and Nutrition for all*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
4. Raman SS, Stringer LC, Bruce NC, Chong CS. (2022). Opportunities, Challenges and Solutions for Black Soldier Fly Larvae-based Animal Feed Production. *J Clean Prod*. 373: 133802.
5. Tomberlin JK, van Huis A, Benbow ME, et al. (2015). Protecting the Environment Through Insect Farming as a Means to Produce Protein for Use as Livestock, Poultry, and Aquaculture Feed. *J Insects Food Feed*. 1(4): 307-309.
6. de Marco M, Martínez S, Hernandez F, et al. (2015). Nutritional Value of Two Insect Larval Meals (*Tenebrio Molitor* and *Hermetia Illucens*) for Broiler Chickens: Apparent Nutrient Digestibility, Apparent Ileal Amino Acid Digestibility And Apparent Metabolizable Energy. *Anim Feed Sci Technol*. 209: 211-218.
7. Renna M, Schiavone A, Gai F, et al. (2017). Evaluation of The Suitability of A Partially Defatted Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal as Ingredient for Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*, Walbaum) Diets. *J Anim Sci Biotechnol*. 8(1): 57.
8. Aisyah HN, Athirah ZAR, Hanani WR, et al. (2022). The Effect of Feeding Black Soldier fly Larvae on Growth Performance, Protein, and Fat Content of Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis spp.*). *Vet World*. 15(10): 2453-2457.
9. Jozefiak D, Engberg RM. (2015). "Insect as Poultry Feed" 20th European Symposium on Poultry Nutrition, 24-27 August, Prague, Czech Republic.
10. Sheppard DC, Newton GL, Thompson SA, Savage S. (1994). A Value Added Manure Management System Using The Black Soldier Fly. *Bioresour Technol*. 50(3): 275-279.
11. Stamer A, Wessels S, Neidigk R, Hoerstgen-Schwark G. (2014). Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae-Meal As An Example for A New Feed Ingredients' Class in Aquaculture Diets. 4 th ISO-FAR Scientific Conference. Building Organic Bridges, at the Organic World Congress, 13 - 15 October, Istanbul, Turkey (eprint ID 24223).
12. Charlton AJ, Dickinson M, Wakefield ME, et al. (2015). Exploring the Chemical Safety of Fly Larvae as a Source of Protein for Animal Feed. *J Insects Food Feed*. 1(1): 7-16.
13. Nairuti RN, Musyoka SN, Yegon MJ, Opiyo MA. (2022). Utilization of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens* L.) Larvae as a Protein Source for Fish Feed - A Review. *Aquac Stud*. 22(2): AQUAST697.
14. Tomberlin JK, Adler PH, Myers HM. (2009). Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature. *Environ Entomol*. 38(3): 930-934.
15. Nguyen TTX, Tomberlin JK, Vanlaerhoven S. (2015). Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste. *Environ Entomol*. 44: 406-410.
16. Sheppard DC, Newton GL. (2000). Valuable By-products of a Manure Management System Using the Black Soldier Fly. Pages. 35-39 in *Animal, Agricultural and Food Processing Wastes, Proceedings of the 8th International Symposium*. ASAE, St Joseph, MO.
17. Widjastuti T, Wiradimadja R, Rusmana D. (2014). The Effect of Substitution of Fish Meal by Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Maggot Meal in the Diet on Production Performance of Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Sci Papers Ser D Anim Sci*. 42: 125–129.
18. Henry M, Gasco L, Piccolo G, Fountoulaki E. (2015). Review on the Use of Insects in the Diet of Farmed Fish: Past and Future. *Anim Feed Sci Technol*. 203: 1-22.
19. Newton GL, Sheppard DC, Watson DW, et al. (2005). The Black Soldier Fly, *Hermetia illucens*, as a Manure Management/Resource Recovery Tool. In *Symposium on The State of The Science of Animal Manure and Waste Management*, pp. 5-7.
20. Leong SY, Kuty SRM, Malakahmad A, Tan CK. (2016). Feasibility Study of Biodiesel Production Using Lipids of *Hermetia illucens* Larva Fed with Organic Waste. *Waste Manag*. 47: 84-90.
21. St-Hilaire S, Cranfill K, McGuire MA, et al. (2007a). Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *J World Aquac Soc*. 38: 309.
22. Veldkamp T, van Duinkerken G, van Huis A, et al. (2012). Insects as a Sustainable Feed Ingredient in Pig and Poultry Diets – A Feasibility Study, Report 638 - Wageningen Livestock Research.
23. Bondari K, Sheppard DC. (1981). Soldier Fly Larvae as Feed in Commercial Fish Production. *Aquac*. 24: 103-109.
24. Ng WK, Liew FL, Ang LP, Wong KW. (2001). Potential of Mealworm (*Tenebrio molitor*) as an Alternative Protein Source in Practical Diets for African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquac Res*. 32 (Supplement 1): 273-280.
25. St-Hilaire S, Sheppard C, Tomberlin JK, et al. (2007b). Fly Prepupae as a Feedstuff for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J World Aquac Soc*. 38: 59-67.
26. Doğançaya L. (2017). Gökkuşluğu Alabalığı Yavru Yemlerinde Balık Unu Yerine Süper Kurt (*Zophobas morio*) Unu İkamesinin Büyüme Performansına Etkileri. *Turkish J Aqua Sci*. 32(1): 1-7.
27. Lock E, Arsiwalla T, Waagbø R. (2016). Insect larvae Meal as an Alternative Source of Nutrients in the Diet of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Posts Molt. *Aquac Nutr*. 22 (6): 1202-1213.
28. Altınterim B, Danabas D, Aksu O. (2018). The effects of Common Yarrow (*Achillea millefolium* Linnaeus), Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) and Rosemary (*Rosemarinus officinalis* Linnaeus) Hydrosols on the Some Immunological and Hematological Parameters of Common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Cell Mol Biol*. 64(14): 19–24.
29. Altınterim B, Kutluy F, Aksu O. (2018). Effects of Different Plant Oils Having Different Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) on Hematological Parameters of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) at High Stocking Density. *Ataturk Univ Vet*. 13(1): 63-69.
30. Altınterim B, Ozturk E, Kutluy F, Aksu O. (2018). Effects of Green Tea (*Camellia sinensis*) Oil on Feed Utilization and Hematological Parameters of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ataturk Univ. Vet*. 13(2): 159-164.
31. Abdel-Tawwab M, Khalil RH, Metwally AA, Shakweer MS, Khalil MA, Abdel-Latif HM. (2020). Effects of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal on Growth Performance, Organosomatic Indices, Body Composition, and Hemato-biochemical Variables of European Sea Bass, *Dicentrarchus Labrax*. *Aquac*. 522: 735136.

32. Siddaiah GM, Kumar R, Kumari R, et al. (2023). Dietary fishmeal replacement with *Hermetia illucens* (Black soldier fly, BSF) larvae meal affected production performance, whole body composition, antioxidant status, and health of snakehead (*Channa striata*) juveniles. *Anim Feed Sci Technol*. 297: 115597.
33. Ordoñez BM, Santana TM, Carneiro DP, et al. (2022). Whole Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) as Dietary Replacement of Extruded Feed for Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Juveniles. *Aquac J*. 2: 246-256.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Fatih AKDEMİR
Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Zootečni Anabilim Dalı, 44210, Malatya, TÜRKİYE
E-posta: fatih.akdemir@ozal.edu.tr



Sığırlarda Metakarpo/Metatarsofalangeal Eklemine Artroskopik Yaklaşım: Bir Kadavra Çalışması

Emine ÇATALKAYA^{1,a,✉}, Sadık YAYLA^{1,b}, Semih ALTAN^{1,c}, Berna ERSÖZ KANAY^{1,d}, Nahit SAYLAK^{1,e}

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Diyarbakır/TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0001-7884-5407; ^bORCID: 0000-0001-6734-421X; ^cORCID: 0000-0003-3158-3678

^dORCID: 0000-0001-5165-0618; ^eORCID: 0000-0003-2008-5403

Geliş Tarihi/Received
30.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
30.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Artroskopi eklem hasarlarının tanı ve tedavisinde önemli yer tutar. Bu çalışmada sığırlarda metakarpo/metatarsofalangeal (MCP/MTP) eklemleri için artroskopik yaklaşımı ve anatomisini tanımlayarak klinik pratiğe katkı sağlaması amaçlandı. Çalışma materyalini mezbahada kesimi yapılmış 5 sığırın 10 MCP ve 10 MTP eklemi oluşturdu. Artroskopik olarak bu eklemlere dorsal ve palmar/plantar yönden yaklaşıldı ve intraartiküler yapılar artroskopik olarak görüntülenerek tanımlandı. Dorsal yaklaşımda sinovyal villuslar, metakarpus/metatarsusun distali ve I. falanksın proksimali, palmar/plantar yaklaşımda ise bu yapıların yanısıra proksimal sesamoid kemikler, çapraz sesamoid ligamentler görüntüldü. Sonuç olarak, diğer birçok eklemden olduğu gibi MCP/MTP eklemlerinde de artroskopik yaklaşım tekniklerinin bilinmesi önemlidir. Bu teknikler intraartiküler yapıların değerlendirilmesine ve görselleştirilmesine yardımcı olabilir. Ancak eklem hasarı olduğu durumlarda eklem normal anatomisi ve artroskopik giriş yerleri değişebilir. Bu nedenle klinik olgularda da tekniklerin değerlendirilmesi önemli olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, artroskopi, metakarpofalangeal eklem, metatarsofalangeal eklem, sığır

Arthroscopic Approach to the Metacarpal/Metatarsophalangeal Joint in Cattle: A Cadaver Study

Abstract

Arthroscopy is an important surgical technique in the diagnosis and treatment of joint injuries. This study, it was aimed to contribute to veterinary clinical practice and literature by describing the arthroscopic approach and anatomy for metacarpal/metatarsophalangeal (MCP/MTP) joints in cattle. The study material consisted of 10 MCP and 10 MTP joints of 5 cattle slaughtered in a slaughterhouse. Arthroscopically, these joints were approached from the dorsal and palmar/plantar directions, and the intra-articular structures were identified by arthroscopic visualization. In the dorsal approach, synovial villi, distal metacarpus/metatarsus, and proximal I. phalanx were visualized, while in the palmar/plantar approach, proximal sesamoid bones and transverse sesamoid ligaments were visualized as well as these structures. In conclusion, it is important to know the arthroscopic approach techniques in MCP/MTP joints as in many other joints. These techniques can aid in the evaluation and visualization of intra-articular structures. However, in cases of joint damage, the normal anatomy of the joint and arthroscopic entry sites may change. Therefore, it will be important to evaluate the techniques in clinical cases as well.

Key Words: Anatomy, arthroscopy, , metacarpophalangeal joint, metatarsophalangeal joint, cattle

GİRİŞ

Sığırların metakarpo/metatarsofalangeal (MCP/MTP) eklemi, proksimal falanksın proksimal ucu ile üçüncü ve dördüncü metakarpal/metatarsal (MC/MT III ve IV) kemiklerin distal uçlarından oluşur. Dorsal olarak, belirgin bir septum lateral ve medial eklem keselerini ayırır. Bu keseler içindeki eklem kırıkdağı, ekstansör tendonların sinovyal kılıflarının altında yer alır. MCP/MTP eklemine distal palmar/plantar bölgesindeki lateral ve medial sinovyal kese arasındaki bağlantı vakaların %98.9'unda mevcuttur. Bu nedenle sığırlarda MCP/MTP eklemi tek bölmeli olarak ele alınmalıdır (1-3).

Artroskopik cerrahi, eklem bozukluklarının tanı ve tedavisi için minimal invaziv bir teknik olarak tanımlanmaktadır (4-6). İntraartiküler yapıların doğru bir şekilde değerlendiril-

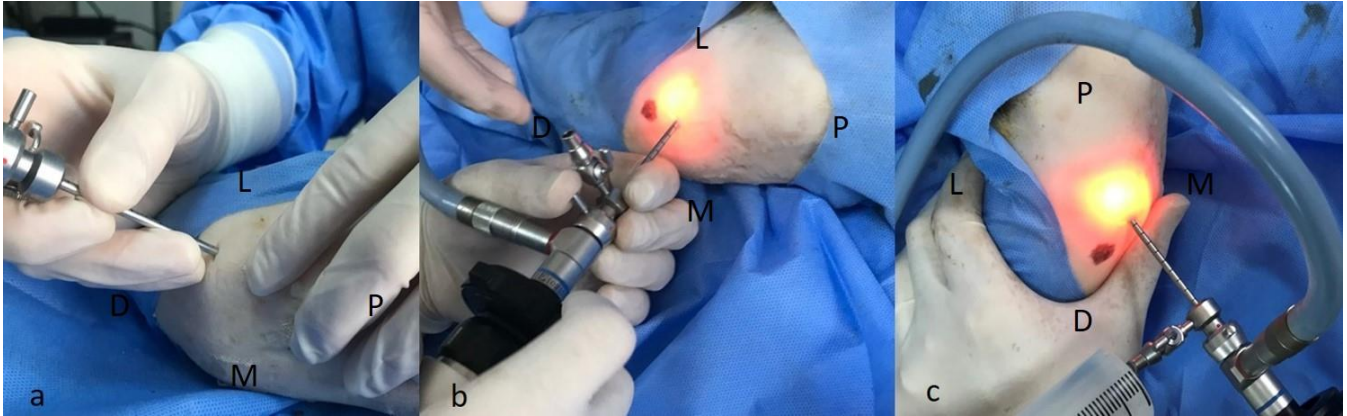
mesine olanak sağlayarak, eklem patolojilerinin tanımlanmasına yardımcı olur. Genel olarak eklem bozukluklarının tanısı klinik, radyografik, ultrasonografik inceleme ve ardından sinovyal sıvının makroskopik, sitolojik ve mikrobiyolojik analizi için artrosenteze dayanır (4,5). Septik artritisin erken evrelerinde, radyografide spesifik olmayan eklem çevre dokularında şişkinlik ve eklem aralığında genişleme görülürken, subkondral kemik erimesi, osteomyelitis ve kemik proliferasyonu gibi bulgular ancak 10-14 gün sonra belirgin hale gelebilir. Ultrasonografi, sinovyal sıvıdaki artış durumunda (artmış hacim ve ekojenite), kırıkdağı ve subkondral kemik kontürü ve periartiküler dokuların değerlendirilmesine olanak sağladığı için hastalığın erken tanınmasında avantaj sağlar. Bu nedenle ultrasonografi, artroskopik incelemeye önce

yapılması tavsiye edilir (7). Sığırlarda artrit gibi eklem rahatsızlıklarının tedavisi için eklem lavajı, artrotomi, eklem rezeksiyonu ve arthrodesis gibi farklı birçok cerrahi müdahale tanımlanmıştır (4,5,8,9). Artroskopi, intraartiküler yapıların doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlar ve sığırlarda eklem patolojilerinin tedavisi için uygulanabilir cerrahi tekniklerin yelpazesini genişletir (10). Ancak artroskopi pratisyen veteriner hekimlerin deneyim eksikliği, artroskopi cihazlarının maliyeti, genel anestezi gereksinimi ve sığırlarda sınırlı faydasının olması gibi yanlış düşüncelerden dolayı sığır pratiğinde kullanımı sınırlıdır. Bu nedenle damızlık boğalar ve genetik değeri yüksek ineklerdeki eklem rahatsızlıkları artroskopik cerrahi için teşhis ve tedavi açısından bir endikasyon oluşturur (4,5).

Sığırlarda septik ve aseptik artritlerle sıklıkla karşılaşmaktadır. MCP/MTP eklemlerinin çevresi tendo, ligament, damar vb. yönünden zengin bir bölgedir. Hem eklemi oluşturan yapılarda şekillenen lezyonlar hem de çevre dokularda (tendo ve ligamentler) şekillenen lezyonlar bu eklemde yaygınlaşmasına neden olabilir. Bu çalışmada sığırlarda metakarpo/metatarsofalangeal (MCP/MTP) eklemleri için artroskopik yaklaşım ve anatomisini tanımlayarak klinik pratiğe ve literatüre katkı sağlanması amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışma materyalini ortopedik problemi olmayan 5 sağlıklı sığırın 20 kadavra MCP/MTP eklemi (10 ön ekstremite, 10 arka ekstremite) oluşturdu. Distal ekstremite traşlanarak bölge artroskopi için hazırlandı. Eklem kapsülü 20 cc laktatlı ringer solüsyonu çekilmiş 21 gauge kanülü olan bir enjektör ile dorsalden intraartiküler girilerek eklem kapsülü belirginleşinceye kadar verildi. Eklem distansiyonu sonrası eklem giriş yerine (dorsal yaklaşımda ekstensör tendonun yaklaşık 1cm abaksiyali, palmar/plantar yaklaşımda mahmuzların proksimal medial kısmı) bir bistüri yardımı ile deriye küçük bir kesi yapıldı. Bu kesi yerinden artroskop kılıfına keskin uçlu bir trokar yerleştirildi. Artroskopik kılıf ve keskin uçlu trokar eklem kırıkdağlarının hasar görmesini engellemek amacıyla önce eklem dik, sonra metakarpal/metatarsal III-IV ve eklem yüzeyine paralel olacak şekilde eklem kapsülüne yerleştirildi. Kanülden sinovyal sıvı aktığında trokar geri çekildi. Eklem içinde biriken sıvının uzaklaştırılması için artroskop kılıfına tahliye hortumu (serum seti) takıldı. 30 derece 4 mm çapında teleskop beyaza duyarlılık testi (bu amaç için pamuk veya gazlı bez kullanıldı) yapıldıktan sonra artroskop kılıfına yerleştirildi ve fiber optik kablo ile ışık kaynağına bağlandı (Şekil 1). Böylece eklem içinin görünümü monitöre aktarıldı.



Şekil 1. MCP eklemine artroskopik yaklaşımın aşamaları

a. Artroskopik kılıf içerisinde bulunan keskin trokarın bistüri ile yapılan kesi hattından eklem kapsülüne yerleştirilmesi, b. Keskin trokarın çıkarılarak artroskopik kılıf içerisine teleskopun yerleştirilmesi, c. Intraartiküler yapıların değerlendirilmeye başlanması, a,b,c şekillerinde D: Distal, P: Proksimal, L: Lateral, M: Medial.

Dorsal Yaklaşım

Eklem ekstansiyonda iken, eklem distansiyonu sonrası oluşturulan çıkıntının proksimalinde ekstensör tendonun yaklaşık 1 cm'lik abaksiyelinde bir bistüri ile 1 cm'lik bir deri ve fascia ensize edildi. Artroskopik kılıf keskin uçlu bir trokar yardımı ile eklem yerleştirildi. Kanülün açık musluğundan sinovyal sıvı aktığında, trokar çıkarılarak teleskop yerleştirildi. Eklem şişirildi ve eklemi oluşturan kemik ve yumuşak dokuların artroskopik değerlendirmesi yapıldı.

Palmar/plantar yaklaşım

Eklem fleksiyonda iken, eklem distansiyonunu takiben oluşturulan çıkıntının ortasında ve proksimal üçte birinde bistüri ile 1 cm'lik küçük bir kesi yapıldı. Deri ve fascia, bistürü ile ensize edildi. Ensizedilen bölgeden keskin uçlu bir trokar ara-

cılığı ile artroskopik kılıf eklem yerleştirildi. Kanülden sinovyal sıvı aktığında, keskin trokar çıkarıldı ve teleskop yerleştirildikten sonra palmar/plantar yönde eklemi oluşturan anatomik yapılar görüntülenmeye çalışıldı.

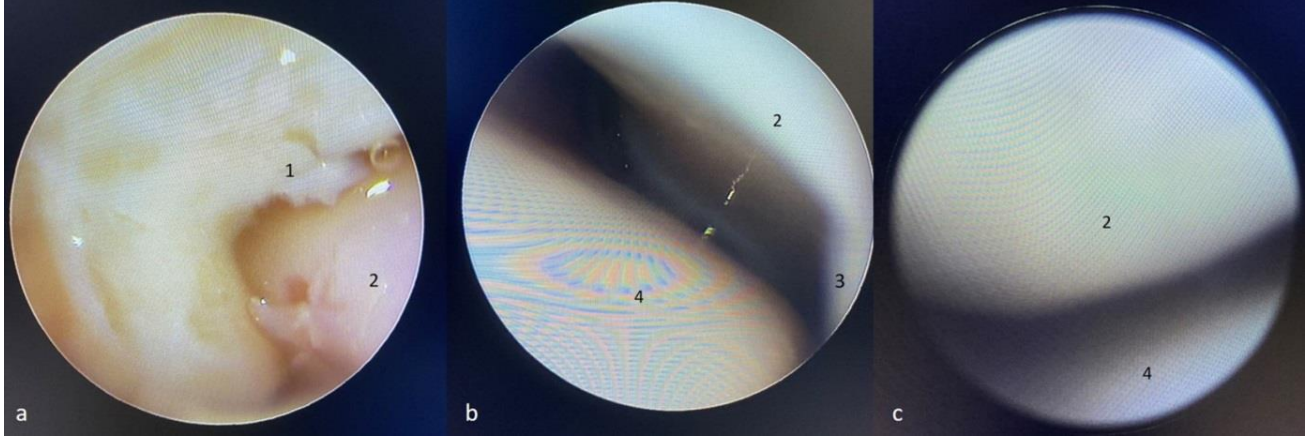
BULGULAR

Bu çalışmada 5 yetişkin sığırın 20 MCP/MTP (10 MCP, 10 MTP) kadavra eklemi değerlendirildi. Sığırların ortalama yaşı 4.8 (3-7 yaş aralığı) ve ortalama ağırlıkları 430 kg (300-600 kg) idi. Dört sağmal inek ve 1 besi sığıru çalışma kapsamına alındı. Değerlendirmeye alınan sığırların hiçbirinin MCP/MTP eklemine klinik ve artroskopik olarak herhangi bir eklem hasarına dair bir bulgu saptanmadı. Her bir eklem artroskopik muayenesi yaklaşık 15-20 dakika sürdü. MCP ve MTP eklemleri arasında artroskopik olarak herhangi bir farklılık gözlenmedi.

Dorsal Yaklaşım

Metakarpal/metatarsal kondil ve metakarpal/metatarsal kemiğin sagittal çıkıntısı görüntüledi. Eklem kapsülünün proksimal kısmında metakarpal/metatarsal kemikler görüldü.

Artroskopik muayenede proksimal falanksın çok az bir kısmı görüntü alanına girdi. Şekil 2'de dorsal yaklaşımda artroskopik olarak belirlenen anatomik yapılar gösterilmiştir.



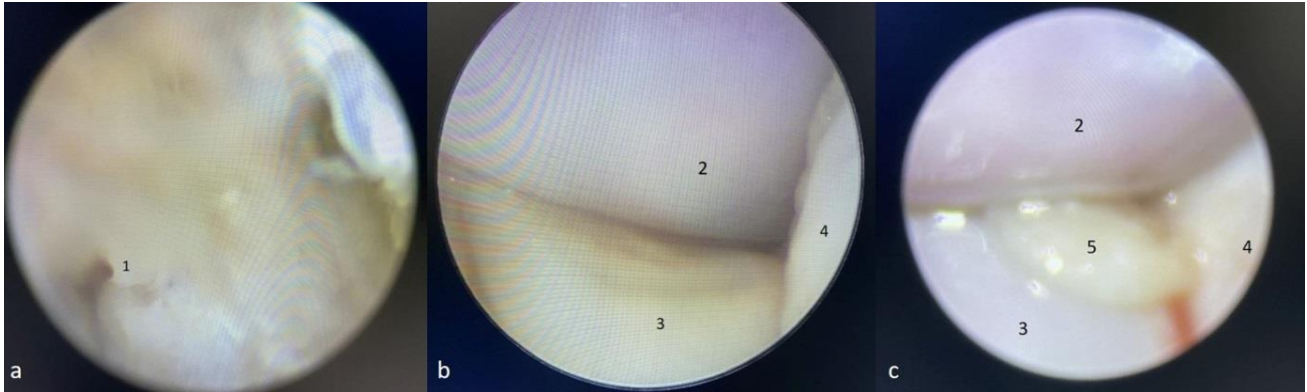
Şekil 2. a,b,c görsellerinde MTP eklemine dorsal artroskopik yaklaşımda görüntülenen yapılar

1. Sinovyal membran ve villuslar, 2. Metatarsus, 3. Metatarsal kondilin sagittal çıkıntısı, 4. Proksimal falanks.

Palmar/Plantar Yaklaşım

Bu yaklaşımda MCP/MTP eklemi oluşturan tüm yapılar, medial veya lateral eklem kapsülünden görüldü. Her bir eklem kapsülünde 2 proksimal sesamoid kemiği ve bunların ligamentleri görüldü. Metakarpal/metatarsal kondilin pal-

mar/plantar yönü ve sagittal çıkıntısı görselleştirildi. Proksimal falanksın palmar/plantar yönü ve çapraz sesamoid ligament belirlendi (Şekil 3). Proksimal falanksın (I. falanks) proksimal yüzeyi eklem fleksiyon yapılırken sadece görüntüledi. Medial ve lateral eklem keselerini birbirine bağlayan açıklık görüntülenmedi.



Şekil 3. a,b,c görsellerinde MCP eklemine palmar/plantar artroskopik yaklaşımda görüntülenen yapılar

1. Synovial membran ve villuslar, 2. Metakarpus, 3. Lateral proksimal sesamoid kemik, 4. Medial proksimal sesamoid kemik, 5. Çapraz sesamoidal ligament.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Sığırlarda MCP/MTP eklemi lateral ve medial olarak iki kısımdan oluşur. Bu yapılar çoğu zaman birbiri ile bağlantılıdır (2,3). Ancak bazen dorsal bazen de palmar/plantar yüzde sinovyal membranın bir kıvrımı bu iki yapıyı birbirinden ayırır. Bu sinovyal membran, palmar/plantar yüzde kolaylıkla yırtılabilir. Dorsal kısımda, bu membran daha kalın ve keskin uçlu bir trokar kullanılmadan yırtılması daha zordur. Palmar/plantar eklem poşu, her bir fleksör tendonun (lateral ve medial) abaksiyal yönünde büyük ve geniştir. Dorsal eklem poşu, musculus ekstensör digitorum comminis (ön ekstremite), musculus ekstensör digitorum longus (arka bacak) ve musculus ekstensör digitorum lateralis (ön ayak ve arka bacak) tendolarının abaksiyel tarafında daha küçüktür (2). Bu çalış-

mada gerek dorsal gerekse palmar/plantar yaklaşımda bölgedeki tendo ve ligamentler korunarak eklem aralığının en iyi hissedildiği yerden eklem poşuna girilerek artroskopik muayene yapıldı.

Sığırlarda eklem muayenesinde radyografi, ultrasonografi ve artroskopik muayene önemlidir. Radyografik muayenede değerlendirilemeyen anatomik yapılar ultrasonografide, ultrasonografik muayenede değerlendirilemeyen anatomik yapılar ise artroskopik muayenede değerlendirilebilir. Ultrasonografide çapraz sesamoidan bağlar ve palmar/plantar yüzdeki medial ve lateral eklem keselerini birbirine bağlayan açıklık görülmezken, artroskopide bu yapılar görüntülenebilir ve değerlendirilebilir (1,11). Bu çalışmada palmar/plantar yüzdeki medial ve lateral eklem keselerini birbi-

rine bağlayan açıklık kullanılan artroskop kılıfının esnek olmaması, eklem aralığının dar olmasına bağlı manipülasyon yetersizliği nedeniyle görüntülenemedi.

Sığırlarda MCP/MTP eklemine dorsal ve palmar/plantar yönden artroskopik olarak yaklaşılabılır. Sığırlarda eklem artroskopisi yaparken gerek dorsal yaklaşım gerekse palmar/plantar yaklaşımda tendo, damar ve sinirlerin hasar görmemesine dikkat edilmelidir. Her iki yaklaşımda artroskopik muayenede görüntülenebilecek anatomik yapılar bakımından bazı kısıtlamalar vardır. Bu durumun en önemli nedenleri eklem aralığının dar olması ve manipülasyon yetersizliğidir (1). Yaptığımız bu çalışmada dorsal yaklaşımda palmar/plantar yaklaşıma nazaran daha geniş bir synovial kese görüntülenirken, palmar/plantar yaklaşımda dorsal yaklaşımda görüntülenemeyen çapraz sesamoidan ligament, proksimal sesamoid kemikler de görüntülendi.

Artroskopi, eklem lezyonlarının teşhis ve tedavisinde gerek insan hekimliği gerekse veteriner hekimlikte kullanılan bir tekniktir (12-14). Sığırlarda septik artritis sıklıkla gözlenmektedir. Akut septik artritis vakalarında iyi bir prognoz ve tedavi masraflarını düşük tutmak için tedavi erken aşamada ve titiz bir şekilde planlanmalıdır (1,8,15,16). Artroskopinin septik artritiste, eklemi oluşturan yapıların lezyonlarının belirlenmesinde, sinovitlerde fibrinli içeriğin uzaklaştırılmasında ve intraartiküler lavajda kullanıldığı bildirilmiştir (8,12,17,18). Radyolojik muayenelerde eklem kırıkdağında belirlenemeyen lezyonlar, eklem içi yırtıklar vb. hasarların teşhisi artroskopi ile daha kolaydır (12,19,20). MCP/MTP eklemlerinde birbiri ile bağlantılı olan medial ve lateral kese birleşimi fibrin veya pıhtı nedeniyle tıkanabilir. Ayrıca bu iki eklem kesesini birbirine bağlayan açıklık septik artritis durumunda enfeksiyonun kalıcılığı yönünden her zaman bir risk oluşturur (1,11). Bu nedenle septik artritis durumunda her iki sinovyal keseyi artroskopik olarak görüntülemek ve yıkamak her zaman gereklidir (1). Bu çalışma eklemden hasar bulunmayan sağlıklı kadavra eklemlerinde yapıldığı için septik ve/veya aseptik artritise dair herhangi bir bulguya artroskopik olarak rastlanmadı.

Sonuç olarak sığırlarda MCP/MTP eklemine artroskopisi, ilgili eklemde intrasinovyal yapıların görüntülenmesini ve değerlendirilmesini sağlayan minimal invaziv bir cerrahi tekniktir. Septik artritis olgularında artroskopik lavaj eklemde daha iyi temizlenmesine olanak sağlar ve hekimin daha kesin bir prognoz için eklemi görselleştirmesine olanak tanır. Metakarpo/metatarsofalangeal eklemde dorsal ve palmar/plantar yüzünde çok sayıda tendo, ligament, damar, sinir olduğundan dolayı bu yapılara zarar vermeden yapılacak artroskopik görüntüleme ve artroskopik lavaj için giriş yerlerinin belirlenmesi gereklidir. Artroskopi intraartiküler yapıların değerlendirilmesine ve görselleştirilmesine olanak sağlayarak septik artritis ve kronik eklem lezyonlarında prognozun belirlenmesinde kolaylık sağlar. Bu çalışma sağlıklı eklem kadavralarında gerçekleştirilmiştir. Kronik septik artritis veya eklemi oluşturan kemiklerde şekillenen osteofit vb. durumlarda bu eklemde normal anatomisi ve artroskopik giriş yerleri değişebilir. Bu nedenle septik artritis, dejeneratif eklem hasarı vb. klinik olgularda da tekniklerin değerlendirilmesi önemli olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada kullanılan artroskop ve ekipmanları, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından VETERİNER.20.007 numaralı proje ile alınmıştır. Bu nedenle Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Blaser M, Bertagnoli A, Räber M, Nuss K, Rasekh M, Steiner A. (2012). Arthroscopic Approaches to the Fetlock Joint of Adult Cattle: A Cadaver Study. *The Vet J.* 193: 701-706.
- Larde H, Nichols S. (2014). Arthroscopy in Cattle, Technique and Normal Anatomy. *Vet Clin Food Anim.* 30: 225-245.
- Desrochers A, St-Jean G, Cash WC, Hoskinson JJ, DeBowes RM. (1997). Characterization of Anatomic Communications of the Fetlock in Cattle, Using Intra-Articular Latex Injection and Positivecontrast Arthrography. *Am J Vet Res.* 58(7): 710-712.
- Fadul M, Rotz AV, Alsaad M, Sato R, Steine A. (2020). Arthroscopic Approaches to and Anatomy of the Shoulder Joint of Cattle: A Cadaver Study. *BMC Vet Res.* 16: 150.
- Nichols S, Anderson DE. (2014). Determination of the Normal Arthroscopic Anatomy of the Femoropatellar and Cranial Femorotibial Joints of Cattle. *Can Vet J.* 55: 232-239.
- Hwang J, Heo S, Kim B, Lee S, Jeong S, Lee H. (2015). Arthroscopy for the Diagnosis and Treatment of Failed Trochleoplasty in a Dog. *J Vet Clin.* 32(3) : 251-254.
- Hagag U, Tawfik MG, Brehm W. (2019). Palmar Arthroscopic Approach and Intra-articular Anatomy of the Bovine Carpal Joints. *Vet Surg.* 48: 537-545.
- Watson C, Cullen M, Stack JD. (2022). Arthroscopic Debridement and Lavage of a Fetlock Joint in a British Blue Calf. *Vet Rec Case Rep.* e502.
- Starke A, Kehler W, Rehage J. (2006). Arthrotomy and Arthrodesis in the Treatment of Complicated Arthritis of the Fetlock Joint in Adult Cattle. *Veterinary Record* 159: 772-777.
- Larde H, Nichols S, Babkine M, Desrochers A. (2017). Arthroscopic Approach and Intra-articular Anatomy of the Dorsal and Plantar Synovial Compartments of the Bovine Tarsocrural Joint. *Vet Surg.* 46: 145-157.
- Vanderperren K, Martens A, Haers H, Duchateau L, Saunders JH. (2009). Arthroscopic Visualisation of the Third Metacarpal and Metatarsal Condyles in the Horse. *Equine Vet J.* 41: 526-533.
- Arıcan M, Parlak K, Satılmış F. (2015). Köpeklerde Articulatio Genu Lezyonlarının Tanısında Artroskopi Uygulamaları. *Eurasian J Vet Sci.* 31(1): 20-26.
- Kim J, Jeong J, Lee H. (2019). Evaluation of a Self-retaining Distractor for Hip Joint Arthroscopy in Toy Breed Dogs. *BMC Vet Res.* 15: 35.
- Llido M, Livet V, Carozzo C, Viguier É, Cachon T. (2023). Treatment of Medial Shoulder Joint Instability by Stabilization with an Arthroscopically Guided Prosthetic Ligament: A Cadaveric Feasibility Study in Dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 36: 1-9.
- Arıcan M, Erol H, Altan S, Köylü Ö. (2022). The Use of Infrared Thermography in the Early Diagnosis of Septic Arthritis in Calves. *BJVM.* 25(2): 298-307.

16. Starke A, Heppelmann M, Meyer H, Rehage J. (2008). Diagnostic and Therapy of Septic Arthritis in Cattle. *Cattle Pract.* 16: 36-43.
17. Yuan Li, Fuyuan Deng, Juncai Liu et al. Arthroscopic Multichannel Combined Approach in The Treatment of Knee Lumen Infection With Calf Effusion Abscess : A Retrospective Analysis of 15 Patients, 22 January 2021, PREPRINT (Version 1) available at Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-148437/v1]
18. Plesman R, Gilbert P, Campbell J. (2013). Detection of Meniscal Tears by Arthroscopy and Arthrotomy in Dogs with Cranial Cruciate Ligament Rupture. A Retrospective, Cohort Study. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 26: 42-46.
19. Alkan Z, Bumin A, Temizsoylu D, Sarierler M. (2001). Köpeklerde Diz Eklemi Lezyonlarının Direkt Radyografik, Artrografik ve Artroskopik Tanısı Üzerine Klinik ve Deneysel Uygulamaların Karşılaştırılması. *Turk J Vet Anim Sci.* 25: 57-64.

20. Acar SE, Altunatmaz K, Devocioğlu Y, Şadalak DJ. (2004). Köpeklerde Eklemi Hastalıklarının Tanısında Direkt ve Indirekt Radyografiler (artrografi) ile Artroskopi'nin Karşılaştırılması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg.* 30: 103-122.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Emine ÇATALKAYA
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, 21200, Diyarbakır/TÜRKİYE
E-posta: eminecatalkaya21@gmail.com



Effects of Sexed and Conventional Semen Use and Calf Gender on Milk Yield Parameters, Body Weight and Milk Electrical Conductivity in Holstein Cows

Tahir BAYRIL^{1,a,✉}

¹Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Dicle University, Diyarbakir, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0001-5322-7346

Geliş Tarihi/Received
29.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
15.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Abstract

This study was designed to determine the effects of semen type and calf gender on milk yield parameters, milk electrical conductivity and milk flow values and postpartum maternal body weight. A total of 265 Holstein cows in the first lactation were used in the study. The effect of sperm type on maternal body weight levels after calving and milk electrical conductivity values was significant ($P<0.05$). The effect of calf gender on postpartum maternal body weight values was significant ($P<0.05$). But, calf gender did not have any effect on milk electrical conductivity values and milk flow rates ($P>0.05$). Heifers inseminated with sexed semen had higher 100-days milk yield, milk peak yield and postpartum maternal body weight in the first lactation. Milk peak duration was higher in heifers inseminated with conventional semen ($P<0.05$). The effect of semen type and calf gender on maternal body weight after calving were significant ($P<0.05$). However, calf gender had no effect on 100, 305-days and lactation milk yields, milk peak yield and duration, milking duration and lactation length ($P>0.05$). In conclusion, heifers inseminated with sexed semen had higher maternal body weights, 100-days milk yield, milk peak yields and milk electrical conductivity levels in the first lactation than inseminated with conventional semen.

Key Words: Body weight, milk electrical conductivity, milk yield, sexed sperma

Holstein İneklerde Cinsiyeti Belirlenmiş ve Konvansiyonel Semen Kullanımı ve Buzağı Cinsiyetinin Süt Verim Parametreleri, Canlı Ağırlık ve Süt Elektriksel İletkenliği Üzerine Etkileri

Öz

Bu çalışma, sperma tipinin ve buzağı cinsiyetinin süt verimi parametreleri, süt iletkenlik ve akışkanlık değerleri ve doğum sonrası maternal canlı ağırlıkların üzerine etkisini belirlemek için tasarlandı. Çalışmada, birinci laktasyonda olan toplam 265 Holştayn inek kullanıldı. Sperma tipinin doğum sonrası maternal canlı ağırlık ve süt iletkenlik değerleri üzerine etkisi önemli bulundu ($P<0.05$). Buzağı cinsiyetinin doğum sonrası maternal canlı ağırlık değerleri üzerine etkisi önemliydi ($P<0.05$), fakat süt iletkenlik değerleri ve süt akışkanlık oranları üzerine cinsiyetin herhangi bir etkisi yoktu ($P>0.05$). Cinsiyeti belirlenmiş sperma ile tohumlanan düvelerin ilk laktasyondaki 100 günlük süt verimleri ve süt pik verimleri daha yüksekti. Pik süresi ise, konvansiyonel semen ile tohumlanan düvelerin ilk laktasyonunda daha yüksek bulundu ($P<0.05$). Buzağılama sonrası maternal canlı ağırlık üzerine sperma tipinin ve buzağı cinsiyetinin etkisi önemliydi ($P<0.05$). 100 gün, 305 gün ve laktasyon süt verimi, süt pik verimi ve süresi, sağım süresi ve laktasyon uzunluğu üzerine ise, buzağı cinsiyetinin herhangi bir etkisi yoktu ($P>0.05$). Sonuç olarak, cinsiyeti belirlenmiş sperma ile tohumlanan düvelerin ilk laktasyondaki maternal canlı ağırlıkları, 100 gün süt verimleri, süt pik verimleri ve süt elektriksel iletkenlik değerleri konvansiyonel sperma ile tohumlanarlardan daha yüksek olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Canlı ağırlık, cinsiyeti belirlenmiş sperma, süt elektriksel iletkenlik, süt verimi

INTRODUCTION

The most important breeding material of dairy cow breeding enterprises is female calves. More female heifers are needed to ensure the continuity and size of the dairy farm. It is also very important to increase the genetic progress of the herd and to supply female animal material to other dairy farm (1). One of the most important methods of providing the source of female heifer in milk production enterprises is insemination with sexed semen. The rate of female calves obtained from insemination with sexed semen is over 90%. This rate

obtained from insemination with conventional semen is almost half (2).

Milk yield is affected by genetics and many environmental factors. In addition, it is stated that the sex of the offspring also affects the milk yield (3). The development of the mammary glands increases in late pregnancy and is controlled by maternal and placental hormones (lactogen, estrogen, and progesterone) (4). The secretion of milk occurs through a complex physiological and behavioral interaction between dam and offspring. Sex-related milk synthesis can occur with different cellular capacity programmed through hormonal stimuli from the fetal-placental structure (5).

It is not an easy but reliable method to evaluate body condition scores of lactating cows independently of body weight. The transition from late pregnancy to lactation involves metabolic challenges. In the early lactation period, milk yield increases rapidly and energy needs increase. Since it cannot consume enough nutrients to meet its energy needs, this energy demand causes the mobilization of fat and muscle tissues. Due to the negative energy balance, it is very important that the body weight is at the desired level (6).

Milk flow rate and milk electrical conductivity are important indicators of selection and determining the level of sub-clinical and clinical mastitis in dairy cattle breeding (7). As the milking flow rate increases, the teat canal widens and becomes a target for pathogenic microorganisms (8). The electrical conductivity of milk increases with the change of anion and cation concentrations due to the inflammation in the mammary tissue. Also, there is a positive genetic correlation between the electrical conductivity of milk and mastitis (9).

In the study, it will be useful to use data on milk electrical conductivity, milk flow rate, body weight change and milk yield. Using the data, we wanted to determine how the use of sexed and conventional semen changed milk yield, electrical conductivity, body weight changes and milk fluidity values. The aim of this study is to determine the effects of semen type and calf gender on milk yield parameters, post-natal maternal live weight changes, milk electrical conductivity and flow rate values.

MATERIAL AND METHODS

Animal Management and Feeding

The study was carried out in a total of 265 cows (Holstein) in the first lactation in a private agriculture and livestock farm. The data of the heifers in the first lactation, which were inseminated 150 heads with sexed (2.5 x 106 sperm/dose), and 115 heads with conventional semen (20 x 106 sperm/dose), were used. *Brucella*, *IBR*, *BVD*, *neospora caninum* blood tests of all cows used in the study were negative. Animal shelters had free stalls, rubber beds, automatic drinkers and cooling systems. Primiparous cows were milked 3 times a day in an automatic milking system at 8 hour intervals (Rotary Magnum 90 Milking Parlor, Westfalia Surge, Germany). Milk yield parameters, milk electrical conductivity (Conductivity Meters, Westfalia Surge, Germany), milk flow rate and body weight values (Taxatron, Westfalia Surge, Germany) of cows were obtained from the herd management program (Dairy Plan C21, Westfalia Surge, Germany) in the milking parlor computer. Cows were fed with total mixed ration (TMR) three times a day at 8 hour intervals, after each milking. In the early lactation period, each cow was fed with an average of 10 kg of concentrate, 25 kg of corn silage, 3 kg of dried alfalfa, 2 kg of wheat straw and 3 kg of vetch + triticale mixture. In addition, 250 ml of propylene glycol, 400 g of bypass fat and 300 g of sodium bicarbonate per animal were added to the ration.

Statistical Analysis

Independent samples t test, one of the parametric tests, was preferred because of the normal distribution of the data, homogeneity of variances, and low values of kurtosis and skewness. In the study, descriptive statistics were expressed as mean and standard deviation.

RESULTS

The differences in the postpartum (in 1-4 weeks) body weight changes and milk electrical conductivity levels of the heifers inseminated with sexed and conventional semen were statistically significant (P<0.05). There was no effect of semen type on milk flow rate (P>0.05) (Table 1).

Table 1. Effects of insemination with sexed and conventional semen on body weight, milk electrical conductivity and flow rate in Holstein cows

Parameters	Semen Type	
	Sexed Semen X±Sx	Conventional Semen X±Sx
	Body weight (kg)	
Weeks	n=150	n=115
1	501.68 ± 38.14 ^a	481.57 ± 40.29 ^b
2	490.57 ± 39.11 ^a	473.33 ± 37.46 ^b
3	483.31 ± 39.76 ^a	464.93 ± 38.56 ^b
4	481.86 ± 40.92 ^a	464.03 ± 36.87 ^b
Total	489.35 ± 39.12 ^a	470.97 ± 37.01 ^b
	Conductivity (mS/cm)	
Weeks		
1	509.46 ± 34.53 ^a	498.64 ± 32.39 ^b
2	497.98 ± 30.85 ^a	485.90 ± 29.95 ^b
3	491.08 ± 29.18 ^a	479.97 ± 28.84 ^b
4	488.12 ± 31.11 ^a	473.70 ± 28.72 ^b
Total	496.66 ± 27.27 ^a	484.55 ± 27.44 ^b
	Milk flow rate (kg/min)	
Weeks		
1	1.26 ± 0.44	1.36 ± 0.40
2	1.56 ± 0.39	1.57 ± 0.39
3	1.63 ± 0.40	1.71 ± 0.46
4	1.64 ± 0.41	1.75 ± 0.39
Total	1.52 ± 0.32 NS	1.60 ± 0.39 NS

a, b: The difference between groups with different letters in the same line is significant (P<0.05)

NS: Not significant

Body weight: Postpartum maternal body weight after calving

The effect of calf gender on maternal body weight, milk electrical conductivity and flow rate is given in Table 2. The effect of calf gender on maternal body weight changes by weeks (in 1-4 weeks) was significant (P<0.05). This difference is due to the higher body weights of female calving cows. However, calf gender had no effect on milk electrical conductivity values and milk flow rates (P>0.05).

Table 2. Effect of calf gender on body weight, milk electrical conductivity and flow rate

Parameters	Semen Type	
	Sexed Semen X±Sx	Conventional Semen X±Sx
		Body weight (kg)
Weeks	n=195	n=70
1	496.93 ± 37.23 ^a	467.56 ± 45.95 ^b
2	486.29 ± 37.53 ^a	461.00 ± 41.92 ^b
3	478.56 ± 38.94 ^a	453.60 ± 41.55 ^b
4	476.43 ± 39.07 ^a	455.96 ± 41.35 ^b
Total	484.55 ± 38.19 ^a	459.53 ± 42.69 ^b
		Conductivity (mS/cm)
Weeks		
1	503.34 ± 32.36	505.64 ± 38.57
2	490.76 ± 30.62	494.40 ± 31.89
3	485.45 ± 29.65	486.84 ± 29.22
4	481.00 ± 31.82	480.44 ± 27.40
Total	490.14 ± 31.11	491.83 ± 31.77
	NS	NS
		Milk flow rate (kg/min)
Weeks		
1	1.39 ± 0.42	1.33 ± 0.34
2	1.58 ± 0.41	1.50 ± 0.30
3	1.66 ± 0.44	1.69 ± 0.41
4	1.70 ± 0.42	1.71 ± 0.35
Total	1.58 ± 0.42	1.56 ± 0.35
	NS	NS

a, b: The difference between groups with different letters in the same line is significant (P<0.05)

NS: Not significant

Body weight: Pospartum maternal body weight after calving

Heifers inseminated with sexed semen had high milk yields at 100-days milk yield and milk peak yields in the first lactation. Peak duration was higher in heifers inseminated with conventional semen (P<0.05). In addition, maternal body weights after calving were higher in dams inseminated with sexed semen (P<0.05). There was no effect of semen type on 305-days and lactation milk yield, , lactation length and milking duration (P>0.05) (Table 3).

Table 3. Effects of insemination with sexed and conventional semen on production parameters in Holstein cows

Parameters	Semen Type	
	Sexed Semen X±Sx	Conventional Semen X±Sx
Milk yield (100-days, kg)	3113.82 ± 136.20 ^a	2943.96 ± 154.10 ^b
Milk yield (305-days, kg)	9115.37 ± 258.00	8806.64 ± 223.00
Lactation milk yield, kg	9808.89 ± 311.00	9430.18 ± 291.00
Milk peak yield, kg	37.79 ± 16.12 ^a	35.81 ± 15.34 ^b
Lactation length, days	328.25 ± 34.72	324.25 ± 5.37
Milk peak duration, days	61.25 ± 18.68 ^a	69.44 ± 18.69 ^b
Milking duration, minutes	6.51 ± 0.10	6.51 ± 0.11
Body weight, kg	498.31 ± 39.12 ^a	480.56 ± 37.01 ^b

a, b: The difference between groups with different letters in the same line is significant (P<0.05)

Body weight: Pospartum maternal body weight after calving

The effect of calf gender on milk production parameters and maternal body weight after calving in Holstein cows

are given in Table 4. The effect of gender postpartum maternal body weight was determined to be significant. These values were higher in female calving heifers (P<0.05). Calf gender had no effect on 100-days, 305-days and lactation milk yield, milking duration, milk peak yield, milk peak duration and lactation length (P>0.05).

Table 4. Effect of calf gender on milk production parameters and body weight after calving in Holstein cows

Parameter	Calf Gender	
	Female X±Sx	Male X±Sx
Milk yield (100-days, kg)	3061.80 ± 130.40	2872.28 ± 194.10
Milk yield (305-days, kg)	8946.38 ± 267.00	8777.80 ± 207.00
Lactation milk yield, kg	9602.14 ± 313.00	9465.52 ± 306.00
Milk peak yield, kg	37.20 ± 11.14	34.84 ± 12.28
Lactation length, days	326.44 ± 35.84	325.90 ± 32.51
Milk peak duration, days	63.69 ± 18.15	70.10 ± 19.87
Milking duration, minutes	6.53 ± 0.82	6.47 ± 0.85
Body weight, kg	494.58 ± 39.12 ^a	468.33 ± 42.06 ^b

a, b: The difference between groups with different letters in the same line is significant (P<0.05)

Body weight: Pospartum maternal body weight after calving

DISCUSSION AND CONCLUSION

Although the effect of body condition score on milk and fertility is an important research topic, few studies have been reported between milk yield and body weight changes. Significant relationships are reported between body weight with milk and reproductive yields (10,11). Postpartum body weight losses vary according to the severity of negative energy balance. High milk yield and insufficient food intake increase live weight losses. This leads to loss of body weight and decrease in milk yield in the following days (12). In the present study, postpartum maternal body weights (first 4 weeks) of heifers inseminated with sexed semen were higher than inseminated with conventional semen. In addition, it was observed that cows inseminated with sexed semen had higher milk yields at 100, 305-days and lactation. These data show that high postpartum body weight has a positive effect on milk yield.

The electrical conductivity value of milk is a parameter frequently used in automatic milking systems to determine sub-clinical and clinical mastitis in recent years. Electrical conductivity occurs with the variation of anion and cation ions. In the case of sub-clinical or mastitis occurring in milk, the concentration of Na⁺ and Cl⁻ ions increases. This increase increases the electrical conductivity of milk (13). The genetic correlation between electrical conductivity and mastitis is reported to be between 0.65 and 0.8. The use of electrical conductivity in genetic evaluation may be an important criterion for herd management and animal selection (9). In another study, it was stated that electrical conductivity, milk

flow rate and milk production rate are important in determining animal health (before clinical signs of mastitis) (14). In the present study, the electrical conductivity of milk in the first lactation was found to be higher in heifers inseminated with sexed semen. This high value may be due to the use of semen from different bulls of the same breed.

Hormones released from the fetus during pregnancy can cross the placenta and affect the hormone levels in the dam depending on the fetal sex (15). Differences in hormones secreted during the lactation period may affect the milk yield of dams giving birth to male or female calves. If differences in these increased hormones affect udder development, calf gender may have an impact on milk yield in all lactations (16). A numerically increase was detected in 100, 305-days milk yield, lactation and peak milk yields of heifers giving birth to female calves compared to giving birth to male calves. In a study conducted in New Zealand in Holstein and Jersey breed cows, it was stated that the milk yield of dams giving birth to female calves was higher. The researchers explained the high milk yield by the fact that the gestation period of the dams giving birth to male calves was two days longer. Also, in the study conducted with Holstein cows, it was reported that female giving birth dams had higher milk yield. In addition, it was stated that the calf gender in the first parity also affects the milk yield in the next lactation (17,18). In a study in Danis Holstein cows, it was reported that cows with male fetuses had lower milk yield. They explained that higher milk yield in cows that gave birth to females after birth may cause cows with male fetuses to spend more energy and decrease milk yield (19). The higher birth weight of male calves increases the difficult birth. Difficult birth causes decreases in milk yield after calving (20). In our study, cows inseminated with sexed semen had higher milk yields. However, Diers et al. (21) reported that the milk yield of cows inseminated with conventional semen was 200 kg higher than cows inseminated with sexed semen. Postpartum body weights of dams giving birth to female calves were higher than giving birth to male calves. Male calves have higher birth weights than females. In the fetal period, male calves have more space in the uterus and pressure on the digestive system (2). For this reason, body weight gain may have increased due to the increase in prenatal feed consumption of dams giving birth to female calves. In the development of the prenatal mammary gland, the presence and concentrations of hormones, immune factors and milk bioactive components that affect offspring development may differ in the milk secreted according to sex (22).

The effect of semen type on milk peak duration was significant. Cows inseminated with conventional semen and giving birth to male calves had a longer milk peak duration. In the study conducted in primiparous Holstein cows, milk peak yield and peak duration were reported as 35.31kg and 88.6 days, respectively. It is seen that the milk peak yield is lower than the current study and the peak duration is longer (23). Hinde et al. (18) reported that the effect of calf gender on peak milk yield was insignificant. Milk yield at 100-days was found to be high in heifers inseminated with sexed semen. Similarly, Waheeb et al. (24) stated that 305-days milk yields

in the first lactation were numerically higher in heifers inseminated with sexed semen. In another study, semen type had no effect on milk yield (25).

As a result, postpartum maternal body weights and milk electrical conductivity levels of heifers inseminated with sexed semen were higher than inseminated with conventional semen. In addition, 100-days milk yield and milk peak yield were found to be higher in heifers inseminated with sexed semen. In dams giving birth to female calves, postpartum maternal body weight was significantly increased.

REFERENCES

1. Cottle DJ, Wallace M, Lonergan P, Fahey AG. (2018). Bioeconomics of Sexed Semen Utilization in A High-Producing Holstein-Friesian Dairy Herd. *J Dairy Sci.* 101(5): 4498-4512.
2. Norman HD, Hutchison JL, Miller RH. (2010). Use of Sexed Semen and Its Effect on Conception Rate, Calf Sex, Dystocia, and Stillbirth of Holsteins in The United States. *J Dairy Sci.* 93: 3880-3890.
3. Landete-Castillejos T, Garcia A, Lopez-Serrano FR, Gallego L. (2005). Maternal Quality and Differences in Milk Production and Composition for Male and Female Iberian Red Deer Calves (*Cervus elaphus hispanicus*). *Behav Ecol Sociobiol.* 57(3): 267-74.
4. Sternlicht MD, Kouros-Mehr H, Lu P, Werb Z. (2006). Hormonal and Local Control of Mammary Branching Morphogenesis. *Differentiation.* 74(7): 365-381.
5. Hinde K. (2009). Richer Milk for Sons But More Milk for Daughters: Sex-Biased Investment during Lactation Varies with Maternal Life History in Rhesus Macaques. *Am. J Hum Biol.* 21(4): 512-519.
6. Beam SW, Butler WR. (1999). Effects of Energy Balance on Follicular Development and First Ovulation in Postpartum Dairy Cows. *J Reprod Fertil.* 54: 411-424.
7. Samaraweera AM, Boerner V, Disnaka S, van der Werf JJ, Hermes S. (2022). Genetic Associations between Mastitis, Milk Electrical Conductivity, and Milk Flow Rate in Temperate Dairy Cows in Tropics. *Livestock Science.* 264: 105064.
8. Carlstrom C, Strandberg E, Johansson K, Pettersson G, Stållhammar H, Philipsson J. (2016). Genetic Associations of In-Line Recorded Milkability Traits and Udder Conformation with Udder Health. *Acta Agric. Scand.* 66: 84-91.
9. Norberg E. (2005). Electrical Conductivity of Milk as a Phenotypic and Genetic Indicator of Bovine Mastitis: A Review. *Livestock Production Science.* 96: 129-139.
10. Roche JR, Macdonald KM, Burke CR, Lee JM, Berry DP. (2007). Associations between Body Condition Score, Body Weight and Reproductive Performance in Seasonal-Calving Pasture-Based Dairy Cattle. *J Dairy Sci.* 90: 376-391.
11. Hristov AN, Price WJ, Shaf B. (2005). A Meta-Analysis on The Relationship between Intake of Nutrients and Body Weight with Milk Volume and Milk Protein Yield in Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 88: 2860-2869.
12. Horan B, Dillon P, Faverdin P, Delaby L, Buckley F, Rath M. (2005). Strain of Holstein-Friesian by Pasture-Based Feed System Interaction for Milk Production, Bodyweight and Body Condition Score. *J Dairy Sci.* 88: 1231-1243.
13. Kitchen BJ. (1981). Review of The Progress of Dairy Science: Bovine Mastitis: Milk Compositional Changes and Related Diagnostic Tests. *J Dairy Res.* 48: 167-188.

14. Inzaghi V, Zucali M, Thompson PD, Penry JF, Reinemann DJ. (2021). Changes in Electrical Conductivity, Milk Production Rate and Milk Flow Rate Prior to Clinical Mastitis Confirmation. *Ital. J Anim Sci.* 20(1): 1554–1561.
15. Ivell R, Bathgate RA. (2002). Reproductive Biology of The Relaxin-like Factor (RLF/INSL3). *Biol Reprod.* 67(3): 699-705.
16. Hess MK, Hess AS, Garrick DJ. (2016). The Effect of Calf Gender on Milk Production in Seasonal Calving Cows and Its Impact on Genetic Evaluations. *PloS one.* 11(3): e0151236.
17. Chegini A, Zadeh NGH, Moghadam HH. (2015). Effect of Calf Sex on Some Productive, Reproductive and Health Traits in Holstein Cows. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 13(2): 2.
18. Hinde K, Carpenter AJ, Clay JS, Bradford BJ. (2014). Holsteins Favor Heifers, Not Bulls: Biased Milk Production Programmed During Pregnancy as A Function of Fetal Sex. *PloS one.* 9(2): e86169.
19. Græsbøll K, Kirkeby C, Nielsen SS, Christiansen LE. (2015). Danish Holsteins Favor Bull Offspring: Biased Milk Production as a Function of Fetal Sex, and Calving Difficulty. *PloS one.* 10(4): e0124051.
20. Johanson JM, Berger PJ. (2003). Birth Weight as A Predictor of Calving Ease and Perinatal Mortality in Holstein Cattle. *J Dairy Sci.* 86(11): 3745–55.
21. Diers S, Heise J, Krebs T, Groenewold J, Tetens J. (2020). Effect of Sexed Semen on Different Production and Functional Traits in German Holsteins. *Vet Anim Sci.* 9: 100101.
22. Neville MC, Anderson SM, McManaman JL, Badger TM. (2012). Lactation and Neonatal Nutrition: Defining and Refining The Critical Questions. *J Mammary Gland Biol.* 17(2): 167–188.
23. Atashi H, Asaadi A, Hostens M. (2021). Association between Age at First Calving and Lactation Performance, Lactation Curve, Calving Interval, Calf Birth Weight, and Dystocia in Holstein Dairy Cows. *PloS one.* 16(1): e0244825.
24. Waheeb RS, Harb HM, El-Amrawi GA. (2020). Research Article GnRH at Time of Insemination of Sexed Semen Enhanced Conception Rate in Holstein Heifers. *Asian J Anim Vet Adv.* 15 (2): 60–66.
25. Chebel RC, Guagnini FS, Santos JEP, Fetrow JP, Lima JR. (2010). Sex-sorted Semen for Dairy Heifers: Effects on Reproductive and Lactational Performances. *J Dairy Sci.* 93(6): 2496–2507.

✉ **Corresponding Author:**

Tahir BAYRIL

Department of Animal Science, Faculty of Veterinary
Medicine, Dicle University, Diyarbakir, TÜRKİYE

E-posta: tbayril@hotmail.com



DeneySEL ve Ticari Üretim Koşullarında Yetiştirilen Yavaş Gelişen Etlik Piliçlerde Davranışsal Hayvan Refahı Parametreleri Üzerine Yaşın Etkisi

Metin PETEK^{1,a,✉}, Hakan ÜSTÜNER^{1,b}, Enver ÇAVUŞOĞLU^{1,c}, Tuğçe Necla SELVİ^{1,d}, Mihriban DEMİR^{1,e}, Fahir Cankat BRAV^{1,f}, Mariam BERTHE^{1,g}, Erdem Çağlar KÜPELİ^{1,h}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Bursa, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0003-4560-2438; ^bORCID: 0000-0002-4341-5842; ^cORCID: 0000-0002-9018-3511; ^dORCID: 0000-0003-3425-3201;

^eORCID: 0000-0003-3341-0172; ^fORCID: 0000-0003-0557-9720; ^gORCID: 0009-0002-9443-0994; ^hORCID: 0009-0005-7638-472X

Geliş Tarihi/Received
30.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted
10.05.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Bu çalışma, deneysel ve ticari üretim koşullarında yetiştirilen yavaş gelişen etlik piliçlerde davranışsal hayvan refahı parametreleri üzerine yaşın etkisini incelemek amacı ile yapılmıştır. Ticari koşullarda yetiştirilen 2000 adet yavaş gelişen etlik piliç ile deneysel koşullarda yetiştirilen 30 adet yavaş gelişen etlik piliç içinden seçilen odak hayvanlarda 7 ve 9 haftalık yaşlarda doğrudan gözlem yolu ile hayvan davranışları izlenmiştir. Deneysel ve ticari koşullarda metrelerce alanda en fazla 25 kg canlı ağırlık olacak şekilde (10 adet hayvan/m²) barındırma yoğunluğu sağlanmış, deneysel barındırma koşulları 1x1 m, ticari barındırma koşulları 6x30 m ölçülerinde düzenlenmiştir. Her iki grupta da en fazla gözlemlenen davranış oturma/yatma davranışı bulunmuş, oturma/yatma davranışının süresi yaşla birlikte artmıştır. Ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda yürüme davranışının toplam içindeki payı deneysel koşullarda büyütülenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Hayvan davranışları üzerine barınak, ekipman, bakım ve yetiştirme yöntemlerinin etkisinin inceleneceği çalışmaların ticari koşullardaki gibi daha büyük gruplar üzerinde planlanmasının faydalı olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Etlik piliç, hayvan davranışı, yavaş gelişen

Effects of Age on Behavioral-based Welfare Indicators of Slow Growing Broiler Raised in Experimental and Commercial Conditions

Abstract

This study was carried out to investigate the effects of age on behavioral-based animal welfare parameters in slow growing broiler reared under experimental and commercial production conditions. The state and event behaviors of 2000 slow growing broiler reared under commercial conditions and 30 slow growing broiler chickens reared under experimental conditions were measured with direct observations by randomly selected focal animals at 7 and 9 weeks of age. In experimental and commercial conditions, a maximum of 25 kg live weight (10 animals/m²) stocking density was provided in one square meter area. The experimental and commercial housing conditions were arranged as 1x1 m, and 6x30 m in size, respectively. The length of sitting/lying behavior increased with age in both groups, and proportion of walking behavior in animals reared under commercial conditions was found to be higher than those reared under experimental conditions. It has been concluded that it would be beneficial to plan studies on the effects of house arrangements, equipment, care and management on animal behavior, on larger groups as in commercial conditions.

Key Words: Animal behavior, broiler, slow growing

GİRİŞ

Etlik piliçler üzerinde planlanan deneysel çalışmalar genel popülasyonu temsil edecek şekilde çok daha küçük gruplarda gerçekleştirilmektedir. Denemede kullanılacak hayvan sayısı istatistiksel programlar, hayvan refahı ve deneysel çalışmalarda 4R yaklaşımı, proje amacı vb. konular dikkate alınarak karar verilmekte (1), büyüme performansı ile ilgili çalışmalar genelde tek cinsiyette planlanmakta ve çoğunlukla denemelerde erkek hayvanlar kullanılmaktadır (2,3). Araştırmalarda; hayvan refahı, ticari koşullar, barındırma yoğunluğu vb. dikkate alınarak benzer koşullar oluşturulsa da deneysel çalışmalarda hayvanların hareket alanları genelde kısıtlanmaktadır. Benzer ba-

rındırma yoğunluğu sağlanmış olsa da ticari koşullarda hayvanlar daha geniş bir alanda hareket serbestisine sahiptir. Ticari koşullarda aynı birim içinde daha fazla hayvan bulunmaktadır. Hayvan sayısına bağlı olarak ticari ve deneysel koşullardaki çevresel koşullarda da farklılıklar olabilmektedir.

Son yıllarda piliç eti üretiminde özellikle alternatif üretim sistemlerinde yavaş gelişen genotiplerin kullanımı giderek yaygınlaşmakta, alternatif sistemlere ya da tüketici tercihlerine uygun yeni yavaş gelişen etlik piliçler kullanıma sunulmaktadır (4). Etlik piliçlerde hayvan refahı; genelde topallık, ölüm oranı, ayak tabanı, diz eklemi, göğüs etinde oluşan lezyon ve dermatitis düzeyi gibi hayvan sağlığı ile ilgili hayvana ait hayvan refahı belirteçlerine ya da tonik immobilite testi gibi korku düzeyine

göre değerlendirilmektedir (5,6). Son zamanlarda ise hayvan refahını değerlendirmede mutluluk skoru, hareket skoru, oyun skoru, eşelenme gibi pozitif ya da olumlu hayvan refahı belirteci olarak tanımlanan hayvan davranışlarına göre değerlendirme ön plana çıkmaktadır (7,8).

Etlik piliçlerde hayvan davranışları üzerine çevresel düzenlemelerin önemli bir etkisi bulunmakta, günlük yaştaki civcivlerde en fazla yatma, yem arama ve su içme davranışı gözlemlenirken, erken yaş döneminde koşma, yürüme gibi hareketlilik ön plana çıkmaktadır (9). İleri yaşla birlikte etlik piliçlerde hareketlilik azalmakta, yatma ve dinlenme gibi davranışlar daha çok gözlemlenmektedir (10,11). Hızlı gelişen piliçlerde yatma davranışının artmasında özellikle yaşla birlikte canlı ağırlığın artması, hareketsizlik ve ayak problemleri gibi faktörlerin etkisi ön plandadır (12). İleri yaştaki etlik piliçlerin genelde daha hareketsiz ve daha çok yatma eğiliminde oldukları bilinse de, ticari koşullarda yaşla birlikte etlik piliç davranışlarında görülen değişim konusunda detaylı çalışmalar oldukça yetersizdir. Bu çalışma, ticari ve deneysel koşullarda barındırılan yavaş gelişen etlik piliçlerde hayvan refahını etkileyen davranışsal parametreler üzerine yaşın etkisini incelemek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Araştırma ve Uygulama Merkezi Tavuk Yetiştirme Ünitesi Araştırma kümesinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma 6x33 m ölçülerindeki ticari koşullara uygun deneme ünitesi ve üç adet 1x1 m ölçülerindeki deneysel koşullara uygun araştırma ünitelerinde gerçekleştirilmiştir. Ticari koşullarda 2000 adet, deneysel koşullarda ise her bölmede 10 adet olmak üzere toplamda 30 adet ticari yavaş gelişen (*Hubbard JA 57*) etlik piliçin yer aldığı sürülerden seçilen odak hayvanlarda davranışlar izlenmiştir. Deneysel ve ticari koşullarda metrekaşe alanda en fazla 25 kg canlı ağırlık olacak şekilde (10 adet hayvan/m²) barındırma yoğunluğu sağlanmıştır.

Hayvan Bakımı, Hayvan Besleme ve Yönetim

Çalışmada aynı damızlık sürüden elde edilen yumurtalardan aynı kuluçkahanede elde edilen günlük yaştaki civcivler kullanılmış ve deneme gruplarına homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Gruplarda barındırma yoğunluğu dışında aydınlatma programı ve diğer yönetimsel uygulamalar “*etçi tavukların korunması ile ilgili asgari standartlara ilişkin yönetmeliğe*” göre düzenlenmiştir (13). Gruplarda yer alan hayvanlara göz hizasında en az 20 lux yoğunluğunda ışık alacak şekilde büyütme döneminin ilk 7 gün ve kesim öncesi son üç gün 24 saat sürekli aydınlatma uygulanmış, diğer günlerde ise gün içinde 4 saati kesintisiz 6 saat karanlık:18 saat aydınlık programı uygulanmıştır. Deneme gruplarında yer alan hayvanlar deneme süresince ticari bir yem fabrikasından temin edilen etlik piliç yemleri ile önlerinde sürekli yem olacak şekilde beslenmişlerdir. Gruplarda yer alan hayvanlara deneme başından 10 günlük yaşa kadar etlik piliç başlangıç, 11-35. günler etlik piliç büyütme, 35. günden itibaren kesime kadar kesim öncesi yem verilmiştir. Deneme gruplarında yuvarlak askılı suluklar ve kovalı yemlikler kullanılmıştır.

Veri Toplama

Hayvan davranışları hayvanların buldukları ortamda doğrudan gözlem yolu ile izlenmiş ve kayıt altına alınmıştır. Bunun için deneysel koşullarda yetiştirilen gruplarda; her grupta iki hayvan olmak üzere toplamda 6 hayvanın davranışı, ticari yetiştirilen grupta ise toplamda 6 hayvanın davranışı izlenerek kayıt altına alınmıştır. Hayvan davranışları 7 ve 9 haftalık yaşta, işaretleme yapılmadan, rastgele seçilen odak hayvan üzerinde doğrudan gözlem yolu ile ölçülmüştür. Hayvan davranışlarını izleyecek araştırmacılar bu konuda eğitilmiş ve ön çalışmalar yapıldıktan sonra deneme verileri toplanmıştır. Araştırmacı, deneme bölmelerine 1 m mesafe kalacak şekilde sessizce yaklaşmış, 2 dakika hayvanların alışması için beklendikten sonra; rastgele seçilen her bir odak hayvan 5 dakika olmak üzere, toplamda 3 grupta 6 adet hayvanın davranışı 30 dakika süre ile izlenmiştir. Ticari koşullarda yer alan grupta ise rastgele seçilen her bir odak hayvan yine 1 m mesafeden; 2 dakika alışma döneminden sonra 5 dakika süre ile *sürekli odaklanarak örnekleme yöntemi* ile (*continual focal sampling*) izlenmiştir (14). Hayvan davranışları süreli/anlık durum (*state or duration*) ve sayısal/tekrarlı (*event or frequency*) olarak iki grupta sınıflandırılmıştır (15,16). Belirli bir sürede anlık ya da belirli bir sürede anlık tekrarlı olarak yapılan oturma/yatma, ayakta durma, yürüme, yem yeme, su içme, altlık gagalama ve eşelenme davranışları ile kavga etme davranışı *süreli*, ayak gerdirmeye, tüy düzenleme, tüy çekme, etraftaki nesnelere gagalama davranışları *sayısal/tekrarlı* davranış olarak değerlendirilmiştir (17).

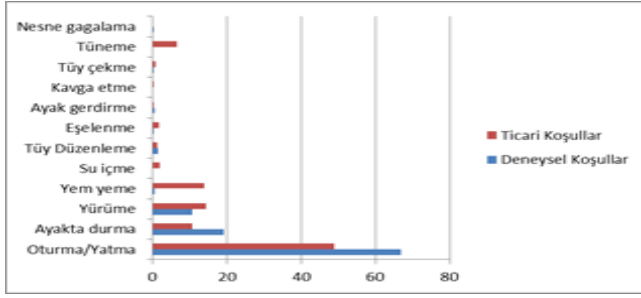
İstatistiksel Analiz

İncelenen özelliklerde gruplar arası karşılaştırmalar SPSS® bilgisayar programında (18) ANOVA testi ile yapılmıştır (2 üretim yönü x 2 yaş grubu: 4 grup), (19). Kullanılan genel doğrusal model formülü; $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + a \times b + e_{ijk}$,

Burada a; üretim yönü, b; yaş; a×b; etkileşim; i: 1, 2 (1: ticari koşullar, 2: deneysel koşullar), j = 1, 2 (1: 7 haftalık yaş, 2: 9 haftalık yaş). μ sabit sayı, e; tesadüfi hata için kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm SEM ve yüzde olarak ifade edilmiştir.

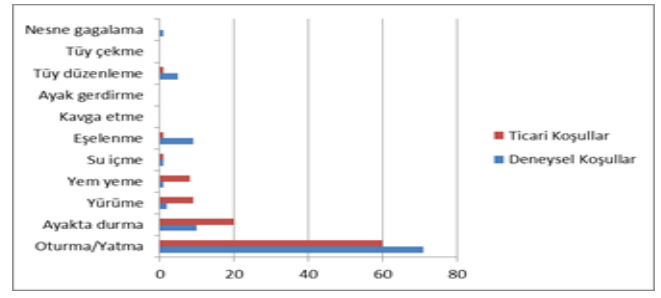
BULGULAR

Bu çalışmada 7 ve 9 haftalık yaşlarda gruplarda gözlemlenen farklı hayvan davranışları Grafik 1 ve Grafik 2’de gösterilmiştir. Çalışmada deneysel koşullarda yetiştirilen hayvanlarda 7 haftalık yaşta en fazla yatma, ayakta durma ve yürüme davranışı gözlemlenirken, bu grupta toplamda gözlemlenen davranış sayısı ticari koşullarda yetiştirilenlere göre daha düşük bulunmuştur. Ticari koşullarda yetiştirilen hayvanlarda yürüme davranışı belirgin derecede diğer davranışlara göre daha yüksek bulunmuştur. Deneysel koşullarda yetiştirilen hayvanlarda 9 haftalık yaşta en fazla oturma/yatma davranışı gözlemlenirken, bu gruptaki hayvanlarda 7 haftalık yaşa göre daha fazla sayıda davranış gözlemlenmiştir.

Grafik 1. Gruplarda 7 haftalık yaşta gözlemlenen hayvan davranışlarının yüzde dağılımı

Deneysel koşullarda yetiştirilen hayvanlarda bu yaşta oturma/yatma davranışından sonra en fazla ayakta durma, eşelenme, tüy düzenleme, yem yeme ve yürüme davranışı gözlemlenmiştir. Deneysel ve ticari koşullarda yetiştirilen hayvanlarda her iki yaş döneminde de su içme davranışının toplam içindeki payı en düşük bulunmuştur.

Bu çalışmada 7 ve 9 haftalık yaşlarda her iki grupta gözlemlenen süreli ve anlık/tekrarlı davranışların uzunluğu/süresine ait ortalamalar Tablo 1 ve Tablo 2' de gösterilmiştir.

Grafik 2. Gruplarda 9 haftalık yaşta gözlemlenen hayvan davranışlarının yüzde dağılımı

Her iki yaşta da bütün gruplarda en uzun süreli davranış oturma/yatma davranışı bulunmuştur. Toplamda 300 saniyelik izleme süresinde ticari ve deneysel koşullarda yetiştirilen etlik piliçlerde; oturma davranışı 7 haftalık yaşta sırası ile; 146.67 ve 200.50 saniye, 9 haftalık yaşta sırası ile; 178.83 ve 212.33 saniye bulunmuştur. Üretim koşullarının yem yeme davranışı üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.033$).

Tablo 1. Gruplarda gözlemlenen süreli (state) davranışlara ait ortalama değerler (sn)

Grup	Oturma	Ayakta durma	Yürüme	Yem Yeme	Su içme	Eşelenme	Kavga etme
Üretim koşulları							
Deneysel	206.4±29	44.3±14	19.0±11	2.08±10	0.75±2.3	12.4±8.7	0
Ticari	162.8±28	45.8±15	36.4±10	35.2±11	4.41±2.4	0	0
Yaş							
7 hafta	173.6±28	44.8±14	37.5±10	21.8±90	2.75±2.4	0	0
9 hafta	195.6±29	45.4±15	17.9±11	15.6±10	2.41±2.3	12.4±8.7	0.33±0.17
Üretim Koşulları x Yaş							
Deneysel x 7	200.5±41	57.3±20	31.8±15	1.83±14	0	0	0
Deneysel x 9	212.3±40	31.3±21	6.20±14	2.33±13	1.50±3.3	24.8±12	0
Ticari x 7	146.7±40	32.2±21	43.2±15	41.7±14	5.50±3.2	0	0.33±0.16
Ticari x 9	178.8±39	59.5±20	29.7±14	28.8±15	3.33±3.1	0	0.33±0.17
ANOVA							
Üretim Koşulları	0.292	0.944	0.269	0.033	0.280	0.329	0.329
Yaş	0.591	0.975	0.215	0.674	0.921	0.329	0.329
Üretim Koş. x Yaş	0.804	0.218	0.695	0.649	0.585	0.329	0.329

ATOL: <https://www.atol-ontology.com/en/atol-2>; Ferreira ve ark. (16)

Tüy düzenleme davranışının toplam içindeki süresi 9 haftalık yaşta deneysel grupta belirgin düzeyde daha yüksek

gözlemlenmiş ve yaşla birlikte bu davranışın toplam içindeki süresi artmıştır.

Tablo 2. Gruplarda gözlemlenen anlık/tekrarlı (event) davranışlara ait ortalama değerler (sn)

Grup	Ayak gerdirme	Tüy düzenleme	Tüy çekme	Nesneleri gagalama
Üretim koşulları				
Deneysel	1.25±0.65	9.00±3.2	2.25±1.6	2.92±1.85
Ticari	0.75±0.64	3.25±3.1	2.83±1.5	2.67±1.94
Yaş				
7 hafta	1.25±0.64	3.83±3.2	3.25±1.5	3.33±1.85
9 hafta	0.75±0.65	8.42±3.2	1.83±1.6	2.25±1.84
Üretim Koşulları x Yaş				
Deneysel x 7	1.83±0.90	4.00±4.4	1.50±2.25	2.00±2.61
Deneysel x 9	0.67±0.91	14.00±4.5	3.00±2.21	3.83±2.60
Ticari x 7	0.67±0.91	3.66±4.3	5.00±2.20	4.66±2.61
Ticari x 9	0.83±0.90	2.83±4.4	0.66±2.20	0.67±2.59
ANOVA				
Üretim Koşulları	0.591	0.215	0.801	0.925
Yaş	0.591	0.320	0.541	0.683
Üretim Koş. x Yaş	0.474	0.242	0.215	0.278

ATOL: <https://www.atol-ontology.com/en/atol-2>; Ferreira ve ark. (16)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Piliç eti üretiminde artan canlı ağırlık ile birlikte yükseliş gösteren ölüm oranı ve ayak problemleri gibi hayvan sağlığı ve refahı ile ilgili nedenler organik üretim gibi kesim yaşı daha uzun olan alternatif yetiştirme sistemlerinde hızlı gelişen genotiplerin kullanımını sınırlandırmaktadır. Hayvan refahı problemleri yanında artan tüketici talebi yavaş gelişen etlik piliçlerin sadece alternatif sistemlerde değil geleneksel piliç eti üretiminde de kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Bu çalışma deneysel ve ticari koşullarda büyütülen yavaş gelişen etlik piliçlerde hayvan davranışları üzerine yaşın etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Deneysel ve ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda toplam gözlemlenen davranışlar içinde en büyük payın oturma/yatma davranışına ait olduğu belirlenmiştir. Oturma/yatma davranışının toplam içindeki payı artan yaş ve canlı ağırlık ile birlikte her iki grupta da yükselmiştir. Oturma, yatma, dinlenme ya da uyuma hayvan refahı açısından oldukça önemli göstergelerdir (20). Ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda her iki yaş döneminde de yem yeme davranışının süresi deneysel koşullara göre daha uzun bulunmuştur. Jacobs ve ark. (21) hızlı gelişen x yavaş gelişen, etlik piliçlere sıklıkla taze kullanılmamış altlık sağlanması durumunda su içme, yürüme ve tüy düzeltme davranışlarının geliştiğini bildirmişlerdir. Trocino ve ark. (22) farklı yemleme programı uygulanan, hızlı gelişen, etlik piliçlerde en fazla gözlemlenen davranışın oturma/yatma davranışı olduğunu (%64 ve %67), yem yeme davranışının toplam içindeki payının %7.51 ve 8.17, ayakta durma davranışının ise %9.84 ve 11.7 olduğunu bildirmişlerdir. Deneysel ve ticari koşullarda yetiştirilen hayvanlarda her iki yaş döneminde de su içme davranışının toplam içindeki payı en düşük bulunmuştur. Bu çalışmanın ocak-mart aylarında yapılmış olması her iki gruptaki hayvanlarda su içme davranışının toplam içindeki payının en düşük olmasının başlıca nedenidir. Birim metrekare alanda barındırma yoğunluğu hayvan refahı ile ilgili en önemli konulardan birisi olup (13,23), aynı barındırma yoğunluğu ölçüsünün deneysel ve ticari koşullardaki etkisi yavaş ve hızlı gelişen piliçlerde farklı olabilmektedir (24). Yavaş gelişen etlik piliçlerde normal ve korku davranışlarının hızlı gelişenlere göre farklı olduğu bilinmektedir (5,6,25). Ancak deneysel koşullarda yapılan çalışmalar genelde etrafı sınırlı daha dar alanlarda yapılmaktadır ve bu hayvanların yürüme, koşma gibi uzun bir alanda hareket edebileceği davranışları sınırlandırmaktadır. Bununla uyumlu olarak bu çalışmada ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda her iki yaş grubunda da yürüme davranışının toplam içindeki payı deneysel koşullarda büyütülenlere göre daha yüksek bulunmuştur (Grafik 1 ve Grafik 2). Baxter ve ark. (26) yavaş ve hızlı gelişen etlik piliçleri ticari koşullarda hayvan refahı ve davranışları yönünden karşılaştırmışlar; yavaş gelişen etlik piliçlerin daha aktif olduklarını ve hayvanların pozitif yöndeki doğal davranışlarını göstermeye daha yatkın olduklarını bildirmişlerdir. Dawson ve ark. (25) yavaş ya da hızlı gelişen etlik piliçlerde özellikle aktivite/hareket yetersizliğini geliştirmek için motive edici davranışları artırmak, tünek gibi hayvanların dikkatini çeken, hareket kabiliyetini geliştiren nesnelerin kümese yerleştirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Düşük barındırma yoğunluğunun hayvan davranışları üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalış-

mada Van der Eijk ve ark. (24) hızlı gelişenlere göre yavaş gelişen etlik piliçlerde yürüme davranışının daha uzun süreli olduğunu bildirmişlerdir. İleri yaş ve ağırlıkta hızlı gelişen genotiplerde hemen hiç gözlenmeyen ya da çok az gözlemlenen yürüme davranışı giderek azalan bir oranda da olsa hem deneysel hem de ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda gözlemlenmiştir. Hızlı gelişen piliçlere göre yavaş gelişen etlik piliçlerde hareketlilik ve aktivite açısından bireysel varyasyonun daha fazla olduğunu ve hızlı gelişenlerin daha bir örnek hareket ettiği de dikkate alınmalıdır (27). Bu çalışmada gruplarda tünek olmasa da ticari koşullarda büyütülen hayvanların yemlik hattı üzerine tünedikleri ve tünek sağlanması durumunda bu davranışa yatkın oldukları gözlemlenmiştir. Etlik piliçlerde ayakları gerdirmeye, tüyleri düzeltme, kuyruk oynatma, kanatları yana doğru açma davranışları konfor davranışı olarak tanımlanmakta (28) ve genelde pozitif hayvan refahı belirteci olarak kabul edilmektedir (7,16). Tekrarlı davranışlar olarak tanımlanan (*event behaviour*) bu davranışların toplam içindeki payı oldukça düşüktür ve bunlar içinde en büyük pay hem ticari hem deneysel gruplarda her iki haftada da tüy düzeltme (*preening*) davranışında bulunmuştur.

Sonuç olarak; deneysel ve ticari koşulların uygulandığı grupların her ikisinde de en fazla gözlemlenen davranış oturma/yatma davranışı bulunmuş, oturma/yatma davranışının süresi yaşla birlikte artmıştır. Ticari koşullarda büyütülen hayvanlarda yürüme davranışının toplam içindeki payı deneysel koşullarda büyütülenlere göre daha yüksek olarak gözlemlenmiştir. Genel popülasyonu temsil edecek şekilde deneysel çalışmaların daha küçük gruplarda planlanması hayvan refahı, deneysel çalışmalarda 4R yaklaşımı gibi konular dikkate alındığında doğru bir yaklaşımdır. İstatistiki açıdan anlamlı sonuç verecek şekilde deneysel çalışmalar mümkün olduğunca az sayıda hayvan ile planlanmalı, hatta hayvan kullanmadan yapılabiliyorsa bu şekilde gerçekleştirilmelidir. Etlik piliçlerde yetiştirme, barınak içi düzenlemeler, ekipmanlar vb. üzerine hayvan davranışlarını ölçmeye dönük çalışmaların ticari koşullardaki gibi daha büyük gruplar üzerinde planlanmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı ile Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Araştırma ve Uygulama Merkezi Tavuk Yetiştirme Ünitesi çalışanlarına teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Tüfek H, Özkan Ö. (2018). 4R Rule in Laboratory Animal Science. *Commagene J Biol.* 2:55-60.
2. Miller LR, Cheryl Marks, Jill BB, et al. (2017). Considering Sex as a Biological Variable in Preclinical Research. *Faseb J.* 31:29-34.
3. Mincheva N. (2020). Production Performance and Slaughter Traits of an Autosexing Broiler Combination Reared Either Sex Separate or Mix. *Trakia J Sci.* 1:12-19.
4. Louton H, Keppler C, Erhard M, et al. (2019). Animal-based Welfare Indicators of 4 Slow-growing Broiler Genotypes for the

- Approval in an Animal Welfare Label Program. *Poult Sci.* 98:2326-2337.
5. Çavuşoğlu E, Petek M. (2019). Effects of Different Floor Materials on the Welfare and Behaviour of Slow and Fast-Growing Broilers. *Arch Anim Breed.* 62:335-344.
 6. Abdourhamane IM, Petek M. (2022). Health-Based Welfare Indicators and Fear Reaction of Slower Growing Broiler Compared to Faster Growing Broiler Housed in Free Range and Conventional Deep Litter Housing Systems. *J Appl Anim Welf Sci.* 20:1-12.
 7. Rayner AC, Newberry RC, Vas J, et al. (2020). Slow Growing Broilers are Healthier and Express More Behavioural Indicators of Positive Welfare. *Sci Rep.* 10:15151.
 8. EU Cost Action LIFT. (2022). Lifting Farm Animal Lives-Laying the Foundations for Positive Animal Welfare (LIFT), CA 21124.
 9. Çavdarıcı H, Sarıca M, Erensoy K, et al. (2022). The Effects of Partially Slatted Floor Designs on Some Early Behavioral Traits in Broiler Chicks. *Black Sea J Agric.* 5: 306-310.
 10. Lourenço da Silva MI, Almeida Paz ICdL, Chaves GHC, et al. (2021). Behaviour and Animal Welfare Indicators of Broiler Chickens Housed in an Enriched Environment. *PLOS ONE* 16:e0256963.
 11. Rasmussen SN, Erasmus M, Riber AB. (2022). The Relationships between Age, Fear Responses, and Walking Ability of Broiler Chickens. *Applied Anim Behav Sci.* 254:
 12. Van der Sluis M, Asher L, Rodenburg TB, et al. (2022). Early Locomotor Activity in Broilers and the Relationship with Body Weight Gain. *Poult Sci.* 101.
 13. Resmi Gazete (2018). Etçi Tavukların Korunması ile ilgili Asgari Standartlara İlişkin Yönetmelik. 20 Ocak 2018, 30307.
 14. Lehner PN. (1992). Sampling Methods in Behavior Resesarch. *Poult Sci.* 71: 643-649.
 15. Zhao ZG, Li JH, Bao J. (2014). Effects of Housing Systems on Behaviour, Performance and Welfare of Fast-growing Broilers. *Asian-Australas J Anim Sci.* 27:140-6
 16. Ferreira VHB, Simoni A, Germain K, et al. (2022). Foraging Behavior Shows Individual-Consistency Over Time, and Predicts Range Use in Slow-Growing Free-Range Male Broiler Chickens. *Front Vet Sci.* 9:814054.
 17. Abeyesinghe SM, Chancellor NM, Hernandez Moore D, et al. (2021). Associations between Behaviour and Health Outcomes in Conventional and Slow-growing Breeds of Broiler Chicken. *Animals.* 15:100261.
 18. SPSS Inc.(2009). PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
 19. Snedecor GW, Cochran WG. (1989). *Statistical Methods.* Eighth Edition, Iowa State University Press Ames, IA, USA, 196–268.
 20. Forslind S, Hernandez CE, Riber AB, et al. (2022). Resting Behavior of Broilers Reared with or without Artificial Brooders. *Front Vet Sci.* 9:908196.
 21. Jacobs L, Melick S, Freeman N, et al. (2021). Broiler Chicken Behavior and Activity Are Affected by Novel Flooring Treatments. *Animals (Basel).* 29:2841.
 22. Trocino A, White P, Bordignon F, et al. (2020). Effect of Feed Restriction on the Behaviour and Welfare of Broiler Chickens. *Animals.* 10:830.
 23. Carter E, Hubrecht R. (2018). Updated Code of Practice for the Welfare of Meat Chickens and Meat Breeding Chickens in England. *Anim Welf.* 27:181-1852018.
 24. Van der Eijk JAJ, Gunnink H, Melis S, et al. (2022). Reducing stocking Density Benefits Behaviour of Fast- and Slower-Growing Broilers. *Appl Anim Behav Sci.* 257.
 25. Dawson LC, Widowski TM, Liu Z, et al. (2021). In Pursuit of a Better Broiler: A Comparison of the Inactivity, Behavior, and Enrichment Use of Fast- and Slower Growing Broiler Chickens. *Poult Sci.* 100:1014.
 26. Baxter M, Richmond A, Lavery U, et al. (2021). A comparison of Fast Growing Broiler Chickens with a Slower-Growing Breed Type Reared on Higher Welfare Commercial Farms. *Plos One* 16:e0259333.
 27. Gebhardt-Henrich SG, Stratmann A, Dawkins MS. (2021). Groups and Individuals: Optical Flow Patterns of Broiler Chicken Flocks Are Correlated with the Behavior of Individual Birds. *Animals.* 11:568.
 28. Spinka M, Newberry RC, Bekoff M. (2001). Mammalian Play: Training for the Unexpected. *The Quarterly Rev Biol.* 76:141-168.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Metin PETEK

Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootečni

Anabilim Dalı, Bursa, TÜRKİYE

E-posta: petek@uludag.edu.tr



Bir Kedide Vertebral Osteosarkom: Manyetik Rezonans Görüntüleme ve Operatif Sağaltımı

Ömer BEŞALTI^{1,a,✉}, İlayda PAZARBAŞILAR^{2,b}

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-7819-9094; ^bORCID: 0000-0002-4131-8440

Geliş Tarihi/Received
22.02.2023

Kabul Tarihi/Accepted
31.03.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Bu rapor, bir kedide vertebral osteosarkoma'nın klinik, manyetik rezonans görüntüleme, cerrahi ve histopatolojik sonuçlarını bildirmektedir. Üç ay önce başlayan progresif seyirli tetrapleji şikayeti olan 6 yaşlı-dişi-melez kedi konu edildi. Nörolojik muayene sonucunda, lezyonun C6-T2 vertebraları arasında olabileceği düşünüldü. Bunun üzerine yapılan radyografik incelemede; C6-C7 vertebraları arasında radyolüsen bir alana rastlandı. Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG), C7'nin lamina ve processus spinosusunu kapsayan ekstradural yerleşimli kitle teşhis edildi. Cerrahi müdahale ile uzaklaştırılan kitlenin histolojik incelemesinde osteosarkom tanısı kondu. Operasyon sonrası süreçte adjuvan tedavi amacıyla; 21 gün arayla toplam 5 doz Karboplatin uygulandı. Hasta 18 ay yaşadı. Vertebral osteosarkomların tedavisinde temiz cerrahi alan ve adjuvan tedavi önerilir bulundu.

Anhtar Kelimeler: Kedi, osteosarkom, vertebral tümör

A Cat with Vertebral Osteosarcoma: Magnetic Resonance Imaging and Surgical Treatment

Abstract

The aim of this study is to report clinical, Magnetic Resonance Imaging (MRI), surgical and histopathologic findings of vertebral osteosarcoma in a cat. 6-year-old mix cat was presented to the clinic with a symptom of progressive tetraplegia for 3 months. According to the neurologic examination, it was thought that the lesion could be between C6-T2 vertebrae. With respect to the neurologic examination, radiographic findings showed a radioluscent area between C6-C7 vertebrae. In addition, MRI findings defined an extramedullary mass included lamina and processus spinosus of C7. Surgery was performed and tumor was extirpated. According to the histopathologic examination, the tumor was confirmed as osteosarcoma. Chemotherapy protocol was applied to the patient 5 times between 21 days interval. The cat survived for 18 months. Combination of surgical intervention and adjuvant therapy is suggested for the treatment protocol for vertebral osteosarcoma.

Key Words: Cat, Osteosarcoma, vertebral tumour

GİRİŞ

Osteosarkom (OS), iskeletin herhangi bir bölümünü etkileyebilen agresif ve kötü huylu bir kemik tümördür. OS, kedilerde yaklaşık %70-%80 oranında görülen en yaygın kemik tümörü olarak bilinir (1). Pelvis ve ekstremitelerde olduğu gibi, omurgada da görülebilir. Ancak omurgadaki OS olgularının görülme oranı, ekstremitelerdekine oranla çok daha azdır (2,3). Ortalama 8-10 yaş arasındaki kedilerde daha çok görüldüğü bildirilmiştir (3).

Vertebral OS'lerin tanısı için radyografi, Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) kullanılır. Özellikle kemikte oluşan lezyonlarda BT tercih edilirken, epidural bölgenin incelenmesi ya da spinal kord'un detaylı görüntülenebilmesi için MRG'den faydalanılır (4).

OS'nin tedavisinde radikal cerrahi girişim önemli bir yere sahiptir. Ancak tümörün gros total rezeksiyonunun yapılamadığı durumlarda elektif cerrahi önerilmektedir (5). Kesin tanı, tümör ekstirpasyonundan sonra yapılan histopato-

lojik inceleme ile belirlenir ve daha sonrasında tümörün metastaz oranını düşürebilmek ve hastanın yaşam süresini uzatabilmek için kemoterapi ya da radyoterapi gibi adjuvan tedavilerden yararlanır (6).

Bu çalışmanın amacı, bir kedide vertebral osteosarkoma'nın klinik, manyetik rezonans görüntüleme, cerrahi ve histopatolojik sonuçlarını bildirmektedir.

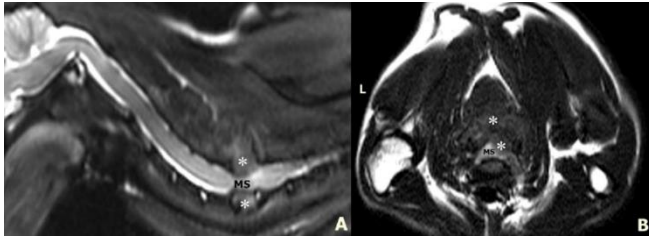
VAKA TAKDİMİ

Altı yaşlı dişi melez kedi, 3 ay önce başlayan progresif tetrapleji şikayetiyle Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalına getirildi. Nörolojik muayenede, ön ekstremitelerde fleksor refleksin gecikmeli, derin ağrı duyumu pozitif olduğu belirlendi. Ayrıca hastada şiddetli servikalji saptandı. Yapılan tam kan sayımı ve serum biyokimyasal analizlerde spesifik bir değişikliğe rastlanmadı. Yapılan radyografik muayenede C6-C7 hizasında özellikle C7'nin processus spinosus ve korpusunu kapsayan radyolüsen bir lezyon izlendi (Şekil 1).

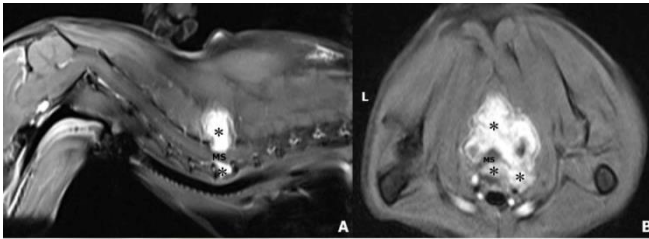


Şekil 1. Lateral pozisyonda servikal röntgen görüntüsü. C7’de kemik yıkımlanması ve düzensiz kemik üremeleri (oklar).

MRG incelemesinde, C7’nin prosessus spinozusunu, lamina sağ pedikül ve korpus vertebrayı kapsayan extradural yerleşimli, T2 ağırlıklı manyetik rezonans görüntülerde hafif hiperintens, T1 ağırlıklı post-contrast görüntülerde homojen ve oldukça iyi kontrast alan kitle tespit edildi (Şekil 2-3). Tedavi için operasyona karar verildi.



Şekil 2. Olgunun T2 ağırlıklı sagittal (A) ve transversal (B) manyetik rezonans görüntüleri. (C7’de hiperintens kitle (*), MS; Medulla spinalis)

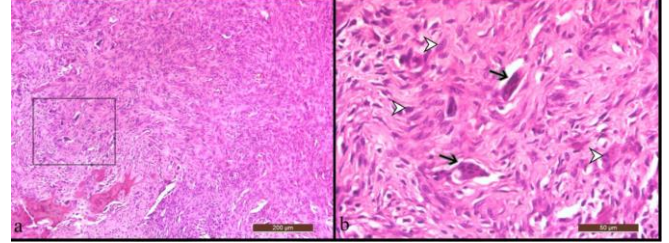


Şekil 3. Olgunun T1 ağırlıklı post-contrast sagittal (A) ve transversal (B) manyetik rezonans görüntüleri. (C7’de homojen ve iyi kontrast alan kitle (*), MS; Medulla spinalis)

Operasyon için kedi sternal pozisyonda yatırıldı, C6-T2 vertebralar üzerinde medial hatta deri ensizyonunu takiben, paraspinal kaslar diseke edilerek kitleye ulaşıldı. C7’nin prosessus spinozus, lamina ve sağ tarafın prosessus artikularis’ini kapsayan tümör, ekstrepe edildi. Korpus vertebra tümöral doku içermesine rağmen instabilite riski nedeniyle uzaklaştırılmadı. Kaslar ve deri rutin yöntemlerle kapatıldı. Postoperatif dönemde analjezik olarak 3 gün süreyle meloksikam (0,1 mg/kg/günde 2 kez) ve 15 gün süreyle gabapentin (10mg/kg/günde 2 kez); antibiyotik olarak amoksisilin+klavulanat (20 mg/kg/günde 2 kez) kullanıldı.

Histopatolojik inceleme için rutin doku takibinin ardından parafine bloklanan dokular Hematoxilen-Eosin (HE) ile

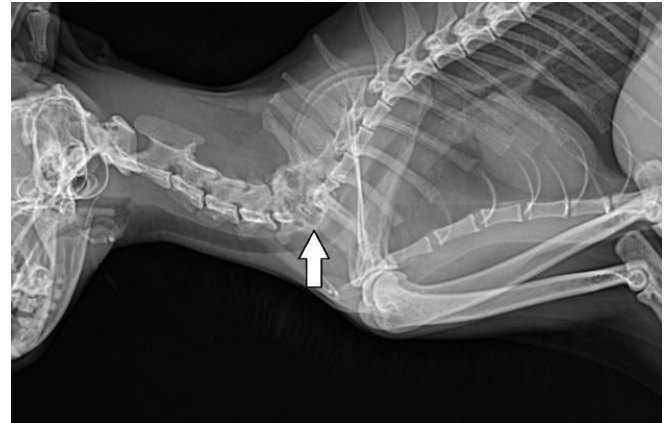
boyandı. Makroskopik olarak, kitleler sert kıvamda, kaba granüller halinde ve irili-ufaklı görüldü. Mikroskopik olarak, kemik trabeküllerinin etrafında çok sayıda oval ve/veya iğsi şekilli, çoğunlukla hiperkromatik çekirdekli atipik osteoblastik hücreler ile bu hücrelere eşlik eden çok sayıda dev hücreleri dikkati çekti. İzlenen bulgular osteosarkom ile uyumlu bulundu. (Şekil 4).



Şekil 4. A: Kemik trabeküllerinin etrafında neoplazik hücrelerin genel görünümü, H×E. B: Atipik tümör hücreleri (ok başları) ve çok çekirdekli dev hücreleri (oklar), H×E.

Operasyondan 20 gün sonra adjuvan terapi amaçlı, kemoterapiye başlandı. Bunun için intravenöz olarak 150mg/m² dozda karboplatin kullanıldı. Her kemoterapi öncesinde hastanın hemogram ve serum biyokimya değerleri kontrol edildi. Kemoterapi protokolü 21 günde bir olmak üzere toplam 5 kez uygulandı.

Ancak hastanın, post-operatif 15. ayında ataksi ve inkoordinasyon görülmeye başlandı. Bunun üzerine yapılan radyografik muayenede, T1’de de kemik dokuda yıkımlanma ve düzensiz kemik oluşumu gözlemlendi (Şekil 5) ve OS’nin nüks ettiği anlaşıldı ve hasta post-operatif 18. ayda öldü.



Şekil 5. Hastanın post-operatif 15. Ayda çekilen laterolateral radyografik görüntüsü. T1’deki kemik yıkımlanması ve düzensiz kemik üremeleri (beyaz ok).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Primer kemik tümörlerinin kedilerde görülme oranı düşük olsa da OS hem apendiküler hem de aksiyel iskeleti etkileyen en yaygın tümör tipidir. Her ne kadar 8-10 yaşları arasında olan kedilerde daha çok görüldüğü bildirilmiş olmakla birlikte, genç kedilerde de görülme ihtimali vardır (3). OS’lu kedilerde yaşın, hastalığın prognozunu ne derecede etkilediğine dair bir veri yoktur (5).

Kedilerde görülen apendiküler OS’nin, köpeklere oranla metastazik oranının daha düşük olduğu ve amputasyonun çoğu zaman yeterli bir tedavi yöntemi olduğu saptanmıştır (8). Ancak aksiyel OS’larda tümörün tam rezeksiyonu,

apendiküler OS'ye göre daha zordur. Bunun sebebi, tümörün yerleştiği yerde meydana gelebilecek lokal invazyonların oluşturduğu potansiyel risktir (1). Bu sebeple aksiyal OS'ye sahip kedilerin post-operatif yaşam süreleri daha kısadır. Yapılan çalışmalarda, vertebral OS'u olan hastaların ortalama 6 ay yaşadığı bildirilmiştir (8,9). Dolayısıyla bu çalışmada, 18 aylık sağ kalım süresi başarı olarak görülmüştür.

Total tümör rezeksiyonu yapılamamasına rağmen rezeksiyon sırasında elektrokoagülasyon ile titiz bir şekilde yapılan hemostazın, hastanın yaşam süresini uzatmada çok önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, hastanın post-operatif 10. günde nörolojik bulgularının normale dönmeyişinin nöral dokudaki düşük cerrahi morbidite ve dekompresyonla ilişkili olduğu tahmin edilmektedir. Çalışma olgusunda tümörün total rezeksiyonu amacıyla spondilektomi gerçekleştirilmedi. Kedilerde omurganın operasyonla uzaklaştırılması sonucunda rekonstrüksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi ile başarı şansının artacağı düşünülmektedir.

Günümüzde, post-operatif dönemde kullanılabilen kemoterapi ya da radyoterapi gibi adjuvan tedavi protokolleleriyle ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda radyoterapi ve kemoterapi kombine olarak kullanılmış olsa da, günümüzde OS için belirlenmiş net bir adjuvan tedavi planı yoktur. Kemoterapötik ajan olarak doksorubisin (5), ve karboplatin kullanıldığı (10) görülmektedir. Dolayısıyla, yapılan bu çalışmada kitle total rezeksiyona bile yapılabilecek cerrahi ile birlikte kullanılan Karboplatin'in hastanın yaşam süresini ve kalitesini arttırdığı belirlenmiştir.

Vertebrayı içeren tümörlerin tanısında direkt radyografi yararlı olabilmekle birlikte, tümörün yerleştiği yer, büyüklüğü ve yaygınlığı hakkında daha güvenilir bilgi vermesi açısından MRG daha uygun bir ileri tanı yöntemidir. Tümör tipinin belirlenmesi ve vertebral tümörlerin tedavisi için cerrahi girişim gereklidir ve total tümör eskirtirasyonu önerilir. Ancak total rezeksiyonun yapılamadığı durumlarda kitle küçültmeye yönelik cerrahi girişimler de tercih edilebilir. Elde edilen doku örneklerinin histopatolojik incelemesi tedavi protokolünü belirlemede elzemdir. Bunun sonucunda da kemoterapi ya da radyoterapi gibi uygun adjuvan tedavi metodu seçilir. Yapılan bu çalışmada, adjuvan tedavi yöntemi olarak belirlenen karboplatin uygulaması sonrasında hastanın kemoterapiyi iyi tolere ettiği izlendi. Sonuç olarak bu çalışma ile, OS tedavisinde, tümörün total alınmadığı durumlarda uygulanan kitle küçültme cerrahisi ve sonrasında uygulanan karboplatin protokolü önerilir bulundu.

TEŞEKKÜR

Histopatolojik incelemenin yapılmasını sağlayan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'ndan Dr. Öğretim Üyesi Gözde Yücel Tenekeci'ye ve Dr. Öğretim Üyesi Arda Selin Tunç'a teşekkürlerimizi sunarız.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Heldmann E, Anderson MA, Wagner-Mann C. (2000). Feline Osteosarcoma: 145 cases (1990–1995). *J Am Anim Hosp Assoc.* 36(6): 518–521.
2. Bitetto WV, Patnaik AK, Schrader SC, Mooney SC. (1987). Osteosarcoma in Cats: 22 cases (1974–1984). *J Am Vet Med Assoc.* 190(1): 91–93.
3. Dimopoulou M, Kirpensteijn J, Moens H, Kik M. (2008). Histologic Prognosticators in Feline Osteosarcoma: A Comparison with Phenotypically Similar Canine Osteosarcoma. *Vet Surg.* 37(5): 466–471
4. Okada M, Kitagawa M, Nagasawa A, Ito T, Kanayama K, Sakai T. (2009). Magnetic Resonance Imaging and Computed Tomography Findings of Vertebral Osteosarcoma in a Cat. *J Vet Med Sci.* 71(4): 513–517
5. Giuliano A, Busscher VD, Lu DDA, Ng KWL, Beatty JA. (2022). Successful Treatment of Vertebral Osteosarcoma in a Cat Using Marginal Surgical Excision and Chemotherapy. *Vet Sci.* 9(7): 315-323.
6. Dixon A, Chen A, Rossmeisl JH ve ark. (2019). Surgical Decompression, with or without Adjunctive Therapy, for Palliative Treatment of Primary Vertebral Osteosarcoma in Dogs. *Vet Comp Oncol.* 17(4): 472–478.
7. Nakano Y, Kagawa Y, Shimoyama Y ve ark. (2021). Outcome of Appendicular or Scapular Osteosarcoma Treated by Limb Amputation in Cats: 67 cases (1997-2018). *J Am Vet Med Assoc.* 260(S1):S24-S28
8. Liu SK, Dorfman HD, Patnaik AK. (1974). Primary and Secondary Bone Tumours in the Cat. *J Small Anim Pract.* 15(3): 141–156.
9. Nakata K, Miura H, Sakai H ve ark. (2017). Vertebral Replacement for the Treatment of Vertebral Osteosarcoma in a Cat. *J Vet Med Sci.* 79 (6): 999-1002.
10. Saam DE, Liptak JM, Stalker MJ, Chun R. (2011). Predictors of Outcome in Dogs Treated with Adjuvant Carboplatin for Appendicular Osteosarcoma: 65 cases (1996-2006). *J Am Vet Med Assoc.* 238(2): 195-206

✉ Sorumlu Yazar:

Ömer BEŞALTI

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Altındağ/Ankara

E-posta: besalti@hotmail.com



Köpeklerde Elektroensefalografi ve Elektrookülografi

Çağın ÇEVİK^{1,a,✉}, Ezgi KAYA^{2,b}, Bikem TURANOĞLU^{2,c}, Duygu TARHAN^{1,d}, Bengü BİLGİÇ^{2,e}, Alev Meltem ERCAN^{1,f}, Mehmet Erman OR^{2,g}

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0001-8509-8382; ^bORCID: 0000-0001-8948-2824; ^cORCID: 0000-0002-5529-972X; ^dORCID: 0000-0002-0878-5709

^eORCID: 0000-0002-6952-2937; ^fORCID: 0000-0002-4533-4907; ^gORCID: 0000-0002-8764-1956

Geliş Tarihi/Received
08.09.2022

Kabul Tarihi/Accepted
30.01.2023

Yayın Tarihi/Published
30.06.2023

Öz

Elektroensefalografi (EEG), fonksiyonel merkezi sinir sistemi bozukluklarının değerlendirilmesi için önemli bir muayene yöntemidir. Bu makalenin amacı, EEG'nin köpeklerde kullanımını gözden geçirmek ve tekniklerinin açıklanarak veteriner hekimlik uygulamalarının pratikleştirilmesini sağlamaktır. Ayrıca, elektrookülografi (EOG) verileri ile birlikte EEG modeli ilişkisi üzerinde durulmaktadır. Son zamanlarda gelişmekte olan köpek bilişi ve uyku araştırmaları alanlarına yönelik farklı bakış açısı kazandırılması da hedeflenmektedir. Makale içeriğinde değinilen teknikler halihazırda çeşitli birçok köpekte uygulanmıştır. Değinilen yöntemler, küçük hayvan tıbbının en zor alanlarından biri olan sinir hastalıklarının ve beyin fonksiyonel aktivitesinin araştırılmasında önemli role sahiptirler. Bu teknikler fizyoloji, biyofizik ve bilgisayar bilimleri gibi alanların da gelişimiyle her geçen gün daha fazla bilgi verir hale gelecektir.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik sinyaller, elektroensefalografi, elektrookülografi, köpek

Electroencephalography and Electrooculography in Dogs

Abstract

Electroencephalography (EEG) is an important examination method for the evaluation of functional central nervous system disorders. The purpose of this article is to review the use of EEG in dogs, explain the techniques and provide practical application in veterinary medicine. In addition, the relationships on the EEG model with the electrooculography (EOG) data are emphasized. It is also aimed to gain a different perspective on the fields of canine cognition and sleep research that have been developing recently. Applications of the techniques described in the article have already been made in a variety of dogs. The mentioned methods have an important role in the investigation of nerve diseases and functional activity of the brain which are among the most difficult areas of small animal medicine. These techniques will become more and more informative with the development of fields such as physiology, biophysics and computer science.

Key Words: Biological signals, dog, electroencephalography, electrooculography

1. GİRİŞ

Sinir sistemi bozukluklarının tanısında yararlı bir inceleme yöntemi olup genel olarak basit bir prensibe sahip olan Elektroensefalografi (EEG), kortikal nöronların elektriksel aktivitesini yansıtmaktadır. Bilgisayar ortamında kayıt ile birlikte çizdirilen sinyaller, diğer bir deyişle traseler ise elektroensefalogram olarak adlandırılmaktadır. EEG, farklı kafatası tiplerine sahip hayvanlarda bile aynı beyin bölgelerine farklı zamanlarda kayıt yapılmasına olanak sağlar, böylece aynı anatomik bölgenin elektriksel aktivitesi aynı hayvanda veya farklı hayvanlar arasında art arda yapılan kayıtlarda karşılaştırılabilir. Farklı boy ve cinsteki hayvanlar üzerinde araştırma ve klinik amaçlar için uygulanmakta olan EEG, köpeğin beyin elektriksel aktivitesi hakkında güvenilir ve faydalı bilgiler sağlayabilmektedir (1, 2).

Elektrookülografi (EOG) ise kornea ve retina arasında var olan hiperpolarizasyon ve depolarizasyonlardan kaynaklanan potansiyelin kaydedilmesi aracılığıyla göz hareketini algılamak için kullanılan bir yöntemdir. İşlem sırasında ortaya çıkan sinyale elektrookülogram denir. EOG değeri, yaklaşık 0.1 -100 Hz'lik bir frekans aralığı ile 50 ila 3500 mikrovolt arasında değişir (3). EOG sinyali, her bir göz hareketi derecesi için yaklaşık 20 mikrovolt değişir. EEG ve EOG gibi sistemler tarafından kaydedilen aslında beyin ve göz gibi kayıt alınan bölgeden üretilmeyen sinyallere "artefaktlar" denilir. Dolayısıyla bu sinyal, göz küresi dönüşü ve hareketi, göz kapağı hareketi, EEG ve elektromiyografi (EMG) gibi farklı artefakt kaynakları, elektrot yerleşimi, kafa hareketleri, aydınlatmanın etkisi gibi bir dizi faktörün sonucudur (3, 4).

EEG yöntemi, kafa üzerinden elektrotlar aracılığıyla beyin yüzey tabakasının makroskopik elektriksel aktivitesinin analiz edilmesine olanak tanır. EEG günümüzde beyin fonksiyonlarını belirlemede oldukça etkili bir muayene yöntemidir. Çeşitli sinir sistemi rahatsızlıkları için rutin bir klinik tanı aracı olarak EEG, özel bir öneme sahiptir. İntrakranial lezyonların tanısında klinik, laboratuvar, radyolojik muayenelerin sonuçlarını destekleyici ve prognozu tayin edici olarak önemi büyüktür (5).

Köpek beynini incelemek için EEG'ye dayanan çalışmalar şimdiye kadar genellikle epilepsi, dikkat, uyanıklık veya uyku düzeylerini işaret eden salınımlar gibi büyük ölçekli sinirsel işlev bozukluklarına odaklanmıştır (1, 6).

EEG yöntemi ile ilişkili olarak beynin elektriksel aktivitesinin kayıt işlemi, kalbin elektriksel aktivitesinin kaydı olan elektrokardiyogram (EKG) ile karşılaştırılabilir. Ancak beyin aktivitesinin voltajı kalbinden çok daha küçük olduğundan, EEG'ler için kayıt cihazı buna uygun olarak daha hassas olmalıdır. EEG elektriksel enterferansa ve diğer artefaktlara karşı çok hassas yapıdadır. EEG'lerin hem kaydedilmesi hem de yorumlanması için önemli ölçüde beceri, deneyim ve sağduyu gereklidir. Aksi halde, örneğin, herhangi bir harici elektronik cihazın açılıp kapanması kafa travması ile karıştırılabilecek bir artefakt üretebilir (7).

Köpeklerde EEG uzun yıllardır kullanılmasına ve çeşitli deneysel çalışmalara rağmen araştırmalarda ve veteriner klinik nörolojisinde kullanımı şimdiye kadar az ilgi görmüştür. Teknik olarak zorluklar ve kayıt tekniği (elektrot sayısı, terminoloji ve konum) için evrensel bir standart olmaması EEG'nin veterinerlik alanında yaygınlaşmasını engellemiştir. Yapılan bazı önerilere rağmen şimdiye kadar, insanlarda kullanılan Uluslararası Federasyonun 10-20 sisteminde olduğu gibi, araştırma ve klinik uygulamada kullanılabilecek evrensel olarak kabul edilmiş normal kayıt düzeni yoktur (1).

EEG, spontan kortikal elektrik fonksiyonu kaydeder. Kortikal aktivite için yeterli olan frekansın (0.5-90 Hz) ve genliğinin (1-500 mikrovolt) aktivitesine odaklanılır. Kayıt esas olarak kortikal nöronların sinaptik aktivitesi, glial hücre yüzeyindeki aksiyon potansiyellerindeki değişiklikler ve yoğun olarak kortikal nöronal katmanlardan oluşan geniş nöron popülasyonları tarafından üretilen özet elektriksel aktiviteler olmak üzere üç kaynaktan gelir. Korteksin elektriksel aktivitesi kaydedilirken, hastanın kas, kardiyovasküler ve oküler aktivitesi dahil olmak üzere diğer herhangi bir elektrik aktivitesine de son derece duyarlılık mevcuttur. Bu nedenle yöntem, hastanın iş birliği ve sabrı açısından çok talepkardır. Bu durum, hayvan değerlendirmesinde kullanımı ile ilgili zorluklara neden olmaktadır. Düzenli aralıklarda gözlenen potansiyel değişiklikler serisi ritim olarak nitelendirilmektedir. Elde edilen sinyalin özgün yapısal modeli ise patern olarak belirtilmektedir (8, 14).

EEG, nöbet aktivitesinin tespiti dahil olmak üzere merkezi sinir sistemi (CNS) üzerindeki olumsuz ilaç etkilerini değerlendirmek için hem klinik olmayan çalışmalarda hem de klinik çalışmalarda uygulanabilir. Kasların istemsiz kasılmaları olarak tanımlanan konvülsiyonlar tipik olarak klinik gözlemlenilebilir. Eğer tanımlanabilirse de anormal beyin elektrofizyolojik aktivitesine bağlı olan nöbet durumunun doğrulanması, EEG'nin gözden geçirilmesini gerektirir (23).

Hasta köpeklerde EEG'nin kullanımı, interiktal epileptiform deşarjlar gibi kortikal fonksiyonel bozuklukların kesin olarak saptanmasını ve köpeklerde nöbetlerin olası beyin cerrahisi tedavisi için tam kortikal (veya subkortikal) haritalamasını içerir (8).

EEG'ler, nöbetlerin epilepsiden mi yoksa histerik bir miyaçtan mı kaynaklı olduğuna yönelik bir gösterge verir. İlgili durumda spesifik olarak anti-epileptik ilaçlarla mı tedavi yoluna gidilmesi gerektiği yoksa sakinleştiricilerin mi daha faydalı olabileceğine yönelik çıkarım yapılmasına olanak tanır. Aynı zamanda tümörlerde prognoz açısından ciddi destekleyiciliğinin yanı sıra bazen zamanla düzelen ensefaliteye dair kanıtlar da sağlayabilirler (9).

Bu teknik ayrıca, tedavi yaklaşımını önemli ölçüde etkileyebilecek epileptik olmayan ve epileptik bozuklukların (kafa titremeleri, keneler, çeşitli anormal davranış bozuklukları veya istemsiz hareketlerin nöbetlerden farklılaşması) ayırt edilmesini sağlayabilir (8). EEG aktivitesindeki değişikliklerin, anesteziyle ilgili beyin anestezi konsantrasyonlarındaki değişiklikler ile ilişkisi de çeşitli çalışmalarca ortaya konulmuştur (13). Uluslararası Veteriner Epilepsi Görev Gücü (IVETF) tarafından köpeklerde idiyopatik epilepsi tanısında en yüksek güven düzeyi için EEG gerekliliği belirtilmiştir (10).

Nöral disfonksiyonlarda, dikkat, uyanıklık seviyelerini işaret eden salınımlara odaklanılmasının yanında, ayrıntı düzeyini iyileştirmek ve ekstra bilgi elde etmek için çeşitli EEG geçici olayları da dikkate alınmaktadır. EEG kullanılarak kafa derisi yüzeyinde ölçülebilir olan hızlı göz hareketi (REM) uyku karakteristiği ve uyku içcikleri gibi EEG geçici olayları (memelilerin REM dışı uykusu sırasında gözlemlenen, en az 0.5 saniye uzunluğunda beyin aktivitesinin kısa epizodları) güncel araştırmaların önde gelen konularındandır (12).

Ayrıca, uyku mimarisi ve EEG paternleri köpeklerde ve insanlarda çok benzerdir. Son yıllarda köpekler, insanlarla aynı ekolojik ortama uyum sağladıkları için mükemmel insan davranışı modelleri olduklarını kanıtlamışlardır. Bu nedenlerden dolayı köpek EEG araştırmalarının, hipnotiklerin, anti-depresanların ve uyanmayı teşvik eden maddelerin insanlar üzerindeki etkisini değerlendirmede tahmin edici değere sahip olduğu bilinmektedir (5, 6).

Köpek polisomnografi yöntemi, uyku araştırma modellerinde çok önemlidir. Çeşitli beyin bölgelerinde ve frekanslarda farklı analiz metodlarıyla, uyanıklık ve uyku evreleri durumunda (uyuşukluk, yavaş dalga, REM uykusu) EEG ve EOG teknikleri aracılığıyla elde edilen nöral osilasyon ve göz hareketlerine ait verilerin çalışılması ile dikkate değer sonuçlar elde edilmektedir (11).

Uykuyu incelemek için en kapsamlı yöntem olan polisomnografide EEG paralelinde EOG kullanılarak; EOG sinyali aracılığıyla REM uykusu sırasındaki hızlı göz hareketlerinin tespiti ve hızlı göz hareketi yoğunluğu hesaplanmaktadır. Bu yöntem insanlarda da temel bilimsel soruları yanıtlamak için kendi kendine algılanan uyku kalitesinin nesnel belirteçlerinin yanında, uyku bozukluklarını teşhis etmek amacıyla klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (22).

EOG yöntemi aracılığıyla göz hareketlerinin kaydı ve oftalmolojik tanı gerçekleştirilir. Yöntemde elektrot çiftleri gözün sağ ve soluna, ya da gözün üstüne ve altına olacak şekilde

yerleştirilir. Göz merkez konumunda iken iki elektrottan birine hareket etmesi durumunda, hareketin yönlendiği elektrot retinanın pozitif tarafını algılayarak diğeri negatif tarafını algılar ve bu elektrotlar arasında potansiyel fark oluşur. Dinlenim potansiyelinin sabit olduğu varsayılarak, kaydedilen potansiyel gözün konumunun bir ölçüsü olarak nitelendirilir (24).

Uzun süredir insan uykusuyla bağlantılı olarak çalışılan hızlı göz hareketi yoğunluğu (REMD), uykuyu karakterize etmek için sıklıkla kullanılan bir değişkendir. REMD, EEG'den elde edilen diğer indeks sayılarından daha kolay hesaplanabilir ve artefaktlara karşı daha az duyarlıdır. Dolayısıyla REMD, REM uykusunun toplam uzunluğu hakkında bilgi sağlar (22).

Yukarıda değinilen yöntemler, beyin fonksiyonları ve hastalıklarının tanısı, ilaçların merkezi sinir sistemine etkileri, anestetik maddelerin beyne etkileri, görme, işitme gibi duyarların beyin tarafından algılanıp algılanmadığının belirlenmesi gibi çeşitli birçok konuda uygulama alanı bulan elektro-fizyolojik analizlerdir (5).

Bu makale aracılığıyla, diyagnostik olarak oldukça etkili ancak veteriner pratikte yaygın olarak kullanım alanına sahip olmayan EEG ve EOG'nin teknik, tanısal ve pratik uygulanmasına ait bilgi verilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca EEG ve EOG tekniklerinin birlikte uygulanmasıyla diyagnostik açıdan elde edilebilecek yararlı çıkarımların aktarılması sağlanmıştır. Makale içeriği konu ile ilgili çeşitli orijinal görsel ve yazılar ile desteklenmiştir.

2. UYGULAMA AYRINTILARI

2.1. Ekipman

Subdermal iğne elektrotlar, EMG sinyallerini kaydetmenin en basit ve güvenilir yolunu sunmasının yanında, bu elektrotlarla EEG ve EOG tekniklerinde de güvenilir şekilde potansiyel değişiklikler kaydedilebilir. Çalışmalarda aktif, referans ve toprak elektrotlar için 15 mm uzunluğunda paslanmaz çelik iğneler (subdermal elektrotlar) kullanılmaktadır. İğne elektrotlar gerekli sterilizasyon işlemlerinin ardından tekrar kullanılabilir (25).

Köpeklerde gerçekleştirdiğimiz EEG ve EOG işleminde, beşerî sistemlerde kullanılmakta olan 1-3 mm çapındaki yüzey disk elektrotların kullanımı halinde, deri üzerindeki kıl yoğunluğu ve köpeğin kayıt sırasında gerçekleştirmesi muhtemel hareketleri nedeniyle kaliteli bir kayıt alınması zorlaşmaktadır. Bu sebeple direkt kortikal kayıt için minimal invaziv etkiye sahip deri altı iğne elektrotlar tercih edilmektedir. Deri altı iğne elektrotlar, kolay ve hızlı uygulanabilirlikleri, minimum artefakta sebep olacak şekilde kısıtlı elektrot hareketi sağlamaları sebebiyle veteriner hekimlikte en sık kullanılan elektrotlardır (15).

EEG cihazları genel olarak elektrotlar haricinde amplifikatörler, filtreler ve bir analogdan dijitale dönüştürücü içerir. Kablosuz veya taşınabilir EEG makineleri dahili batarya içerirken, kablolu EEG makineleri doğrudan bir bilgisayara kablo ile bağlanır. Şekil 1'de, EEG işlemimize ait ekipman düzeni görülmektedir.



Şekil 1. EEG Cihazı, Bilgisayar ve Elektrotların Düzeni (Orijinal Görsel)

Doğru ölçümler yapmak için EEG elektrotlarından gelen sinyaller, amplifikatör sistemine geçirilerek uygun olarak ölçülebilecek bir düzeye büyütülür. Uygun büyüklüğe getirilen analog yapıdaki sinyaller, dijital sinyallere dönüşümün gerçekleştiği elektronik bileşenlere aktarılır. Amplifiye sonrası dijitalize edilen sinyaller bilgisayar, mobil cihaz veya bulut veri tabanı aracılığıyla kaydedilebilir ve görüntülenebilir (26).

2.2. Hayvanın Hazır Hale Getirilmesi

EEG işleminin mümkün olduğunca gürültü, yoğun ışık, koku gibi uyarıcı etmenlerden arındırılmış sakin bir ortamda gerçekleştirilmesi gerekir. Köpeğin sedye üzerinde bulunması durumunda metal kısımlarına temas etmemesine özen gösterilmelidir. Hayvanın 12 saat öncesine kadar bir şey yememiş olması sedatif madde sebebiyle kusma gibi durumların önüne geçecektir (27).

Çeşitli sedatiflerden yararlanılarak hayvan üzerinde uygun şekilde zapturapt sağlanması mümkündür. Böylelikle uygulama sırasında hareketlerden kaynaklı artefaktların engellenmesi ve kaydın kaliteli şekilde alınması sağlanacaktır (16).

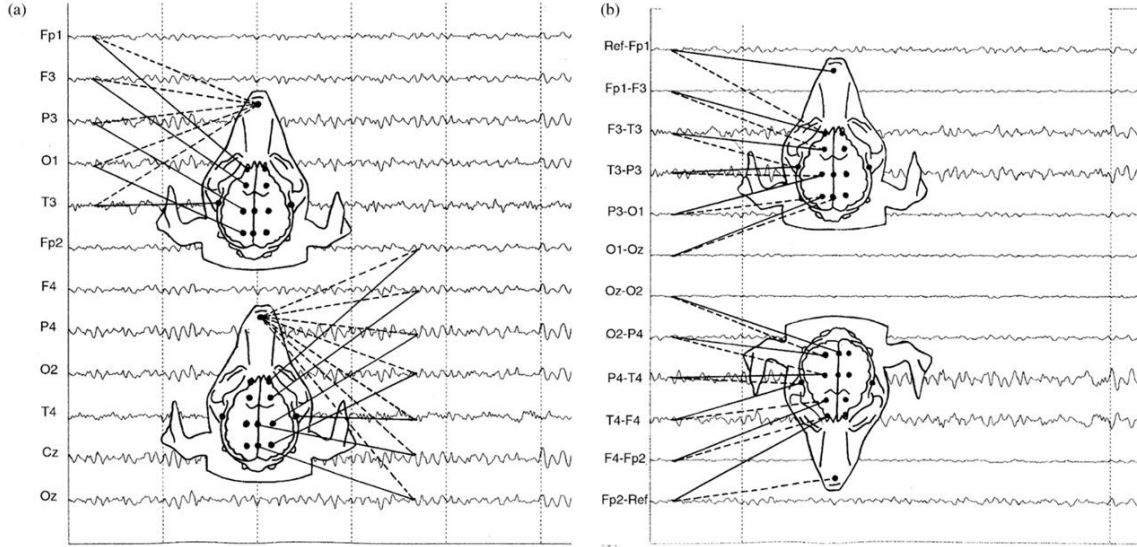
Veteriner hekimlikte yaygın olarak yatıştırıcı, analjezik ve kas gevşetici olarak tercih edilen Ksilazin hidroklorür'ün 0.5-1.5 mg/kg dozunda deri altı ya da kas içi yolla kullanılması uygundur. Bu sedatifin piramidal kortikal nöronlar üzerinde doğrudan etkisi olmadığı için EEG kaydının olumsuz yönde etkilenmesi beklenmez. Geçmiş çalışmalarda Ksilazin hidroklorür'ün yüksek doz kullanımında baskın olarak uyku dalgalarının saptanması, düşük dozun ise yeterli sakinleşmeyi sağlamaması nedeniyle optimum sakinleşmenin sağlanmasında 1 mg/kg dozunun kullanılmasının uygun olduğu belirtilmiştir (1). Alternatif olarak köpekler ve kediler için en yaygın kullanılan sakinleştiricilerden olan Acepromazine(0.1 mg/kg) ve Pethidine (5 mg/kg) kombinasyonu da belirtilen dozlarda damar içi yolla uygulanabilmektedir (17).

İşlem öncesinde elektrotların sabit duruşunda bozucu olabilme ve üzerinde sinyalleri etkileyebilecek metal bulundurulabilmesi ihtimaliyle tasmanın çıkarılması gibi önlemler yararlı olabilmektedir.

2.3. Montaj Yöntemleri

EEG kaydında kullanılan elektrot kombinasyonlarının düzeni montaj olarak isimlendirilir. Elektrotların her biri tarafından tespit edilen bireysel deşarjların yanında, bu elektrotların birbirleriyle ilişkilendirilmeleriyle de kafa derisinin tamamı

boyunca çok daha zengin bir veri seti ortaya çıkar. İki ana ekran montajı türü vardır: bipolar ve monopolar/referansiyel. Köpeklerde bu montaj düzenlerine ait referans yapıları Şekil 2'de belirtilmiştir (1, 14).



Şekil 2. Monopolar(a) ve Bipolar(b) Montaj Düzenleri. Fp: Prefrontal, F: Frontal, P: Parietal, O: Oksipital, T: Temporal (1)

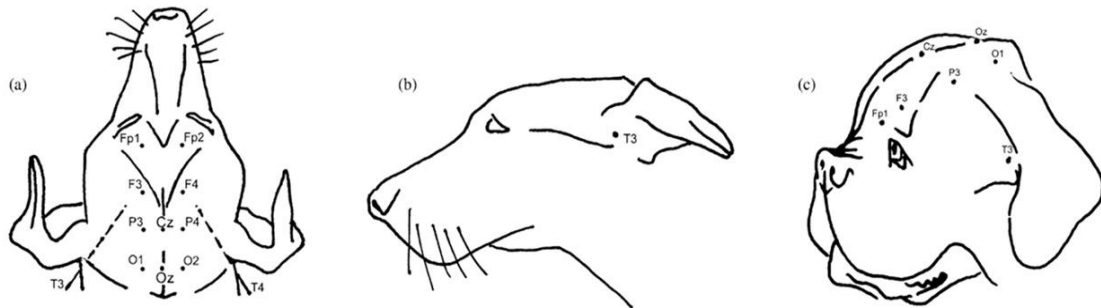
Monopolar, diğer bir deyiş ile referans montaj yöntemi, Şekil 2a'da görüldüğü üzere her bir elektrot ile genellikle tüm elektrotların ortalaması olan sabit tek bir referans elektrot arasındaki voltaj/potansiyel farklarının karşılaştırıldığı montaj türüdür. Tek kutuplu ölçümde çıkış sinyalleri, tümü sözde bir referansa karşı güçlendirilen birkaç giriş elektrotu tarafından oluşturulur. Ortak referans değeri olarak, tek bir elektrot veya çok sayıda elektroda ait hesaplanmış referans potansiyeli alınabilir. Şekil 2a'da köpeğin burnu üzerindeki kas aktivitesinin minimum olduğu alan diğer her bir elektrot için referans olarak alınmıştır (1, 14).

Bipolar montaj yöntemi, birbirine komşu kafatası elektrotları arasındaki potansiyel farklılıkların ölçüldüğü

elektrot zincirlerinden oluşan montaj türüdür. Bipolar ölçümde, bir çift elektrot arasındaki potansiyel fark bir amplifikatör kanalı tarafından yükseltilir. Bu montaj yöntemine ait elektrot düzeni Şekil 2b'de görülmektedir. Şekil 2b'deki çift kutuplu montaj uygulamasında her bir elektrot komşu bir elektrota bağlanarak elektrot zincirleri oluşturulmuştur (1, 14).

2.4. Kayıt Elektrotlarının Konumu ve Yerleştirilmesi

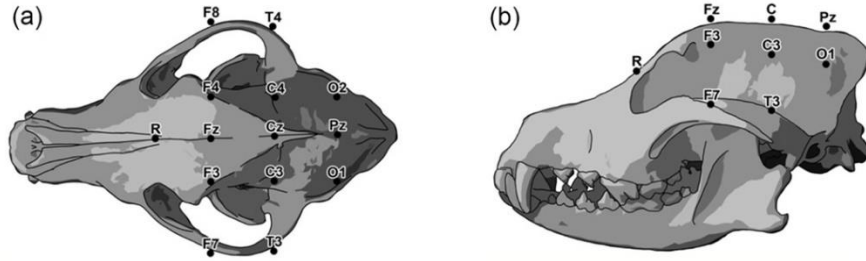
Gerekli sakinleşmenin hasta üzerinde sağlanmasıyla birlikte, elektrotların belirlenen montaj tekniğine göre yerleştirilebilmesi için hazırlığın tamamlanmasıyla bu aşamaya geçilir. Köpek kafatası üzerinde elektrotların noktasal yerleşimleri, ilgili kısaltmaları ile Şekil 3'te görülmektedir.



Şekil 3. Hata! Belgede belirtilen stilde metne rastlanmadı. EEG kayıt elektrotlarının yerleşimini gösteren bir mezosefalik köpek kafatasının dorsal (a) ve brakisefalik köpek kafatasının sol tarafının yan görünümü (b), (c) (1)

Her elektrot noktası öncelikle, beyinde buldukları alanların baş harfleri ile nitelendirilir. Bu kısaltmalar frontal için "F", temporal "T", parietal "P", oksipital "O" ve central için "C" olacak şekildedir. Ardından, sağ serebral hemisfer çift sayılar, sol serebral hemisfer ise tek sayılar olacak şekilde

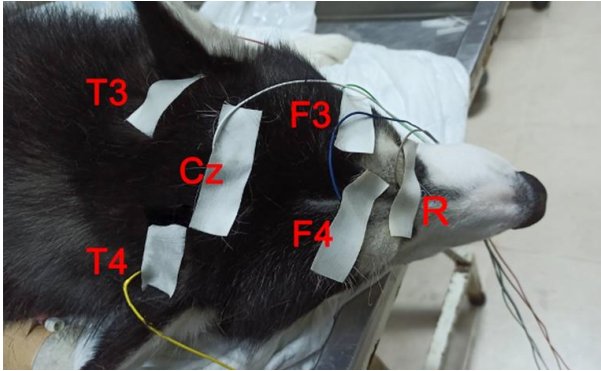
uluslararası sistemde kodlanmıştır. Referans noktalar genellikle "R" harfi veya "Ref" şeklinde belirtilmektedir. Şekil 4'te köpek kafatası üzerinde farklı elektrotlara ait yerleşim noktaları görülmektedir (21).



Şekil 4. Mezasefalik köpek kafası dorsal(a) ve sağ tarafı(b) (14)

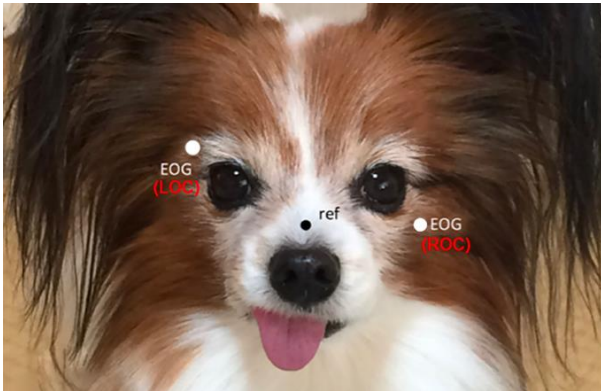
Elektrotların yerleştirilmesinden hemen önce köpeğin uzanmış rahat bir pozisyonda olduğundan ve sedasyon etkisine girdiğinden emin olunur. Uygulama öncesi elektrot uçları alkol aracılığıyla sterilize edilir.

Elektrotlar, incelenek beyin alanı üzerinde uzanacak şekilde küçük bir deri kıvrımından geçirilir. Elektrotların alttaki kasta değil sadece deriden geçmesi önemlidir; çünkü kas yaralanırsa beyninkinden çok daha büyük potansiyeller üretecek ve EEG maskelenecektir. Artifactsın engellenmesi amacıyla, Şekil 5'te görüldüğü üzere elektrotların yerleştirilmesi ile birlikte dışarıdan medikal flaster kullanılarak elektrotların sabitlenmesi sağlanır.



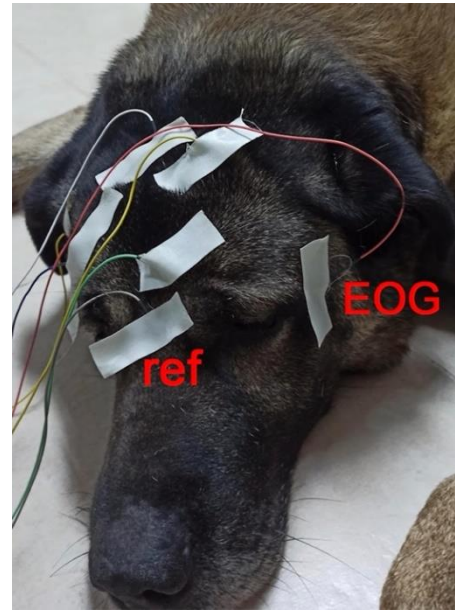
Şekil 5. F3, F4, Cz, T3, T4 Kanallarının Pratikte Uygulanması (Orijinal Görşel)

EOG elektrot yerleşimi Şekil 6'da ki düzende, solda ve sağda olmak üzere (LOC ve ROC), gözün yatay orta referansının 1 cm altında (LOC) ve 1 cm yukarısında (ROC) olacak şekilde gözün dış kantasındadır (10).



Şekil 6. EOG Yerleşim (10)

Şekil 7'de ki gibi EEG ve EOG kayıtları eş zamanlı gerçekleştirileceği zaman elektrotların yerleştirilmesi ile birlikte kanal montaj ayarlamaları bilgisayar üzerindeki kayıt arayüzünden, "montaj yöntemleri" konu başlığı doğrultusunda gerçekleştirilerek kayıt aşamasına geçilir.



Şekil 7. EEG ve EOG Uygulanması (Orijinal Görşel)

2.5. Kayıt İşlemi

EEG Cihazı her kayıttan önce kalibre edilir ve diğer değişkenlerin (EEG hassasiyeti, zaman sabiti, yüksek frekans filtresi, düşük frekans filtresi, elektrodların impedansı) kontrolleri yapılır. Kaydın süresi koşullara ve köpeğe göre değişir, vakaya yönelik ihtiyaç doğrultusunda gerekli sürelerde kayıt alınır.

Tüm kayıtlarda değişkenler için standart ayarların kullanılması tavsiye edilir. Böylece bir EEG kaydı diğeriyle karşılaştırılabilir ve artefaktlar gerçek anormalliklerden ayırt edilebilir. Bazı sinyaller aparatın kendisinden veya çevredeki diğer cihazlardan kaynaklanırken, diğerleri hayvandan kaynaklanmaktadır. Hayvandan kaynaklı bu sinyallere kulak hareketlerinden kaynaklanan kas potansiyelleri, normal göz hareketlerinden ve nistagmustan kaynaklanan potansiyeller örnek verilebilir (1). EEG kaydını alan kişinin, bir kayıta görülen yaygın artefaktlara ve normal bir kaydın görünümüne aşina olması esastır. Bu sayede, gerektiği durumda müdahale edilerek kayıt kalitesinin korunması sağlanır.

Uykunun evresine göre EEG paternleri de değişmektedir. Uykuya dalarken, alfa ritminin amplitüdü ve düzenliliği azalır. Dalgalar daha küçük ve daha az düzenlidir. Sıklıkla aralarında 1–5 saniyelik duraklamalar olur. Hafif uykuda alfa ritmi kaybolur ve 14–15 Hz'lik içcik burstleri ve sentral bölgelerde daha belirgin olarak yüksek voltajlı keskin dalga

formları (K-kompleksi) oluşur. Sonraki süreçte traseye, Şekil 11'de görülen uyku içcikleri, K kompleksleri ve vertex keskinlerinin hâkim olduğu gözlenir. Uyku derinleştiğinde bu aktivitelerin yerini öncelikli olarak yavaş ve amplitüdü yüksek dalgalar alır. Derin uykuda ise artık EEG trasesine delta dalgaları hâkimdir (14).



Şekil 11. Uyku içcikleri(a), Verteks keskinleri(b), K kompleksi(c) (15)

Uyuşukluk, hızlı EEG aktivitesi azalmış EOG aktivitesi ile karakterizedir. NREM uykusu (REM fazında değil iken), EEG kanalında delta aktivitesi, EOG kanalında göz hareketi olmaması ve azalmış kas tonusu ile karakterizedir (23, 19).

REM uykusunun özellikleri ise hızlı EEG aktivitesi, EOG kanalında hızlı göz hareketleri ve EMG kanalında aktivite olmamasıdır. Bu uyku evreleri, belirli bir sırayla Şekil 12'de ki sinyal karakteristiği yapısında döngüsel olarak birbirini takip eder (23).



Şekil 12. LOC-REF kanalları arasında ölçülen EOG potansiyelleri, uyuşukluk (a), NREM uykusu (b) ve REM uykusu (c) (13)

2.7. Çeşitli Modern Yöntemler

Günümüz EEG araştırmalarında, canlının morfolojik özelliklerindeki dikkate değer bireysel varyasyonun etkisini en aza indirmek için, EEG frekans güç spektrumları analiz edilir. Geniş bir frekans bandı aralığına sahip EEG sinyalinden, spesifik olarak tercih ettiğimiz frekans bantlarına ait güç spektrumlarını (yani delta 1-4Hz, teta 4-7Hz, vb ...) çıkarmak için geleneksel olarak Fourier dönüşümü gibi yöntemler kullanılır. Bunun için yararlanılabilecek çeşitli komut dosyaları, EEG analiz yazılımları, çeşitli betikler (script) vardır. Bu tarz çalışmalarla EEG spektrum değerlerinin kaslara bağlı olup olmadığını değerlendirmesi, kafatası kalınlığı gibi ayrıntılı etmenlerin analizleri de yapılabilmektedir (26, 31).

Günümüz çalışmaları hem bireysel köpeklerde hem de grup düzeyinde çalışmalarda, çeşitli uyaranlar (görme, işitsel vb..) kullanılarak beyin tepkilerinin ölçülmesinde Event Related Potential (ERP) yöntemlerinin uygulanabilirliğini doğrulamaktadır. Köpeklerde ERP uygulamaları ile daha ileri nörobilişsel çalışmaların önünün açılması beklenmektedir (18).

Sağ ve sol hemisferler farklı davranışsal ve bilişsel süreçlere müdahale ederse, beyinde fonksiyonel asimetri durumu oluşmaktadır. Bu durum insanların dışında böcekler, balıklar, amfibiler, kuşlar ve köpekler dahil olmak üzere çok çeşitli türde de bulunur (19). Köpeklerde hemisferlerdeki asimetri araştırmalarının sürdürülmesiyle değerli bilgiler elde edileceği aşikardır ve bu alanda analiz yöntemleri mevcuttur.

Sinirbilim ve bilgisayar bilimindeki ilerleme, insan beyinin çevre ile etkileşim kurma yeteneğini teşvik ederek, beyin-bilgisayar arayüzünü (BCI) disiplinler arası bir araştırma haline getirir. Ayrıca, makine öğrenimi (ML) ve derin öğrenme (DL) yöntemleri dahil olmak üzere yapay zekadaki (AI)

modern teknoloji ilerlemesiyle birlikte, biyolojik sinyal çalışmalarında yeni bir dönem başlamıştır (32).

Yapay zeka, yazılım algoritmaları, donanım gibi alanlarda yaşanan gelişmelerle birlikte, hastalık teşhisi, eş zamanlı yardım, biyolojik sinyal/bilgi işleme ve biyomedikal araştırma dahil olmak üzere biyotıpta EEG gibi teknolojiler daha verimli şekilde yer edinmektedir (32).

Epileptik nöbet oluşumlarının tahmini, beyin işlevlerinin tanımlanması uygulamaları ve daha birçok modern çalışmalar ile yapay zekanın biyotıptaki muazzam potansiyeli, ilgili alanlardaki araştırmacılara ilham vermektir. Yeni ilerlemeler ve atılımlarla yakın gelecekte hızlı gelişmeler öngörülmektedir (20).

Sonuç olarak; Veteriner Hekimlikte EEG kullanılarak ve gerektiği durumlarda EOG ile kombine uygulama sağlanarak beyin fonksiyonları ve hastalıklarının tanısı, ilaçların merkezi sinir sistemine etkileri, anestezi maddelerin beyne etkileri, görme, işitme ve benzeri duyarların beyin tarafından algılanıp algılanmadığının belirlenmesi gibi çeşitli birçok konuda başarılı elektrofizyolojik analizler gerçekleştirilebilir. Makale kapsamında, köpekler üzerinde genel bilgi ve uygulama ayrıntılarına değinilmiş olan EEG ve EOG yöntemleri, tanıl prosedürün iyileştirilmesi ile birlikte prognoz hakkında detaylı bilgi elde edilmesi adına önemlidir. Bu nedenle, EEG ve EOG yöntemlerinin rutin olarak diyagnostik sürecin önemli bir parçası olarak klinikte yer almasının oldukça önemli olduğu görüşündeyiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

KAYNAKLAR

- Pellegrino FC, Sica RE. (2004). Canine Electroencephalographic Recording Technique: Findings in Normal and Epileptic Dogs. *Clinical Neurophysiology*. 115(2): 477-487.
- Karpiński M, Kotyra S, Goleman M, Wojtaś J, Garbiec A, Krupa W, Zieliński D, Czyżowski P. (2022). EEG Readings in Dogs Depending on Their Living Condition And Training. Preliminary Study. *Journal of Veterinary Behavior*. 50(1): 53-9.
- Barea R, Boquete L, Mazo M, López E. (2002). System for Assisted Mobility Using Eye Movements Based on Electrooculography. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*. 10(4): 209-218.
- Schubert TA, Chidester RM, Chrisman CL. (2011) Clinical Characteristics, Management and Long-Term Outcome of Suspected Rapid Eye Movement Sleep Behaviour Disorder in 14 Dogs. *Journal of Small Animal Practice*. 52(2): 93-100.
- Ozer K, Ozer S, Devocioglu Y. (1998). Kedi ve Köpeklerde Elektroensefalografi, 6.Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi Fırat Üniversitesi, 25-28 Haziran, Elazığ-Türkiye.
- Parmentier R, Bricout D, Brousseau E, Giboulot T. (2006). Dog EEG for Wake-Promotion Studies. *Current Protocols in Pharmacology*, 34(1), 5-43.
- Singh YN, Singh SK, Ray AK. (2012). Bioelectrical Signals as Emerging Biometrics: Issues and Challenges. *International Scholarly Research Notices*.
- Wrzosek M. (2016). Electroencephalography as a Diagnostic Technique for Canine Neurological Diseases. *Journal of Veterinary Research*. 60(2): 181-187.
- Croft PG. (1962). The EEG as an Aid to Diagnosis of Nervous Diseases in The Dog and Cat. *Journal of Small Animal Practice*. 3(4): 205-213.
- Utsugi S, Saito M, Sato T, Kunimi M. (2020). Relationship Between Interictal Epileptiform Discharges Under Medetomidine Sedation and Clinical Seizures in Canine Idiopathic Epilepsy. *Veterinary Record*. 187(2): 67-67.
- Kis A, Szakadát S, Kovács E, Gácsi M, Simor P, Gombos F, Bódizs R. (2014). Development of a Non-invasive Polysomnography Technique for Dogs (*Canis familiaris*). *Physiology & Behavior*, 130: 149-156.
- Iotchev IB, Kis A, Bódizs R, van Luijtelar G, Kubinyi E. (2017). EEG Transients in The Sigma Range During non-REM Sleep Predict Learning in Dogs. *Scientific Reports*. 7(1): 1-11.
- Wauquier A, De Ryck M, Van den Broeck W, Van Loon J, Melis W, Janssen P. (1988). Relationships Between Quantitative EEG Measures and Pharmacodynamics of Alfentanil in Dogs. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 69(6): 550-560.
- Komsuoğlu SŞ, Selekler HM, Alemdar M. (2008). Olgu Sunumları ile Klinik EEG Atlası. 1. Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Steiss JE. (1988). A Survey of Current Techniques in Veterinary Electrodiagnostics: EEG, Spinal Evoked and Brainstem Auditory Evoked Potential Recording. *Veterinary Research Communications*. 12(4): 281-288.
- Risio LD, Platt S. (2014). Canine and Feline Epilepsy: Diagnosis and Management. *Canine and Feline Epilepsy: Diagnosis and Management*.
- Berendt M, Høgenhaven H, Flagstad A, Dam M. (1999). Electroencephalography in Dogs with Epilepsy: Similarities Between Human and Canine Findings. *Acta Neurologica Scandinavica*. 99(5): 276-283.
- Törnqvist H, Kujala, MV, Somppi S, Hänninen L, Pastell M, Krause CM, Vainio O. (2013). Visual Event-Related Potentials of Dogs: a Non-Invasive Electroencephalography Study. *Animal Cognition*. 16(6): 973-982.
- Reicher V, Kis A, Simor P, Bódizs R, Gácsi M. (2021). Interhemispheric Asymmetry During NREM Sleep in The Dog. *Scientific Reports*. 11(1): 1-10.
- Rong G, Mendez A, Assi EB, Zhao B, Sawan M. (2020). Artificial Intelligence in Healthcare: Review and Prediction Case Studies. *Engineering*. 6(3): 291-301.
- James FMK, Cortez MA, Monteith G, Jokinen TS, Sanders S, Wielaender F, Lohi H. (2017). Diagnostic Utility of Wireless Video-Electroencephalography in Unsedated Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 31(5): 1469-1476.
- Kovács E, Kosztolányi A, Kis A. (2018). Rapid Eye Movement Density During REM Sleep in Dogs (*Canis familiaris*). *Learning & Behavior*. 46(4): 554-560.
- Bassett L, Troncy E, Pouliot M, Paquette D, Ascah A, Authier S. (2014). Telemetry Video-Electroencephalography (EEG) in Rats, Dogs and Non-Human Primates: Methods in Follow-up Safety Pharmacology Seizure Liability Assessments. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 70(3): 230-240.
- Bulling A, Ward JA, Gellersen H, Tröster G. (2010). Eye Movement Analysis for Activity Recognition Using Electrooculography. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 33(4): 741-53.
- Steiss JE. (1988). A Survey of Current Techniques in Veterinary Electrodiagnostics: EEG, Spinal Evoked and Brainstem Auditory Evoked Potential Recording. *Veterinary Research Communications*. 12(4): 281-8.
- Chen YJ, Lin YS, Chiueh H. (2016). EEG Recording Frontend Circuitry For Epileptic Seizure Detection Headband. *IEEE Healthcare Innovation Point-Of-Care Technologies Conference* 42-45.
- Kennedy MJ, Smith LJ. (2015) A Comparison of Cardiopulmonary Function, Recovery Quality, And Total Dosages Required for Induction and Total Intravenous Anesthesia with Propofol Versus a Propofol-Ketamine Combination in Healthy Beagle Dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 42(4): 350-9.
- Michael JA, Wang M, Kaur M, Fitzgerald PB, Fitzgibbon BM, Hoy KE. (2021) EEG Correlates of Attentional Control in Anxiety Disorders: A Systematic Review of Error-Related Negativity and Correct-Response Negativity Findings. *Journal of Affective Disorders*. 291: 140-53.
- Pfurtscheller G, Da Silva FL. (1999) Event-related EEG/MEG Synchronization and Desynchronization: Basic Principles. *Clinical Neurophysiology*. 110(11): 1842-1857.
- Taylor SM. (2020) Seizures and other Paroxysmal Events. *Small Animal Internal Medicine*, 5th ed.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. 1093-1108.
- Polat K, Güneş S. (2007) Classification of Epileptiform EEG Using a Hybrid System Based on Decision Tree Classifier and Fast Fourier Transform. *Applied Mathematics and Computation*. 187(2): 1017-1026.
- Yu KH, Beam AL, Kohane IS. (2018) Artificial Intelligence in Healthcare. *Nature Biomedical Engineering*. 2(10): 719-731.

✉ Sorumlu Yazar:

Çağın ÇEVİK
 İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp
 Fakültesi, Temel Tıp Bilimler Bölümü, Biyofizik Anabilim
 Dalı, İstanbul, Türkiye
 E-posta: cagin.cevik@ogr.iuc.edu.tr