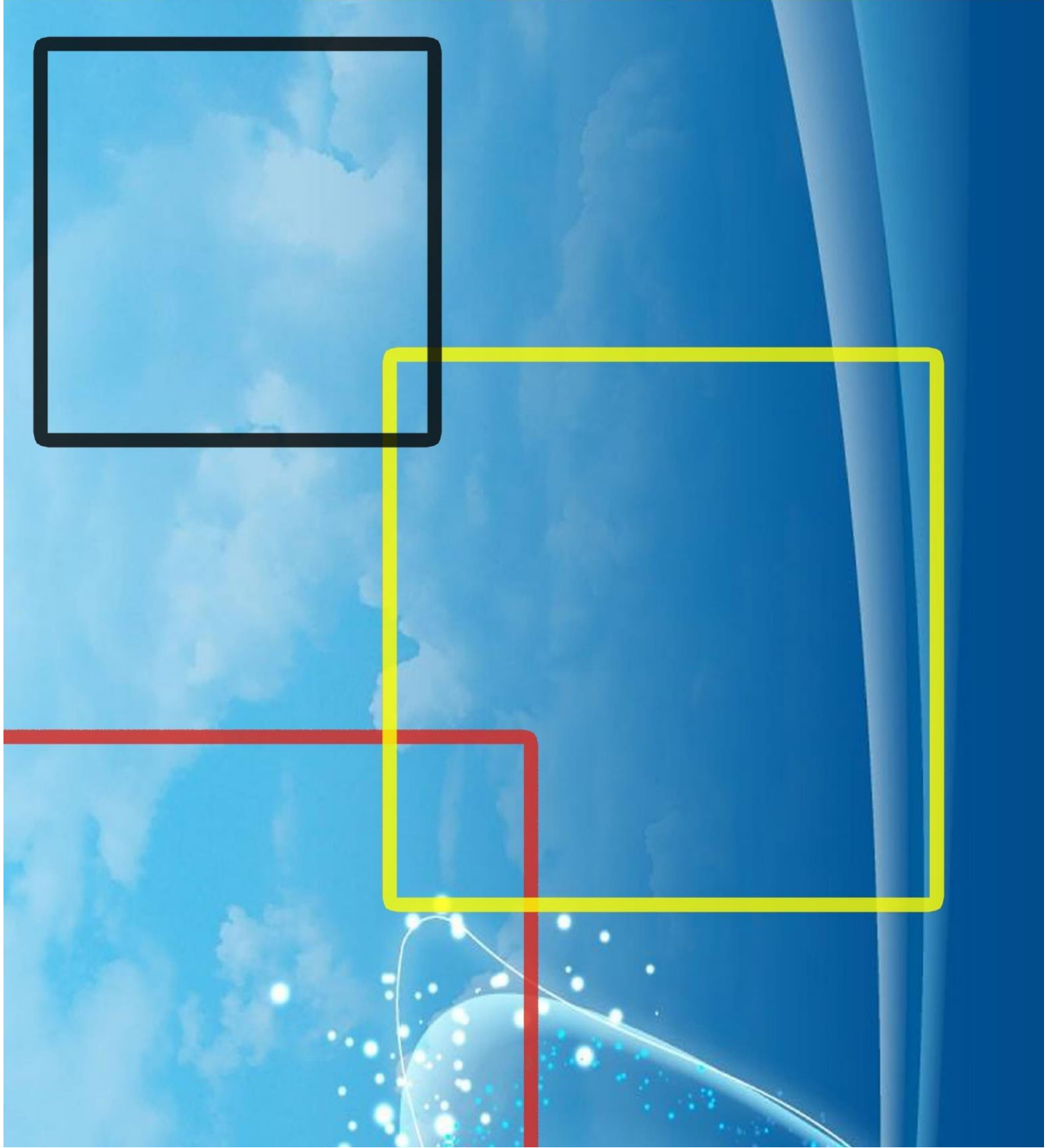




VAN VETERINARY JOURNAL

Year: 2024 / Volume: 35 / Issue:2

ISSN : 2149-3359
e-ISSN : 2149-8644





July - 2024



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

ISSN: 2149-3359

E-ISSN: 2149-8644

Owner

Prof. Dr. Musa GENÇCELEP (Dean)

Editor-in Chief

Prof. Dr. Cumali ÖZKAN

Van YU, Faculty of Veterinary, Journal Editorial, 65080 - Campus / Van - Turkey

Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27 e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Editors (Editorial Board)

Assist. Prof. Dr. Caner KAYIKCI (Co-Editor)	Assist. Prof. Dr. Ahmet Fatih DEMİREL (Electronic Journal Editor)
Assoc. Prof. Dr. Osman YILMAZ (Technical Editor)	Assist. Prof. Dr. Halil Cumhuri YILMAZ (Electronic Journal Editor)
Assist. Prof. Dr. Nebi ÇETİN (Technical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Bekir OĞUZ (Proof Quality Editor)
Assist. Prof. Dr. Yağmur KUŞCU (Technical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Adnan AYAN (Proof Quality Editor)
Assist. Prof. Dr. Mehmet YILDIZ (Technical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Abdullah KARASU (Section Editor)
Assoc. Prof. Dr. Gamze ÇAKMAK (Language Editor)	Assoc. Prof. Dr. Leyla MİS (Section Editor)
Assist. Prof. Dr. Mustafa ÖZBEK (Language Editor)	Assoc. Prof. Dr. Turan YAMAN (Section Editor)
Prof. Dr. Abdullah YEŞİLOVA (Statistical Editor)	Assist. Prof. Dr. Tuncer ÇAKMAK (Section Editor)
Assoc. Prof. Dr. Sadi ELASAN (Statistical Editor)	Assist. Prof. Dr. Çağrı KALE (Section Editor)
Res. Assist. Dr. Veysel DELİBAŞ (Electronic Journal Editor)	

Publication Board

Dr. Abdullah KAYAR (Istanbul University-Cerrahpasa)	Dr. Jose Ramiro GONZALEZ MONTANA (University of Leon - Spain)
Dr. Ahmet Cihat ÖNER (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. M. Saleem AKHTAR (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)
Dr. Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU (Aksaray University)	Dr. Madalina G. ALBU KAYA (INCETP Institute - Romania)
Dr. Ali Rıza BABAOĞLU (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Mehmet YÜCEL (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Ardavan FARHADI (Shantou University - China)	Dr. Memiş BOLACALI (Kirsehir Ahi Evran University)
Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas University - Kyrgyzstan)	Dr. Mian Muhammed AWAİS (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)
Dr. Axel WEHREND (Giessen University - Germany)	Dr. Mojtaba RAEİSİ (Golestan university - Iran)
Dr. Aynur ŞİMŞEK (Dicle University)	Dr. Murat GÜZEL (Ondokuz Mayıs University)
Dr. Bahattin ÇAK (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Okan EKİM (Ankara University)
Dr. Behnam ROSTAMİ (Zanjan University - Iran)	Dr. Omar ATROOZ (Mutah University - Jordan)
Dr. Bengi ÇINAR KUL (Ankara University)	Dr. Omar BELLANDA (University of Republic - Uruguay)
Dr. Cihat ÖZTÜRK (Kirsehir Ahi Evran University)	Dr. Orhan YILMAZ (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Cristian MAGDAS (SAMV University - Romania)	Dr. Ornampai JAPA (Phayao University - Thailand)
Dr. Davut KOCA (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Reşit ALDEMİR (Van Yüzüncü Yil University)
Dr. Ehab ABU-BASHA (Jordan University (JUST) - Jordan)	Dr. Serkan YILDIRIM (Atatürk University)
Dr. Ejaz AHMAD (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)	Dr. Tahereh MOHAMMADABADI (Khuzestan University - Iran)
Dr. Faina SHAKİROVA (Kazan State Academy - Russia)	Dr. Tohid Rezaei TOPRAGGALEH (Tabriz University - Iran)
Dr. Feraye ESEN GURSEL (Istanbul-Cerrahpasa University)	Dr. Ulaş ACARÖZ (Afyon Kocatepe University)
Dr. Gert W. NIEBAUER (Vetmeduni Vienna - Austria)	Dr. Volkan KOŞAL (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Golam KİBRİA (CVAS University - Bangladesh)	Dr. Yeter DEĞER (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. James M. MAY (Vanderbilt University - USA)	Dr. Yunus ÇETİN (Burdur Mehmet Akif Ersoy University)

Advisory Board

Dr. Abdullah KAYA (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Oğuz KUL (Kirikkale University)
Dr. Abeer F. El NAHAS (Alexandria University - Egypt)	Dr. Ömer BEŞALTI (Ankara University)
Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU (Ankara University)	Dr. Saadet BELHAN (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Cenk YARDIMCI (Ondokuz Mayıs University)	Dr. Suphi DENİZ (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Durmuş Alpaslan KAYA (Hatay Mustafa Kemal University)	Dr. Taylan AKSU (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Engin KENNERMAN (Bursa Uludag University)	Dr. Turan ÇİVELEK (Afyon Kocatepe University)
Dr. Füsün TEMAMOĞLU (Harran University)	Dr. Yakup Can SANCAK (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Hüseyin KARADAĞ (Istanbul Gelisim University)	Dr. Yılmaz ARAL (Ankara University)
Dr. Mecit YÖRÜK (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Zabit YENER (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Nihat MERT (Van Yuzuncu Yil University)	

This journal is published three times a year. Journal Tittle Abbreviation: **Van Vet J**
All articles in this journal are available free of charge from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/vanveti>

Year	Volume	Issue
2024	35	2

This journal indexed / abstracted in Asos Index, CAB Abstracts, EBSCOhost, Google Scholar, Index Copernicus, Sobiad, TR Dizin and Turkiye Atif Dizini

July - 2024



VAN VETERINARY JOURNAL



This journal previously published as: **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

Scientific Board of This Issue

Prof. Dr. Ahmet TOPAL (Ataturk University)

Prof. Dr. Atilla DURMUŞ (Van Yuzuncu Yil University)

Prof. Dr. İbrahim TAŞAL (Burdur Mehmet Akif Ersoy University)

Prof. Dr. Kenan SEZER (Burdur Mehmet Akif Ersoy University)

Prof. Dr. Selim ALÇAY (Bursa Uludag University)

Prof. Dr. Timur GÜLHAN (Ondokuz Mayıs University)

Assoc. Prof. Dr. Aynur ŞİMŞEK (Dicle University)

Assoc. Prof. Dr. Burçak Aslan ÇELİK (Siirt University)

Assoc. Prof. Dr. Emin KARAKURT (Kafkas University)

Assoc. Prof. Dr. Orhan ÇORUM (Hatay Mustafa Kemal University)

Assoc. Prof. Dr. Özgür Yaşar ÇELİK (Siirt University)

Assoc. Prof. Dr. Semih ALTAN (Dokuz Eylül University)

Assoc. Prof. Dr. Tunahan SANCAK (Sivas Cumhuriyet University)

Assist. Prof. Dr. Ceylan CEYLAN (Siirt University)

Assist. Prof. Dr. Rahmi CANBAR (Necmettin Erbakan University)

This journal is published three times a year. Journal Title Abbreviation: Van Vet J

All articles in this journal are available free of charge from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/vanvetj>

Year	Volume	Issue
2024	35	2

This journal indexed / abstracted in Asos Index, CAB Abstracts, EBSCOhost, Google Scholar, Index Copernicus, Sobiad, TR Dizin and Türkiye Atf Dizini

Original Articles

- **Yaman T, Akkoyun HT, Keleş ÖF, Bayramoğlu Akkoyun M.** Effect of Bee Bread (Perga) on Histopathological Changes and Immunohistochemical Expression of Apoptosis Markers in the Kidney of Rats Exposed to Cadmium (Arı Ekmeğinin (Perga) Kadmiyuma Maruz Kalan Sıçan Böbreğindeki Histopatolojik Değişiklikler ve Apoptoz Belirteçlerinin İmmünohistokimyasal Ekspresyonu Üzerine Etkisi) **101-108**
- **Sarimuratoğlu Ö, Kaya A.** Solar Dermatitli Van Kedilerinde Hematolojik Parametrelerin ve İmmunglobulin Düzeylerinin Belirlenmesi (Determination of Hematological Parameters and Immunoglobulin Levels in Van Cats with Solar Dermatitis) **109-114**
- **Erdemir Ö, Denizhan V, Karakuş A (2024).** Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Barınağındaki Köpeklerde Bulunan Pirelerin Prevalansı (Prevalence of Fleas on Dogs in Van Metropolitan Municipality Animal Shelter) **115-119**
- **Parlak TM, Traş B.** Çöven ekstraktı, Tahin, Saponin ve Sesaminin Tip 2 Diyabetik Farelerde Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi (Effect of Gypsophila extract, tahini, saponin and sesamin on some biochemical parameters in type 2 diabetic mice) **120-124**
- **Karasu A, Kayıkcı C, Kuşcu Y.** Retrospective Review of Congenital Anomaly Cases in Ruminants (Ruminantlarda Konjenital Anomali Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi) **125-131**
- **Çetin N, Kuru M, Eşki F et al.** The Effect of Oral Progestagen Administration on the Fertility of Synchronized Goats During the Breeding Season (Üreme Sezonunda Senkronize Edilen Keçilerde Çiftleşme Sonrası Uygulanan Oral Progesteronun Fertiliteye Etkisi) **132-137**

Case Report

- **Güneş A, Katanalp ÖF, Çakmak B, Yetüt Narin N.** Pekinez Irkı Bir Köpekte Eklampsi Olgusu (A Case of Eclampsia in a Pekinese Dog) **138-141**
- **Öztürk Köse S, Boynukara B, Bıyık HH.** Fusarium fujikuroi, Mucor racemosus: Sultan Papağanı (Nymphicus hollandicus) (Fusarium fujikuroi, Mucor racemosus: Cockatiel (Nymphicus hollandicus)) **142-144**



Effect of Bee Bread (Perga) on Histopathological Changes and Immunohistochemical Expression of Apoptosis Markers in the Kidney of Rats Exposed to Cadmium

Turan YAMAN^{1,*} H. Turan AKKOYUN² Ömer Faruk KELEŞ¹ Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN³

¹Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, 65040, Van, Türkiye

²Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, 56100, Siirt, Türkiye

³Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, 56100, Siirt, Türkiye

Received: 05.02.2024

Accepted: 03.04.2024

ABSTRACT

Cadmium (Cd) is an environmental and industrial pollutant that causes toxicity in various organs in humans and animals. Bee bread (perga) is a natural flavonoid with a wide range of pharmacological properties. This study was conducted to examine the effects of perga on Cd-induced nephrotoxicity. Thirty-two male Wistar rats were randomly divided into 4 groups, as the Control group, Cd group (5 mg/kg/day, orally), Perga group (0.5 g/kg/day, orally), and Cd + Perga group. At the end of the 28-day experiment, kidney tissue samples were taken and histopathological, immunohistochemical, and biochemical analyses were performed. Histopathologically, severe tubular and glomerular damage occurred as a result of Cd exposure in the Cd group. Immunohistochemically, there was an increase in caspas-3 and Bax expression in the renal tissue in the Cd group. According to the biochemical results, while the catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase antioxidant enzyme levels decreased in the Cd group, and the malondialdehyde levels increased. However, most of the above-mentioned Cd-induced changes were attenuated by treatment with perga in the Perga + Cd group. In conclusion, perga supplementation may alleviate Cd-induced renal injury through inhibition of apoptosis in renal tissue.

Keywords: Cadmium, Histopathology, Kidney, Perga, Rat.

ÖZ

Arı Ekmeğinin (Perga) Kadmiyuma Maruz Kalan Sıçan Böbreğindeki Histopatolojik Değişiklikler ve Apoptoz Belirteçlerinin İmmünohistokimyasal Ekspresyonu Üzerine Etkisi

Kadmiyum (Cd), insanlarda ve hayvanlarda çeşitli organlarda toksisiteye neden olan çevresel ve endüstriyel bir kirleticidir. Arı ekmeği (perga), çok çeşitli farmakolojik özelliklere sahip doğal bir flavonoiddir. Bu çalışma, perganın Cd kaynaklı nefrotoksite üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapıldı. Otuz iki adet erkek Wistar sıçanı kontrol grubu, Cd grubu (5 mg/kg/gün, oral), Perga grubu (0.5 g/kg/gün, oral) ve Cd+Perga grubu olmak üzere rastgele 4 gruba ayrıldı. 28 günlük deneme süresi sonunda böbrek dokusu örnekleri alınarak histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal analizler yapıldı. Histopatolojik olarak Cd grubunda, Cd maruziyeti sonucu ciddi tübül ve glomerül hasar meydana geldi. İmmünohistokimyasal olarak Cd grubunda böbrek dokusunda caspas-3 ve Bax ekspresyonunda artış vardı. Biyokimyasal sonuçlara göre Cd grubunda katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz antioksidan enzim seviyeleri azalırken, malondialdehit seviyeleri arttı. Ancak yukarıda belirtilen Cd'nin neden olduğu değişikliklerin çoğu, Perga + Cd grubunda perga tedavisiyle azaldı. Sonuç olarak, perga takviyesi böbrek dokusunda apoptozun inhibisyonu yoluyla Cd kaynaklı böbrek hasarını hafifletebilir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, Histopatoloji, Kadmiyum, Perga, Rat.

INTRODUCTION

Cadmium (Cd) is an important trace element released into aquatic and terrestrial environments from both natural sources and anthropogenic activities (mining, smelting, electroplating, battery manufacturing using Cd) (Chora et al. 2009). People are exposed to Cd through food, water,

and cigarette smoke (Waisberg et al. 2003). Cd has a long biological half-life and accumulates in the liver and kidney (Ercal et al. 2001). It is a toxic metal that can cause toxicity in many tissues, such as nephrotoxicity, immunotoxicity, reproductive toxicity, and osteotoxicity (Liu et al. 2009; Gong et al. 2019).

The kidney is thought to be the target organ in Cd toxicity



because it does not have an effective mechanism for Cd elimination and is one of the organs where Cd accumulates (Fouad and Jresat 2011). Metallothionein (MT), a small metal-binding protein induced by Cd, that binds most of the Cd in the form of the Cd-MT complex (Nordberg 2009). After Cd exposure, Cd-MT is produced in the liver and released into the bloodstream (Wolff et al. 2008). The nephrotoxic effect of Cd occurs as a result of the Cd-MT complex released from damaged liver cells, filtering through the glomerulus, and passing into the urinary cavity, where it is endocytosed by proximal tubular cells and broken down by lysosomes, resulting in the release of Cd (Morales et al. 2006).

Oxidative stress is an important possible mechanism in Cd-induced nephrotoxicity (Watjen and Beyermann 2004). Cd causes oxidative stress damage by inducing excessive amounts of reactive oxygen species (ROS) (Jomova and Valko 2011). It was reported that Cd induces tubular epithelial cell apoptosis in the kidney and the underlying mechanism is excessive ROS production (Almeer et al. 2019). In addition, Cd-induced oxidative stress damage activates mitochondrial signals that cause apoptosis (Wilmes et al. 2011).

Bee bread (perga) consists of pollen, honey, and the secretions of the salivary glands of bees (Vásquez and Olofsson 2009). Bees place the ingredients into the honeycomb cells, then coat the mixture with beeswax and honey. The content is then subjected to lactic fermentation caused by bacteria and yeasts, resulting in perga (Kieliszek et al. 2018). Perga is a source of polyphenols with antioxidant activity due to rich compounds such as α -tocopherol, kaempferol, p-coumaric acid, and isorhamnetin (Isidorov et al. 2009). Due to its antioxidant properties, antimicrobial (Zerdani et al. 2011), anti-inflammatory (Kosedag and Gulaboglu 2023), and antihypertensive (Nagai et al. 2005) activities have been demonstrated. Perga also has properties that help to remove various toxins from organisms (Nagai et al. 2005).

The aim of this study was to investigate the protective effect of perga against Cd-induced nephrotoxicity in rats using histopathological, immunohistochemical, and biochemical methods.

MATERIAL AND METHODS

Animals

The Experimental Animal Research Centre at Van Yuzuncu Yil University (Van, Türkiye) provided 32 male Wistar albino rats that were approximately 2 months old with an average weight of 200–250 g. The rats were randomly divided into 4 groups, with 8 in each group (n=8). They were housed at 25±2 °C with a daily light/dark photoperiod of 10:14. The rats were fed a wheat-soybean-based diet ad libitum and housed in stainless steel cages. Humane care, according to the criteria expressed in the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals prepared by the National Academy of Science and published by the National Institute of Health, was followed throughout the experiment period. The ethics regulations followed were in accordance with national and institutional guidelines for the protection of animal welfare during the experiments. The local ethics committee of Van Yuzuncu Yil University Animal Experiments approved the study (01/06/2023, 2023/07-12).

Experimental Design

The 32 male rats were randomly divided into 4 groups, with each containing 8 rats. The experiment was conducted for 28 days. Freshly procured perga was dried at 35 °C for 4 h, and then ground into a fine powder using a blender and stored at –20 °C until use (Zakaria et al. 2021). During the 4-week trial period, perga was given daily via oral gavage at a dose of 0.5 g/kg body weight (Kosedag and Gulaboglu 2023). Cd was administered daily via orogastric gavage at 5 mg/kg body weight throughout the trial period (Fang et al. 2021). The rats were grouped as shown in Table 1.

Table 1: Animal groups.

Group	Treatment	Route of Administration
1. Control group	Distilled water	via orogastric gavage
2. Perga group	0.5 g/kg perga	via orogastric gavage
3. Cd group	5 mg/kg Cd	via orogastric gavage
4. Cd + Perga	0.5 g/kg perga + 5 mg/kg Cd	via orogastric gavage

A standard pellet diet ad libitum was available during the experiment.

At the end of the 28-day experiment, the rats were anesthetized using ketamine (50 mg/kg) (Arion Pharmacy, İstanbul, Türkiye) and xylazine (10 mg/kg) (Mefar Pharmacy, İstanbul, Türkiye). Kidney tissue was removed after median laparotomy. Samples taken for histopathological examination were stored in 10% formaldehyde solution. Samples taken for biochemical [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px)] analysis were washed with phosphate-buffered saline (PBS) and stored in a deep freezer (–80 °C).

Histopathological Examination

Kidneys from the animals were fixed in 10% neutral buffered formalin and embedded in paraffin using routine methods. Sections measuring 5 µm thick were cut for histological examination. Histopathological evaluation was performed for findings such as glomerular damage, tubular degeneration and necrosis, hyperemia, and hemorrhage (Renugadevi and Prabu 2009). The histopathological findings were evaluated on hematoxylin and eosin (H&E)-stained tissue slides using a light microscope (E-400; Nikon, Corp., Minato City, Tokyo, Japan) equipped with a DS-Ri2 video camera (DS-U3; Nikon Corp). Histopathological findings were evaluated subjectively as negative (–), mild (+), moderate (++) , and intense (+++) (Yaman and Kömüroğlu 2018).

Immunohistochemical Staining

Immunohistochemistry was performed according to the streptavidin-biotin-peroxidase (avidin–biotin peroxidase complex) method. Briefly, the sections were deparaffinized (2 times for 5 min in xylol) and rehydrated using a series of ethanol solutions. Subsequently, tissue endogenous peroxidase activity was quenched with 3% H₂O₂ (v/v) for 20 min followed by washing 3 times in PBS for 5 min. Antigen retrieval was performed with citrate buffer (pH 6.0) for 30 min at 95 °C using a water bath, and then cooled for 20 min. Subsequently, the slides were incubated with blocking serum (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed Laboratories Inc., Oxnard, CA, USA) for 15 min to block nonspecific binding sites. The sections were incubated with caspase-3, and Bax primary antibodies at 4 °C overnight (Table-2). The next day, the slides were washed

four times with PBS, incubated with a biotinylated secondary antibody (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) for 20 min at room temperature, and washed four times with PBS for 5 min. Next, the sections were incubated with horseradish-streptavidin peroxidase (HRP) conjugate (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) at room temperature for 20 min. Finally, the slides were incubated for 5–15 min with diaminobenzidine (DAB), rinsed 3 times for 5 min in distilled water, and counterstained with Gill's hematoxylin for 3 min. Then, the sections were passed through a series of alcohol and xylene and mounted directly with Entellan mounting medium. Immunohistochemical findings were evaluated subjectively according to the intensity of the staining in the tissue as negative (-), mild (+), moderate (++) and intense (+++), using a light microscope (E-400; Nikon Corp.) equipped with a DS-Ri2 video camera (DS-U3, Nikon Corp.) (Yaman and Aydemir 2021).

Preparation of Kidney Tissue Homogenate

Kidney tissue samples, weighed at 0.5 g on a precision scale, were placed in tubes. Then, 10 times the weight of cold buffer (1 mmol/L EDTA, 0.32 mol/L sakaroz and 10 nmol/L Tris-HCl, pH 7.4) was added to the tissue samples. Samples were digested using a homogenizer. After the vortexing process, the samples placed into porcelain crucibles were subjected to advanced disintegration in an ultrasantizer at 20 KHz. After the disintegration process, the upper clear part was removed by centrifugation at 9500 rpm for 30 min. The collected supernatants were transferred into Eppendorf tubes. All of these processes were carried out at 4 °C (Akkoyun et al. 2023).

Antioxidant Enzyme Activity Determinations and Determination of the Total Protein Concentration.

Antioxidant enzyme activity levels in the kidney tissues were determined spectrophotometrically. Superoxide dismutase (SOD (EC 1.15.1.1) activity was measured according to the method by Sun et al. (1988), glutathione peroxidase GSH-Px (E.C.1.11.1.9) tissue enzyme activity was measured based on the method by Paglia and Valentine (1967), and the catalase CAT (EC 1.11.1.6) activity was measured according to the method used by Aebi (1984). The MDA level, which is the most important indicator of lipid peroxidation, was determined according to the method of Ohkawa et al. (1979). The total protein concentration of the kidney tissue homogenates was determined spectrophotometrically using standard bovine serum albumin solution (Lowry et al. 1951).

Statistical Analysis

The biochemical findings obtained as a result of the study were analyzed using analysis of variance (ANOVA) with the JMP statistical package program. Standard deviation ($X \pm SD$) values were also calculated with the JMP package program. According to the results of ANOVA, statistically significant factor averages were compared using the least significant differences student's t test ($p < 0.01$) and lettered.

RESULTS

Histopathological Results

Normal histological structure of the kidney tissue was observed in the Control (Figure 1A) and Perga groups (Figure 1B). After 4 weeks of Cd treatment, swelling of the glomeruli was observed in some sections from the Cd group, so that there was no space between the glomerulus and the Bowman capsule (Figure 1C). Shrinkage and

atrophy were observed in the glomeruli in some sections. This resulted in an expansion of the Bowman space (Figure 1D). Tubular damage manifested by fragmented tubular epithelium and loss of brush border was observed. Dilation was detected in the tubules. Necrosis and cloudy swelling were observed in the tubule epithelium (Figure 1E). Cd also caused hyperemia and hemorrhagic foci and inflammatory cell infiltration. The histopathological changes caused by Cd were significantly reduced by the application of perga. In particular, the atrophic glomeruli were barely detected. However, glomerular swelling was partially present (Figure 1F). The frequency and severity of histopathological lesions in kidney tissue in all of the groups are presented in Table 3.

Table 2: Antibody specificity, host, dilution rates and incubation times.

Antibody	Host	Dilution	Incubation	Source
Caspase-3	Rabbit/ Polyclonal	1:100 dilution	Overnight	PA5-16335; Thermo Fisher Sci.
Bax	Rabbit/ polyclonal	1:100 dilution	Overnight	ab53154; abcam

Heat-induced antigen retrieval was performed with citrate buffer.

Table 3: Incidence and severity of the lesions in the kidneys of the Control, Perga, Cd, and Cd + Perga groups.

Changes/lesions in kidney	Control	Perga	Cd	Cd + Perga
Tubular degeneration and necrosis	0/8	0/8	8/8	8/8
Mild	0	0	1	2
Moderate	0	0	4	5
Intense	0	0	3	1
Damaged glomeruli	0/8	0/8	8/8	8/8
Mild	0	0	2	3
Moderate	0	0	2	3
Intense	0	0	4	2
Inflammatory cells infiltration	0/8	0/8	8/8	5/8
Mild	0	0	5	4
Moderate	0	0	3	1
Intense	0	0	0	0
Hyperemia and/or hemorrhage	0/8	0/8	8/8	7/8
Mild	0	0	1	4
Moderate	0	0	3	2
Intense	0	0	4	1

Number of rats with lesions among all of the animals examined (8 rats per group)

Immunohistochemical Results

Immunohistochemically, the caspase-3 and Bax immunoexpressions were evaluated in the kidney tissue. There was no expression of caspase-3 in the Control (Figure 2A) or Perga (Figure 2B) group sections. Strong caspase-3 expression was detected in the glomerular and tubular cells in the Cd group sections (Figure 2C). Expression was present in the Cd + Perga group, but it was less than that in the Cd group (Figure 2D). Bax expression was not observed in the Control (Figure 3A) or Perga group (Figure 3B) sections. Expression was determined in the tubule epithelium in the Cd group sections. However, there was no reaction in the glomerular cells (Figure 3C). In the Cd + Perga group, there was lower Bax expression compared to the Cd group (Figure 3D).

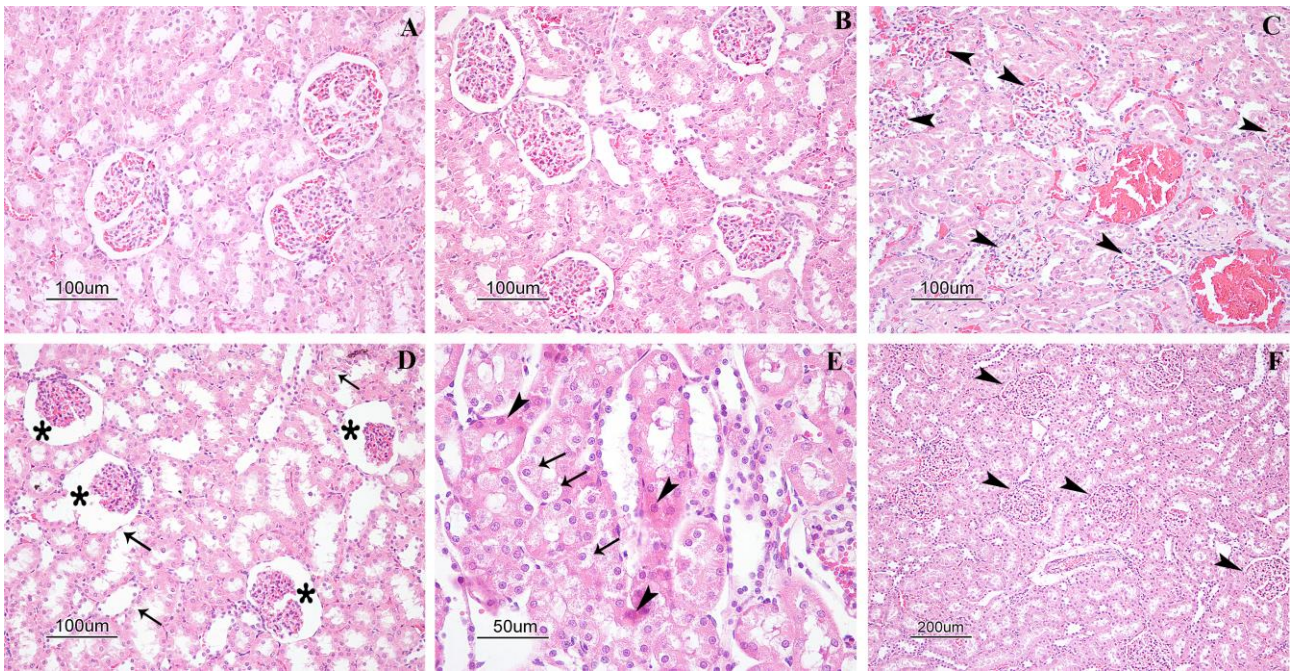


Figure 1: Effects of perga on Cd-induced changes in the kidney sections (H&E).

A) Control group: Normal histological appearance of the kidney. B) Perga group: Normal glomeruli and tubules. C) Cd group: Swelling of the glomerulus and absence of space between the glomerulus and Bowman's capsule (arrowhead). D) Cd group: Shrinkage of the glomerulus, increase in the space between the glomerulus and Bowman's capsule (Stars), and tubular damage (arrows). E) Cd group: Necrosis (arrows) and cloudy swelling (arrowhead) of the tubular epithelium. F) Cd + Perga group: Treatment with perga prominently attenuated the damage caused by Cd (arrowhead).

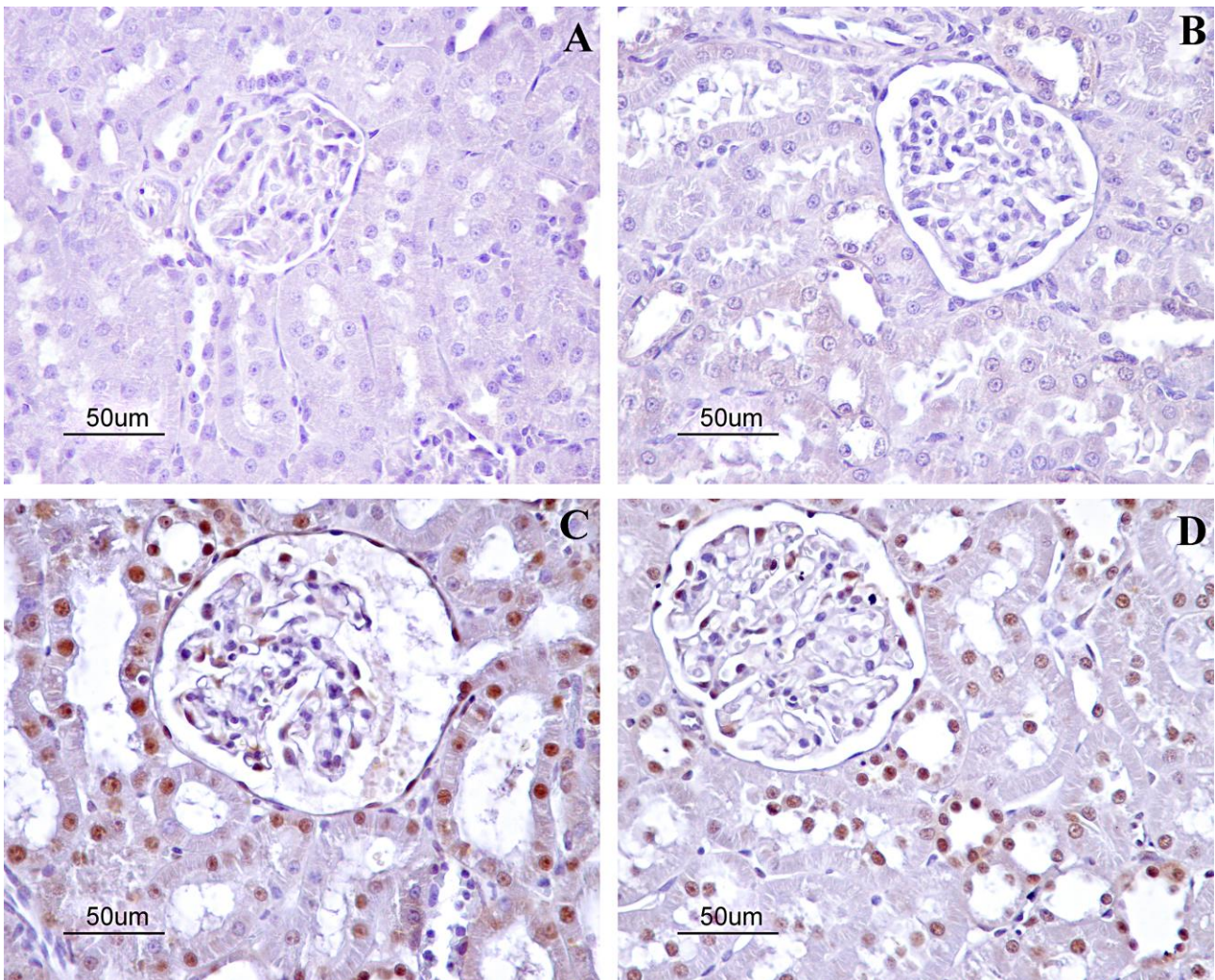


Figure 2: Effect of Cd and perga on the immune-expression of caspase-3 in the kidney tissue of rats.

A) Control group; B) Perga group; C) Cd group; D) Cd + Perga group. ABC method, counterstained with hematoxylin.

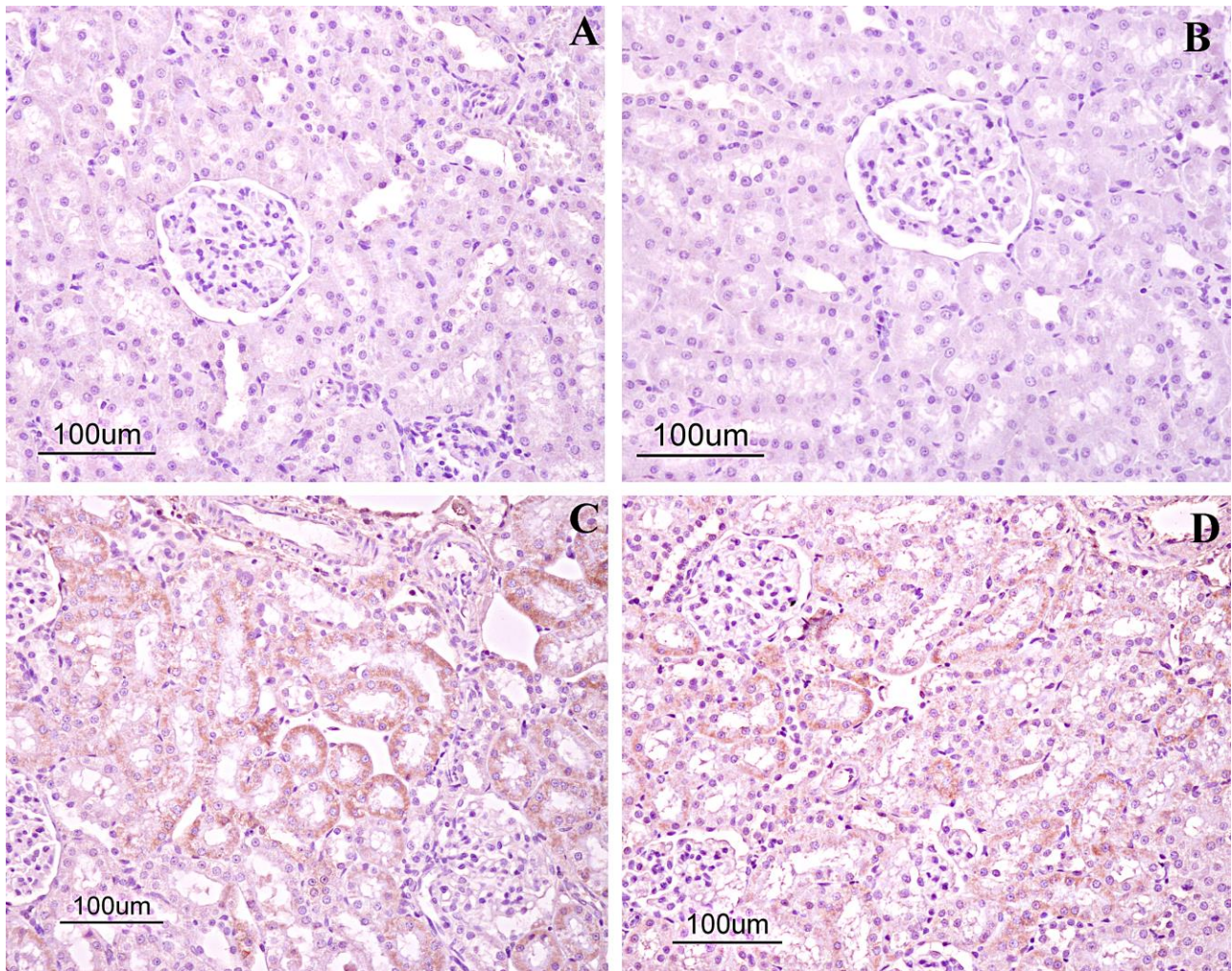


Figure 3: Effect of Cd and perga on the immune-expression of Bax in the kidney tissue of rats.

A) Control group; B) Perga group; C) Cd group; D) Cd + Perga group. ABC method, counterstained with hematoxylin.

Biochemical Results

When the results were evaluated, the SOD, CAT, and GSH-Px enzyme activity decreased in the Cd group compared to the Control group ($p < 0.01$). The SOD and GSH-Px activity in the Cd + Perga group increased significantly compared to the Cd group ($p < 0.01$). Enzyme activities in the Perga group were close to those in the control group (Figures 4–6). When the MDA level was evaluated, an increase was observed in the Cd group compared to the Control group ($p < 0.01$). Compared to the Cd group, the MDA level decreased significantly in the Cd + Perga group ($p < 0.01$) (Figure 7).

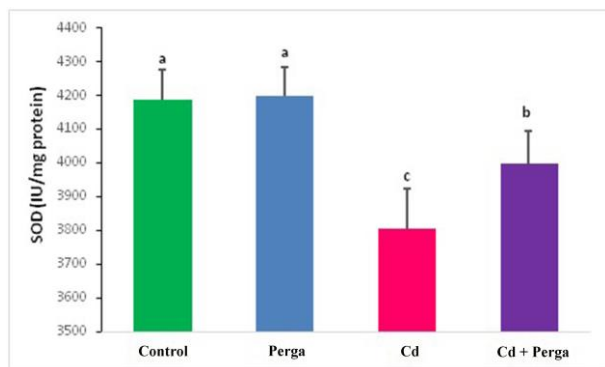


Figure 4: Effect of Cd and perga on SOD levels in the kidney tissue of rats (IU/mg protein) ($p < 0.01$).

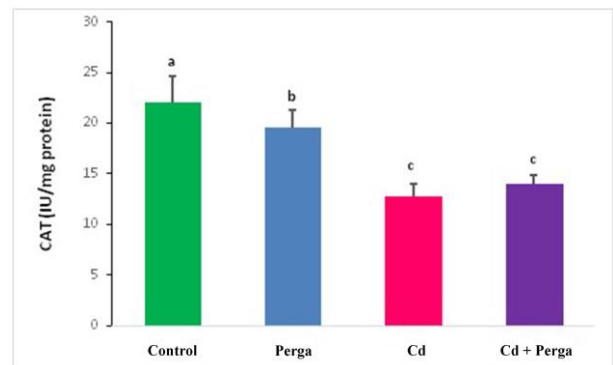


Figure 5: Effect of Cd and perga on CAT levels in the kidney tissue of rats (IU/mg protein) ($p < 0.01$).

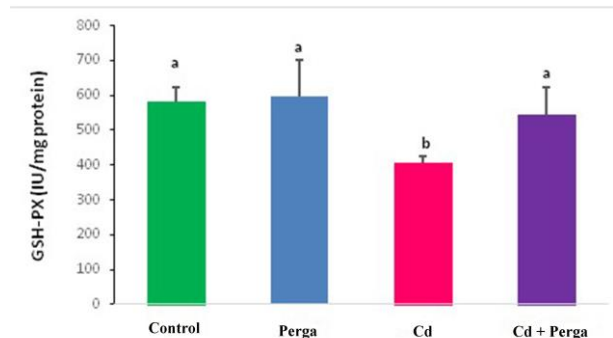


Figure 6: Effect of Cd and perga on GSH-PX levels in the kidney tissue of rats (IU/mg protein) ($p < 0.01$).

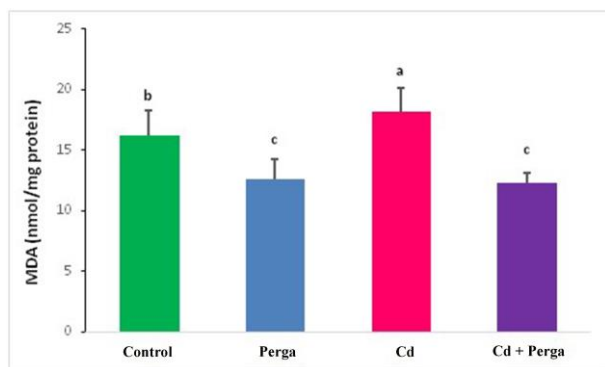


Figure 7: Effect of Cd and perga on MDA levels in the kidney tissue of rats (nmol/mg protein) ($p < 0.01$).

DISCUSSION AND CONCLUSION

Cd causes ROS production by triggering the production of pro-inflammatory cytokines and signaling molecules in the kidney (Fouad and Jresat 2011). The toxic effects caused by Cd are closely related to this ROS production, which can activate signaling pathways that cause cell apoptosis (Pathak and Khandelwal 2006). Additionally, antioxidant deficiency occurs with ROS production (Waisberg et al. 2003). It has been reported that a diet rich in natural flavonoids may be useful to prevent Cd-induced kidney damage (Morales et al. 2006). This study described evidence of the protective efficacy of perga in Cd-induced nephrotoxicity.

Cd accumulates in proximal tubule cells through glomerular filtration and disrupts the structure of the kidney (Ge et al. 2019). Marked tubular necrosis, cloudy degeneration of the tubular epithelium, and tubular dilatation have been reported in rat kidneys as a result of exposure to Cd (Pari et al. 2007; Renugadevi and Prabu 2010; Fang et al. 2021). Multiple hemorrhage foci, inflammatory cell infiltration (Renugadevi and Prabu 2010), and the accumulation of eosinophilic debris (hyaline cylinders) in the tubules are other known findings (Tripathi and Srivastav 2011). In the current study, similar histopathological findings were detected in the Cd group. Tubular degeneration, necrosis and dilatation after exposure to toxic substances may be the result of hydraulic changes (Tripathi and Srivastav 2011). Tubular dilatation may be a compensatory mechanism after the loss of function of nephrons due to tubular damage (Sanchez-Chardi et al. 2009).

Cd affects the glomeruli as well as the tubules. In the present study, exposure to Cd caused atrophy of the glomeruli in some sections. The glomerular shrinkage observed in this study was consistent with that in previous studies reporting glomerular shrinkage in rats administered Cd at the same dose and duration as that herein (Renugadevi and Prabu 2009; Renugadevi and Prabu 2010). However, in rats administered Cd at the same dose and duration as in the current study, it was reported that the Bowman's space narrowed as a result of swelling in the glomeruli following exposure to Cd (Tripathi and Srivastav 2011). Herein, similar findings were detected in some of the tissues.

In the present study, the perga treatment showed improvement in some of the histopathological changes caused by Cd in the kidney. Perga has been reported to alleviate oxidant-mediated kidney damage caused by various heavy metals. Ethanol extract of perga (100 mg/kg) given to rats for 1 month contributed positively to

histopathological and biochemical parameters in the liver, kidney, and brain as a detoxifying agent against titanium dioxide nanoparticles and other xenobiotics (Bakour et al. 2021). Perga extract has been shown to significantly ameliorate aluminum-induced hepato-renal toxicity (Bakour et al. 2017).

An important factor for Cd-induced kidney damage is apoptosis (Zhuang et al. 2019). Cd-induced apoptosis involves multiple pathways (Shao et al. 2014). Bax, and caspase-3 play a role in the mitochondria-mediated intrinsic apoptosis pathway. The pro-apoptotic protein Bax can change mitochondrial permeability and cause apoptosis (Amanpour et al. 2019). Caspase-3 is the final protease that activates apoptotic DNA degradation (Abdel Moneim 2016). In the current study, it was found that the caspase-3 and Bax immunoreexpression increased in the kidney tissue sections of the Cd group. This evidence are consistent with previous research reporting an increase in caspase-3 and Bax immunoreexpression in the kidney of mice (Almeer et al. 2019) and rats (Yuan et al. 2014) exposed to Cd. Previous studies have suggested that antioxidant supplements such as vitamin E (Fang et al. 2021) and selenium (Wang et al. 2013) have a protective effect against Cd-induced apoptosis by reducing Bax and caspase-3 mRNA expression levels. In this presented study, the perga treatment effectively reversed this Cd-induced process.

Vitamins C, E, and selenium may be very important factors in terms of the protective effect against Cd damage (Karabulut-Bulan et al. 2008). Perga is an important source of nutrients and bioactive compounds such as vitamins (C, B, K, P, E H, P, nicotinic acid, and folic acid) and polyphenols (flavonoids, phenolic acids) (Vásquez and Olofsson 2009). It has also been reported that perga contains many micro and macro elements with antioxidant activity such as selenium, zinc, calcium, phosphorus, copper, and magnesium (Nagai et al. 2005). Studies have reported that vitamin C and E, zinc, and selenium reduce oxidative stress and damage caused by Cd (Karabulut-Bulan et al. 2008; Çilenk et al. 2016). Vitamin C supplementation has been shown to reduce Cd uptake from the gastrointestinal tract (Grosicki 2004). It has been shown that vitamin E acts as an antioxidant in cells, interrupting the spread of LPO in the plasma membrane to maintain membrane integrity (Karabulut-Bulan et al. 2008). It has been observed that selenium treatment may protect kidney tissue against Cd toxicity by increasing the activity of antioxidant enzymes in these tissues (El-Sharaky et al. 2007). Zinc supplementation may partially protect against Cd-induced lipid peroxidation (Jemai et al. 2007). In this study, the significant improvement in histopathological findings and apoptotic markers in the kidney as a result of perga treatment may be related to the content of perga.

Oxidative stress is defined as a disorder in the balance between ROS and antioxidant defenses systems (Akkoyun 2019). Oxidative stress can cause significant interrelated disorders in cellular metabolism, including changes in the protein and nucleic acid structures, an increase in intracellular free calcium, and the destruction of cells by lipid peroxidation (Szymonic-Lesiuk et al. 2003; Akkoyun et al. 2023). Studies have shown that Cd administration significantly reduced SOD, CAT, and GSH-Px activities and increased MDA levels compared to control rats (Messaudi et al. 2009; Renugadevi and Prabu 2010). In the presented study, the SOD, CAT, and GSH-Px enzyme activities decreased significantly in the Cd and Cd + Perga groups compared to the Control group ($p < 0.01$). The SOD, CAT,

and GSH-Px activities in the Cd + Perga group increased significantly compared to the Cd group ($p < 0.01$).

MDA is known to be one of the most abundant aldehydes formed as a byproduct of lipid peroxidation (Soltaninejad et al. 2003). A significant increase in MDA level due to Cd exposure has been reported in the kidney tissue of rats (Suhartono et al. 2015). In the presented study, the MDA level increased in the Cd group compared to the Control group ($p < 0.01$). The MDA level, which increased in the Cd group, decreased significantly in the Cd + Perga group ($p < 0.01$).

In the literature, no studies could be found evaluating the effects of perga against Cd toxicity. It was reported that propolis, another bee product, acts as a protective agent against Cd-induced testicular toxicity (Çilenk et al. 2016). In a study evaluating the protective properties of propolis and royal jelly against the negative effects of Cd on kidney and liver function, it was concluded that both products have the ability to contribute to Cd chelation and the reduction of oxidative stress (Omar et al. 2023). In the presented study, the SOD and GSH-Px activity values in the Cd + Perga group were significantly increased compared to the Cd group. This result shows that perga has preventive effects against Cd-induced oxidative damage due to its antioxidant properties.

In conclusion, perga appears to have a protective role in Cd-induced nephrotoxicity, as it causes a decrease in caspase-3 and Bax immune expressions, reduces the MDA level, and increases serum antioxidant enzyme activities. Therefore, perga could have a potential role as an antioxidant and antiapoptotic agent in food supplementation or the pharmaceutical industry. However, further studies are needed to fully understand the nephroprotective effects of perga.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: TY, HTA

Supervision / Consultancy: TY, HTA, ÖFK

Data Collection and / or Processing: TY, HTA, MBA

Analysis and / or Interpretation: TY, HTA, ÖFK, MBA

Writing the Article: TY, HTA

Critical Review: TY, HTA, ÖFK, MBA

REFERENCES

- Abdel Moneim AE (2016).** Indigofera oblongifolia prevents lead acetate-induced hepatotoxicity, oxidative stress, fibrosis and apoptosis in rats. *PLoS One*, 11, e0158965.
- Aebi H (1984).** Catalase in vitro assay. *Meth Enzymol*, 105, 121-126.
- Akkoyun HT (2019).** The protective effect of quercetin against to renal tissue damage induced carbontetrachloride in rat. *J Inst Sci Technol*, 9 (2), 708-716.
- Akkoyun HT, Uyar A, Bayramoglu Akkoyun M et al. (2023).** The protective effect of arbutin against potassium bromate-induced oxidative damage in the rat brain. *J Biochem Mol Toxicol*, 37 (2), e23248.
- Almeer RS, Albasher GI, Alarifi S et al. (2019).** Royal jelly attenuates cadmium-induced nephrotoxicity in male mice. *Sci Rep*, 9 (1), 5825.
- Amanpour P, Khodarahmi P, Salehipour M (2019).** Protective effects of vitamin E on cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 393 (3), 349-358.
- Bakour M, Al-Waili NS, El Menyiy N et al. (2017).** Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. *J Food Sci Technol*, 54, 4205-4212.

- Bakour M, Hammas N, Laaroussi H (2021).** Moroccan bee bread improves biochemical and histological changes of the brain, liver, and kidneys induced by titanium dioxide nanoparticles. *BioMed Research International*. 2021, 1-13.
- Chora S, Starita-Geribaldi M, Guignon JM et al. (2009).** Effect of cadmium in the clam *Ruditapes decussatus* assessed by proteomic analysis. *Aquat Toxicol*, 94 (4), 300-308.
- Çilenk KT, Öztürk İ, Sönmez MF (2016).** Ameliorative effect of propolis on the cadmium-induced reproductive toxicity in male albino rats. *Exp Mol Pathol*, 101 (2), 207-213.
- El-Sharaky AS, Newairy AA, Badreldeen MM, Eweda SM, Sheweita SA (2007).** Protective role of selenium against renal toxicity induced by cadmium in rats. *Toxicology*, 235 (3), 185-193.
- Ercal N, Gurrer-Orhan H, Aykin-Burns N (2001).** Toxic metals and oxidative stress. Part I. Mechanisms involved in metal induced oxidative damage. *Curr Top Med Chem*, 1 (6), 529-539.
- Fang J, Xie S, Chen Z et al. (2021).** Protective effect of vitamin E on cadmium-induced renal oxidative damage and apoptosis in rats. *Biol Trace Elem Res*, 199, 4675-4687
- Fouad A, Jresat I (2011).** Protective effect of telmisartan against cadmium-induced nephrotoxicity in mice. *Life Sci*, 89, 29-35.
- Ge J, Zhang C, Sun YC et al. (2019).** Cadmium exposure triggers mitochondrial dysfunction and oxidative stress in chicken (*Gallus gallus*) kidney via mitochondrial UPR inhibition and Nrf2-mediated antioxidant defense activation. *Sci Total Environ*, 689, 1160-1171.
- Gong ZG, Wang XY, Wang JH, Fan RF, Wang L (2019).** Trehalose prevents cadmium-induced hepatotoxicity by blocking Nrf2 pathway, restoring autophagy and inhibiting apoptosis. *J Inorg Biochem*, 192, 62-71.
- Grosicki A (2004).** Influence of vitamin C on cadmium absorption and distribution in rats. *J Trace Elem Med Biol*, 18 (2), 183-187.
- Isidorov V, Isidorova A, Szczepaniak L, Czyzewska U (2009).** Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of the chemical composition of bee bread. *Food Chem*, 115 (3), 1056-1063.
- Jemai H, Messaoudi I, Chaouch A, Kerkeni A (2007).** Protective effect of zinc supplementation on blood antioxidant defense system in rats exposed to cadmium. *J Trace Elem Med Biol*, 21 (4), 269-273.
- Jomova K, Valko M (2011).** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*, 283, 65-67.
- Karabulut-Bulan O, Bolkent S, Yanardag R, Bilgin-Sokmen B (2008).** The role of vitamin C, vitamin E, and selenium on cadmium-induced renal toxicity of rats. *Drug Chem Toxicol*, 31 (4), 413-426.
- Kieliszek M, Piwowarek K, Kot AM (2018).** Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends Food Sci Technol*, 71, 170-180.
- Kosedag M, Gulaboglu M (2023).** Pollen and bee bread expressed highest anti-inflammatory activities among bee products in chronic inflammation: an experimental study with cotton pellet granuloma in rats. *Inflammopharmacology*, 31, 1967-1975.
- Liu J, Qu W, Kadiiska MB (2009).** Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicol App Pharmacol*, 238 (3), 209-214.
- Lowry O, Rosebrough N, Farr AL, Randall R (1951).** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193 (1), 265-275.
- Messaoudi I, El Heni J, Hammouda F, Saïd K, Kerkeni A (2009).** Protective effects of selenium, zinc, or their combination on cadmium-induced oxidative stress in rat kidney. *Biol Trace Elem Res*, 130, 152-161.
- Morales AI, Vicente-Sanchez C, Egido J, Arevalo MA, Lopeznovoa JM (2006).** Protective effect of quercetin on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats is based on its antioxidant properties. *Food Chem Toxicol*, 44, 2092-2100.
- Nagai T, Nagashima T, Suzuki N, Inoue R (2005).** Antioxidant activity and angiotensin I-converting enzyme inhibition by enzymatic hydrolysates from bee bread. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60 (1-2), 133-138.
- Nordberg GF (2009).** Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol*, 238 (3), 192-200.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979).** Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95, 351-358.
- Omar EM, El-Sayed NS, Elnozahy FY et al. (2023).** Reversal effects of royal jelly and propolis against cadmium-induced hepatorenal toxicity in rats. *Biol Trace Elem Res*, 1-16.
- Paglia DE, Valentine WN (1967).** Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 70, 158-169.
- Pari L, Murugavel P, Sitasawad SL, Kumar KS (2007).** Cytoprotective and antioxidant role of diallyl tetrasulfide on cadmium induced renal injury. An in vivo and in vitro study. *Life Sci*, 80 (7), 650-658.
- Pathak, N, Khandelwal S (2006).** Oxidative stress and apoptotic changes in murine splenocytes exposed to cadmium. *Toxicology*, 220 (1), 26-36.

- Renugadevi J, Prabu SM (2009).** Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats. *Toxicology*, 256 (1-2), 128-134.
- Renugadevi J, Prabu SM (2010).** Quercetin protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cadmium in rats. *Exp Toxicol Pathol*, 62 (5), 471-481.
- Sanchez-Chardi A, Penarroja-Matutano C, Borrás M, Nadal J (2009).** Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals Part III: structural alterations. *Environ Res*, 109 (8), 960-967.
- Shao CC, Li N, Zhang ZW et al. (2014).** Cadmium supplement triggers endoplasmic reticulum stress response and cytotoxicity in primary chicken hepatocytes. *Ecotoxicol Environ Saf*, 106, 109-114.
- Soltaninejad K, Kebriaeezadeh A, Minaiee B et al. (2003).** Biochemical and ultrastructural evidences for toxicity of lead through free radicals in rat brain. *Hum Exp Toxicol*, 22 (8), 417-423.
- Suhartono E, Triawanti T, Leksono AS (2015).** Effects of cadmium exposure on lipid peroxidation and chlorinative stress of rat kidney. *J Exp Life Sci*, 5 (1), 1-5.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988).** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34 (3), 497-500.
- Szymonic-Lesiuk S, Chechowska G, Stryjecka M et al. (2003).** Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat after carbon tetrachloride intoxication. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 10, 309-315.
- Tripathi S, Srivastav AK (2011).** Cytoarchitectural alterations in kidney of Wistar rat after oral exposure to cadmium chloride. *Tissue and Cell*, 43 (2), 131-136.
- Vásquez A, Olofsson TC (2009).** The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *J Apic Res*, 48 (3), 189-195.
- Waisberg M, Joseph P, Hale B, Beyersmann D (2003).** Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology*, 192 (2-3), 95-117.
- Wang Y, Wu Y, Luo K (2013).** The protective effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and apoptosis via mitochondria pathway in mice kidney. *Food Chem Toxicol*, 58 (6), 61-67.
- Watjen W, Beyersmann D (2004).** Cadmium induced apoptosis in C6 gliomacells. Influence of oxidative stress: *Biometals*, 17, 65-78.
- Wilmes A, Crean D, Aydin S (2011).** Identification and dissection of the Nrf2 mediated oxidative stress pathway in human renal proximal tubule toxicity. *Toxicol In Vitro*, 25 (3), 613-622.
- Wolff NA, Lee WK, Abouhamed M, Thevenod F (2008).** Role of ARF6 in internalization of metal-binding proteins, metallothionein and transferring, and cadmium-metlothionein toxicity in kidney proximal tubule cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 230 (1), 78-85.
- Yaman T, Aydemir C (2021).** Respiratory syncytial virus infection induces expression of inducible nitric oxide synthase, CD3, and CD8 in naturally occurring pneumonia in lambs. *Acta Vet*, 71 (2), 170-188.
- Yaman T, Kömüroğlu AU (2018).** Effects of *juniperus communis* L. oil on nephropathy in experimental diabetic rats. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 7 (2), 192-199.
- Yuan G, Dai S, Yin Z (2014).** Sub-chronic lead and cadmium co-induce apoptosis protein expression in liver and kidney of rats. *Int J Clin Exp Pathol*, 7 (6), 2905.
- Zakaria Z, Othman ZA, Suleiman JB (2021).** Hepatoprotective effect of bee bread in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) rats: Impact on oxidative stress and inflammation. *Antioxidants*, 10 (12), 2031.
- Zerdani Z, Abouda I, Kalalou I, Faid M, Ahami MT (2011).** The antibacterial activity of Moroccan bee bread and bee-pollen (fresh and dried) against pathogenic bacteria. *Res J Microbiol*, 6, 376-384.
- Zhuang J, Nie G, Yang F (2019).** Cadmium induces cytotoxicity through oxidative stress-mediated apoptosis pathway in duck renal tubular epithelial cells. *Toxicol in Vitro*, 61, 1-10.



Solar Dermatitli Van Kedilerinde Hematolojik Parametrelerin ve İmmunglobulin Düzeylerinin Belirlenmesi

Özlem SARİMURATOĞLU¹ Abdullah KAYA² *

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 65080, Van, Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 65080, Van, Türkiye

Geliş Tarihi: 07.03.2024

Kabul Tarihi: 10.07.2024

ÖZ

Bu çalışma solar dermatitli Van kedilerinde hematolojik parametreler ve immunglobulin düzeylerinin araştırılması amacıyla yapıldı. Bu çalışmanın hayvan materyalini Van Kedisi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan, farklı yaş (3-15 yaş) ve cinsiyete sahip, yapılan muayeneler sonucunda "Solar Dermatitis" teşhisi konulan 20 Van kedisi ile görünürde herhangi bir hastalığı bulunmayan 7 kedi oluşturdu. Hasta ve sağlıklı kedilerden *V. cephatica*'dan kan örnekleri alındı. Solar dermatitli Van kedilerinin THR (trombosit) ve Pct (trombosit platekriti) ($p<0.05$) ile Lym (lenfosit) değerinde ($p<0.01$) anlamlı bir düşüş, Neu (nötrofil) ve Eo (eozinofil) değerlerinde anlamlı bir artış ($p<0.05$) olduğu tespit edildi. Solar dermatitli Van kedilerinin Glob (globulin) değerinde anlamlı bir artış ($p<0.05$), Alb (albumin)/Glob değerinde ise anlamlı bir düşüş olduğu ($p<0.01$) tespit edildi. İmmunglobulinlerden IgA değerinin solar dermatitli Van kedilerinde, sağlıklı Van kedilerine göre düşüş, IgE ve IgG değerlerinin ise artış gösterdiği, fakat bu düşüşün ve artışın anlamlı olmadığı ($p>0.05$), solar dermatitli Van kedilerinin IgM değerinde ise anlamlı bir artış olduğu ($p<0.05$) tespit edildi. Sonuç olarak, Van kedilerinde solar dermatitisin görülme sıklığının diğer beyaz olmayan kedi ırklarına göre daha yüksek olduğu, solar dermatitisin hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde kısmi bir değişikliğe yol açtığı ortaya konulmuştur. Solar dermatitisli kedilerde hematolojik ve biyokimyasal [TP (total protein), Alb, Glob] parametreler ile immunglobulin (IgA, IgE, IgG, IgM) düzeyleri ilk kez belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Güneş dermatiti, Hematoloji, İmmunglobulin, Van kedisi.

ABSTRACT

Determination of Hematological Parameters and Immunoglobulin Levels in Van Cats with Solar Dermatitis

This study was carried out to investigate hematological parameters and immunoglobulin levels in Van cats with solar dermatitis. The animal material of this study consisted of 20 cats of different ages (3-15 years) and gender, diagnosed with "Solar Dermatitis" as a result of the examinations, and 7 cats without any apparent disease, located in the Van Cat Research and Application Center. *V. cephatica* blood samples were taken from sick and healthy cats. It was determined that there was a significant decrease in Thr (platelet) and Pct (platelet platecrit) ($p<0.05$) and Lym (lymphocyte) value ($p<0.01$) and a significant increase in Neu (neutrophil) and Eo (eosinophil) values ($p<0.05$) in Van cats with solar dermatitis. It was determined that there was a significant increase in the Glob (globulin) value of Van cats with solar dermatitis ($p<0.05$) and a significant decrease in the Alb (albumin)/Glob value ($p<0.01$). Among the immunoglobulins, IgA value decreased in Van cats with solar dermatitis compared to healthy ones, and increased IgE and IgG values, but this decrease and increase were not significant ($p>0.05$), while the IgM value of Van cats with solar dermatitis increased significantly ($p<0.05$). As a result, it has been revealed that the probability of solar dermatitis in Van cats is higher than other cat breeds, and that solar dermatitis does not cause a significant change in hematological and biochemical parameters. In addition, hematological and biochemical [TP (total protein), Alb, Glob] parameters and immunoglobulin (IgA, IgE, IgG, IgM) levels were determined for the first time in cats with solar dermatitis.

Keywords: Hematology, Immunoglobulin, Solar dermatitis, Van cat.



GİRİŞ

Van kedisi, Türkiye’de yetiştirilen saf beyaz kedi ırklarındandır. Türk Standartları Enstitüsü tarafından Van Kedisi TS 12138 no ile 1997 yılında milli ırk olarak tescil edilmiştir. Van bölgesinden köken alan, nesli koruma altına alınmış, turkuaz mavisi ile kehribar gibi farklı renkte gözlere sahip olan ve suyu seven bir kedi ırkıdır (Yılmaz ve Ertürk 2015; Çelik 2019).

Kedilerde deri hastalıklarına sıklıkla rastlanılmaktadır. Hafif pigmentli, pigmentsiz veya hasarlı ve tüylerle korunamayan cildin, güneş veya ultraviyole ışığına maruz kalmasından kaynaklanarak oluşan ve genellikle göz ardı edilen bir deri hastalığı olan solar dermatitis, beyaz renkli tüy yapılarından dolayı beyaz kedilerde sıklıkla görülmektedir (Pucheu-Haston 2017; Paterson 2019).

Dünyadaki güneş radyasyonunun yaklaşık %5’i Ultraviyole radyasyon (UVR)’dan (100-400 nm arasında) oluşmaktadır. UVR Ultraviyole A (UVA) (315-400 nm), Ultraviyole B (UVB) (280-315 nm), Ultraviyole C (UVC) (100-280 nm) olmak üzere üç gruba ayrılır ve dünya yüzeyindeki güneş ultraviyole radyasyonunun yaklaşık %95-98 UVA, %2-5 UVB’dir. UVC ise stratosferik ozon tarafından emilir (Molho-Pessach ve Lotem 2007). Genellikle UVB, güneş yanığı veya eritem spektrumu olarak adlandırılmaktadır (Paterson 2019).

Solar dermatit, hafif pigmentli, pigmentsiz veya hasarlı ve tüylerle korunamayan cildin, güneş veya ultraviyole ışığına maruz kalmasından kaynaklanan, akut veya kronik olabilen bir dermatit çeşididir (Pucheu-Haston 2017). Bütün kediler eşit derecede duyarlı değildir. Beyaz veya açık renkli kürke sahip ve mavi gözlü kediler, tıraş edilmiş kediler en hassas olanlardır (Foster 2012; Hughes 2018).

Lezyonlar, en duyarlı kedilerde 3 aylıktan ortaya çıkmaktadır (Almeida ve ark. 2008). Etkilenen bölgeler; özellikle kulak kepçesinin uçları, burun, dudaklar, preauriküler ve perioküler alanlardır (Almeida ve ark. 2008). Akut solar dermatit, eritemli, kalınlaşmış, ağrılı bir cilt ile karakterizeyken, kronik solar dermatit, hissedilebilir şekilde kalınlaşmış bir cilt, eritem, erozyonlar, ülserasyonlar, yara izi ve komedonlar ile karakterizedir (Pucheu-Haston 2017). Ayrıca bazı kedilerde kulak kepçesinin seyirmesi ve pinnal kıvrımda kıvrılma görülebilir (Sousa 1995; Scarff 2017). Uzun süre güneşe maruz kalmanın önemli bir sonucu da iyi huylu (örn., hemanjiyom) veya kötü huylu (örn., skuamöz hücreli karsinom) olabilen kutanöz neoplazidir (Ghibaud 2016).

Hastalığın tanısı; cins, kürk rengi, güneşe maruz kalma öyküsü ve klinik görünüm ile konur (Sousa 1995; Foster 2012). Pigmentsiz, seyrek tüylü bölgelerdeki lezyonlar ile bitişik pigmentli cildi karşılaştırmak tanıya yardımcı olabilir. Kesin tanı ise, deri biyopsi materyalinin histolojik olarak incelenmesiyle konulabilir (Foster 2012).

Tedavi, lezyonların tipine ve boyutuna bağlı olarak değişmektedir (Ghibaud 2016). En kritik faktör, etkilenen kedilerin güneş ışığından korunmasıdır. Bu, kediyi güneşli günlerde 10:00-16:00 saatleri arasında içeride tutmakla veya dışarıda olduğu zamanlarda gölgede olmasıyla ve camlara UV engelleyici filmler takarak sağlanabilir (Hughes 2018; Williams ve ark. 2018). Akut solar dermatitte güneşe daha fazla maruz kalmaktan kaçınılabilirse, vakaların kendini sınırlaması beklenir. İltihaplı vakalar, uygun bir analjezik ajanla birlikte prednizondan (7-10 gün boyunca her 24 saatte bir 1 mg/kg PO) fayda görebilir. Erken lezyonlar beta karoten (kedi başına 30 mg, başlangıçta 30 gün boyunca günde 2 kez, daha sonra günde 1 kez) takviyesine yanıt verebilir.

Kronik solar dermatitte, hasarın çoğu kalıcı olduğundan, tedavi daha zordur (Pucheu-Haston 2017). İmimikomodun (6 hafta veya daha uzun, haftada 2-3 kez) topikal uygulaması, özellikle kedilerde lezyonların şiddetini azaltabilir. Yangı bazı durumlarda şiddetli olabilir, yangı çözülene kadar tedavinin kesilmesi gerekir. Yeniden başlanırsa daha az sıklıkta uygulanmalıdır (Miller ve ark. 2013; Pucheu-Haston 2017). Tedaviler başarısız olursa pinnektomi endikedir ve lenf nodlarına metastaz olmuşsa, lenf nodu diseksiyonu yapılmalıdır (Miller ve ark. 2013).

Globulinler, kan serumundaki hızlarına göre alfa (α), beta (β) ve gamma (γ) globulinler olarak gruplandırılmaktadırlar. İmmunglobulinler, immunglobulin G (IgG), immunglobulin M (IgM), immunglobulin A (IgA), immunglobulin D (IgD) ve immunglobulin E (IgE) olmak üzere beş gruba değerlendirilir. Dört temel immunglobulin sınıfı (IgG, IgM, IgA ve IgE) tüm memelilerde, IgD ise, insanda, maymunda, ratlarda ve köpeklerde bulunmaktadır (Yılmaz ve Akgül 2014).

IgA, immunglobulinlerin yaklaşık %15’ini oluşturan ve mukozal sekresyonlarda en fazla bulunan gruptur (Yılmaz ve Akgül 2014). Komplamant fikzasyon ile opsonizasyonda rol almamaktadırlar (Çetiner 2020). IgA, gastrointestinal ve solunum kanalı duvarındaki plazma hücreleri ile bu bölgelerdeki B lenfositler tarafından üretilmektedir (Eğlenti 2019). IgE, immunglobulinlerin yaklaşık %0.004’ünü oluşturan, adenoidlerdeki, bronşiyal ve peritoneal lenf düğümlerindeki, solunum, gastrointestinal ve nazal mukozadaki plazma hücreleri tarafından üretilen gruptur (Lamerz ve Fateh-Moghadam 1974; Yılmaz ve Akgül 2014). Enflamasyon ve alerjik durumlarında, paraziter enfeksiyonlarda serum IgE konsantrasyonlarında artış görülmektedir (Reinero 2009; Eğlenti 2019). Alerjen spesifik IgE, hem alerjik hem de sağlıklı/spesifik patojen içermeyen kedilerde bulunabilir (Ural ve ark. 2018). IgG, immunglobulinlerin yaklaşık %75’ini oluşturan, vücut sıvılarında mevcut olan ve dokulara kolayca girebilen gruptur (Yılmaz ve Akgül 2014). Enterik enfeksiyonlara karşı olumlu, sistemik enfeksiyonlara karşı ise koruyucu etkisi vardır (Çetiner 2020). Savunma mekanizmasının antikor uyarımında başrol oynar (Eğlenti 2019). IgM, immunglobulinlerin yaklaşık %10’unu oluşturan ve plazma hücreleri tarafından antijenlere karşı üretilen ilk gruptur (Eğlenti 2019; Çetiner 2020). Enterik enfeksiyonlara karşı olumlu, sistemik ve paraziter enfeksiyonlara karşı ise koruyucu etkisi vardır (Çetiner 2020). Enfeksiyon hastalıklarının akut döneminde IgM düzeyinde artış meydana gelir, fakat IgM kısa ömürlü olduğundan, serumdaki düzeyi kısa süre sonra azalarak yerini uzun ömürlü IgG’ye bırakır. Dolayısıyla kan serumunda IgG’ye göre daha yüksek miktarda IgM saptanırsa, geçirilmekte olan veya yeni geçirilmiş enfeksiyon varlığı düşünülmelidir (Yılmaz ve Akgül 2014; Özbek 2019).

Bu çalışmada, Van ilinde bulunan solar dermatitli Van kedilerinin hematolojik parametrelerinin ve immunglobulin düzeylerinin solar dermatitisle ilişkisinin belirlenmesi ve gelecekte yapılacak çalışmalara alt yapı oluşturması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (Tarih: 25.11.2021, Karar No: 2021/11-04) hayvan deneyleri etik kurul onayı gerekmediğine dair belge alınmıştır.

Bu çalışmanın hayvan materyalini Van Kedisi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan ve yapılan muayeneler sonucunda "Solar Dermatit" teşhisi konulan, farklı yaş (3-15 yaş) ve cinsiyete sahip 20 Van kedisi ve herhangi bir hastalığı bulunmayan 7 Van kedisi oluşturdu.

Hasta ve kontrol grubu kedilerden analizler için V. cephalica'dan yöntemine uygun olarak antikoagülanlı (EDTA'lı) ve antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Hematolojik analizler hematoloji cihazında aynı gün içerisinde yapıldı. Biyokimyasal ve immunglobulin parametrelerinin ölçülmesi için antikoagülanlı tüplere aktarılan kanlar, santrifüj cihazında 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Elde edilen serumlar eppendorf tüplere aktarıldı, etiketlendi ve analizleri yapılncaya kadar derin dondurucuda (-20°C) muhafaza edildi. Çalışmada kullanılacak olan serum örnekleri çalışmadan 30 dakika önce derin dondurucudan çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Biyokimya cihazında total protein (TP) ve albumin parametreleri her bir parametre için cihaza uygun kit kullanılarak ölçüldü. Globulin ise, total protein ve albuminin farkıyla bulundu. Elde edilen serum örneklerinden immunglobulin IgA, IgE, IgG ve IgM değerleri, kediler için uyumlu olan ticari Enzym-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) test kitleri [Cat Immunoglobulin A (IgA) Cat. No E0015Cat, Cat Immunoglobulin G (IgG) Cat. NoE011Cat, Cat Immunoglobulin E (IgE) Cat. No E0119cat, Cat Immunoglobulin M (IgM) Cat. No E0016cat] ile kit prosedürlerine uygun olarak ELISA cihazı ile 450 nm dalga boyunda ölçüldü.

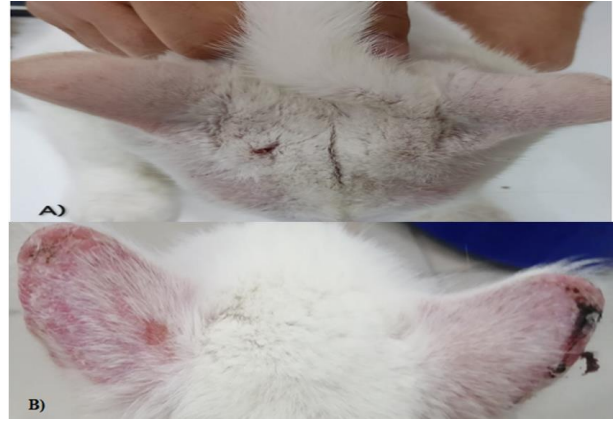
İstatistiksel Analiz

Çalışmanın örnek sayısı, Van Kedisi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan kedilere yapılan muayeneler sonucunda belirlendi. Çalışmada elde edilen veriler aritmetik ortalama (\bar{x}), standart hata ($S\bar{x}$), medyan, değişim aralığı (DA), minimum (min) ve maksimum (maks) değerler olarak ifade edildi. Bu çalışmada ele alınan değişkenler, normal dağılım göstermediğinden karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık ve verilerin analizi için SPSS (ver:21) istatistik yazılım programı kullanıldı.

BULGULAR

Solar dermatitli Van kedilerinin sıklıkla güneşe maruz kalan, pigmentsiz veya hafif pigmentli, seyrek tüylü bölgeleri olan ve daha çok etkilenen kulak kepçesi, göz, burun, dudak ve kulak çevresinde akut olarak kirli görüntü, pürüzlenme, eritem, ısı artışı ve göz çevresinin etkilenmesine bağlı olarak lakrimasyon olduğu gözlemlendi. Hastalık ilerledikçe kulak kepçesinde elle hissedilebilir bir kalınlaşma, kıl örtüsünde bozulma, alopesi, pullanma, etkilenen bölgeleri kaşıma ve fazla kaşımadan kaynaklanan kanama ve yaralar tespit edildi (Şekil 1).

Yapılan istatistiksel analizlere göre sağlıklı grupta Lym değeri; hasta grubundaki aynı değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p < 0.01$). Sağlıklı gruba ait THR ve Pct değerleri; hasta grubundaki aynı değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edilirken ($p < 0.05$), sağlıklı grupta Neu, Eo ve Eo# değerleri hasta grubundaki aynı değerlere göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi ($p < 0.05$). Solar dermatitli ve sağlıklı kedilerin WBC, Mon, Ba, Lym#, Mon#, Neu#, RBC, MCV, Hct, MCH, MCHC, RDW, RRg, Hb ve MPV parametreleri arasındaki farkın ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p > 0.05$) (Tablo1).



Şekil 1: A) Solar dermatitli bir kedinin kulak kepçesi ve başında alopesi ile kabuklanma B) Solar dermatitli bir kedinin kulak kepçesinde eritem ve pullanma.

Figure 1: A) Crusting with alopecia on the auricle and head of a cat with solar dermatitis B) Erythema and flaking of the auricle of a cat with solar dermatitis.

Tablo 1: Sağlıklı ve hasta grubu kedilere ait hematolojik parametreler.

Table 1: Hematological parameters of healthy and patient group cats.

Parametre	Sağlıklı (n:7) $\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	Hasta (n:20) $\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	P değeri
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	14.35 ± 3.72 (8.39 - 19.20) 14.99 5.65	19.95 ± 8.65 (7.59 - 39.44) 20.01 11.51	0.116
Lym (%)	41.51 ± 8.71 (29.10 - 52.30) 38.8 17	30.34 ± 10.62 (10.70 - 52.00) 31.8 12.5	0.009
Mon. (%)	4.46 ± 1.78 (2.20 - 7.80) 4.3 2.1	4.00 ± 1.29 (2.30 - 6.90) 3.75 1.45	0.570
Neu. (%)	50.91 ± 9.15 (39.50 - 63.40) 50.9 19.4	61.96 ± 11.29 (37.80 - 82.40) 59.7 12.95	0.031
Eo. (%)	2.69 ± 0.48 (2.10 - 3.20) 2.8 1	3.24 ± 0.49 (2.40 - 4.00) 3.3 0.8	0.026
Ba. (%)	0.43 ± 0.22 (0.10 - 0.80) 0.4 0.3	0.46 ± 0.27 (0.10 - 0.90) 0.3 0.5	0.850
Lym# (m/mm^3)	5.26 ± 1.79 (2.55 - 7.82) 5.67 2.73	5.93 ± 2.93 (2.40 - 12.32) 5.735 4.595	0.808
Mon# (m/mm^3)	0.59 ± 0.15 (0.36 - 0.82) 0.6 0.2	0.74 ± 0.30 (0.30 - 1.59) 0.695 0.225	0.162
Neu# (m/mm^3)	8.14 ± 3.16 (4.29 - 12.19) 9.61 6.05	13.19 ± 6.95 (4.03 - 30.90) 11.19 8.555	0.104
Eo# (m/mm^3)	0.39 ± 0.14 (0.18 - 0.54) 0.42 0.15	0.50 ± 0.06 (0.39 - 0.60) 0.495 0.12	0.031
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	9.81 ± 1.35 (8.27 - 12.39) 9.6 1.42	9.07 ± 1.73 (6.29 - 13.33) 9.265 2.135	0.498

Tablo 1 (devamı): Sağlıklı ve hasta grubu kedilere ait hematolojik parametreler.

Table 1 (continued): Hematological parameters of healthy and patient group cats.

Parametre	Sağlıklı (n:7)	Hasta (n:20)	P değeri
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	
MCV (fl)	45.50 ± 4.07 (40.90 – 52.10)	47.07 ± 4.36 (35.80 – 55.70)	0.324
	43.6	46.75	
	6.6	4.55	
Hct (%)	43.71 ± 6.11 (35.70 – 54.00)	42.27 ± 6.83 (29.80 – 54.70)	0.766
	43	42.8	
	10	9.1	
MCH (pg)	14.20 ± 1.55 (12.10 – 17.00)	13.96 ± 2.22 (10.00 – 21.50)	0.498
	14	13.55	
	2	1.9	
MCHC (g/dl)	31.83 ± 1.64 (29.60 – 33.90)	30.69 ± 3.10 (27.90 – 42.40)	0.476
	32.5	29	
	3.1	1.55	
RDW (%)	11.66 ± 0.89 (10.80 – 13.20)	11.78 ± 1.45 (9.70 – 16.20)	0.893
	11.2	11.55	
	1.5	1.3	
RRg	1.20 ± 2.46 (0.00 – 6.60)	2.53 ± 4.31 (0.00 – 15.80)	0.685
	0	0	
	1.7	3.7	
Hb (g/dl)	13.90 ± 1.78 (11.70 – 17.20)	12.54 ± 2.10 (8.40 – 16.40)	0.179
	14.1	12.8	
	2	2.5	
THR (10 ³ /mm ³)	457.71 ± 374.34 (152 – 1208)	199.90 ± 117.55 (60 – 493)	0.013
	278	143	
	469	112	
MPV (fl)	10.34 ± 0.39 (9.90 – 11.10)	10.28 ± 0.96 (8.60 – 11.70)	0.766
	10.3	10.2	
	0.4	1.75	
Pct (%)	0.47 ± 0.37 (0.16 – 1.21)	0.21 ± 0.14 (0.06 – 0.57)	0.022
	0.31	0.14	
	0.5	0.145	
PDW (%)	10.86 ± 0.83 (10 – 12.10)	10.74 ± 1.46 (7.60 – 12.50)	0.893
	10.6	11.1	
	1.8	2.05	

Yapılan istatistiksel analizlere göre sağlıklı gruba ait Alb/Glob değeri hasta gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek tespit edildi ($p < 0.01$). Sağlıklı gruba ait Glob ve IgM değeri hasta gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük tespit edildi ($p < 0.05$). Solar dermatitli ve sağlıklı kedilerin TP, Alb, IgA, IgE ve IgG parametreleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2: Sağlıklı ve hasta grubu kedilere ait biyokimyasal parametreler.

Table 2: Biochemical parameters of healthy and patient group cats.

Parametre	Sağlıklı (n:7)	Hasta (n:20)	P
	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	$\bar{x} \pm S\bar{x}$ Min-Maks Medyan DA	
TP (g/dl)	5.96 ± 2.27 (4.3 – 6.80)	8.92 ± 2.29 (3.9 – 10.30)	0.766
	4.7	3.5	
	1.5	5.1	
Alb (g/dl)	2.90 ± 1.13 (2 – 4.50)	4.49 ± 2.82 (1.10 – 9.90)	0.179
	2.2	3.75	
	2.4	2.6	
Glob (g/dl)	3.06 ± 0.87 (1.90 – 4.60)	4.43 ± 1.60 (2.20 – 6.70)	0.036
	2.9	4.20	
	1.1	2.85	
Alb/Glob	0.63 ± 0.08 (0.50 – 0.70)	0.50 ± 0.08 (0.30 – 0.60)	0.003
	0.6	0.50	
	0.1	0.05	
IgA (µg/ml)	230.85 ± 23.41 (213.14 – 279.84)	223.55 ± 48.88 (128.98 – 325.80)	0.766
	224.256	223.44	
	23.776	52.898	
IgE (ng/ml)	32.02 ± 4.88 (23.78 – 37.89)	36.39 ± 14.39 (19.93 – 69.65)	0.808
	31.154	34.202	
	7.699	18.286	
IgG (mg/ml)	0.39 ± 0.07 (0.29 – 0.47)	0.41 – 0.16 (0.19 – 0.81)	0.607
	0.3947	0.3722	
	0.1391	0.1348	
IgM (µg/ml)	191.99 ± 46.56 (133.63 – 281.46)	228.98 ± 41.33 (177.00 – 295.26)	0.041
	237.371	174.039	
	68.985	76.869	

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan araştırmalarda solar dermatitisin ilk lezyonlarının en duyarlı kedilerde 3 aylıkken ortaya çıktığı ve lezyonların yaz aylarında daha da şiddetlendiği bildirilmiştir (Almeida ve ark. 2008). Bu çalışmadaki kedilerin 3-15 yaşlar arasında olduğu ve belirtildiği gibi lezyonların daha çok yaz aylarında ortaya çıktığı tespit edildi. Solar dermatitisle ilgili yapılan çalışmalarda kedilerin burun, dudaklar, göz çevresi, kulak uçları ve kulak bölgesinde hafif eritem, lezyonlar ilerledikçe pullanma, kabuklanma, kaşıntı ve daha geç evrelerde yaygın ülserasyon ile meydana geldiği rapor edilmektedir (Scarff 2007; Almeida ve ark. 2008; Garcez ve ark. 2012). Bu çalışmada elde edilen klinik bulgular araştırmacıların (Scarff 2007; Almeida ve ark. 2008; Garcez ve ark. 2012) solar dermatitis ile ilgili belirtmiş oldukları klinik bulgularla uyum göstermektedir.

Sönmez ve Ağaoğlu (2010), erkek Van kedilerinde dişi Van kedilerine göre WBC değerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada WBC değerinin solar dermatitli Van kedilerinde, sağlıklı Van kedilerine göre yüksek olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı saptandı ($p>0.05$). (Sattasathuchana ve ark. 2020) dermatofitozlu kedilerin Neu ve Mon değerlerinin dermatofit enfeksiyonu olmayan kedilerin Neutrofil ve Monosit değerlerinden önemli ölçüde yüksek, Lenfosit ve Eozinofil değerlerinde ise önemli bir değişiklik olmadığını bildirmiştir. Bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinin Lym değeri düşük ($p<0.01$), Neu ve Eo değerleri ise yüksek saptandı ($p<0.05$).

Lenfosit değerinin düşüklüğü enfeksiyonun başlangıç aşamasında olabileceği, Neutrofil değerinin yüksekliği solar dermatitli kedilerde cilt hasarı sonucu oluşan yangından kaynaklanabileceği ve Eozinofil değerindeki artışın ise, oluşan yangı ve alerjik reaksiyon sonucu olabileceği düşünülmektedir. Mon ve Ba değerlerinde ise anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Sattasathuchana ve ark. (2020) dermatofitozlu kedilerin Hct değerini dermatofit enfeksiyonu olmayan kedilerin Hct değerinden önemli ölçüde düşük tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Tkacheva ve Glazunova (2018), notoedrik uyuzlu kedilerin RBC değerinde hafif bir artış olduğunu, kenelerden etkilenen (Demodex uyuzlu) kedilerde ise RBC değerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada her iki grubun RBC, MCV, Hct, MCH ve MCHC değerlerinde anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Tkacheva ve Glazunova (2018) notoedrik uyuzlu kedilerin Hb değerinde hafif bir artış olduğunu, kenelerden etkilenen kedilerin Hb değerinde ise düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada Hb değerinin solar dermatitli Van kedilerinde, sağlıklı Van kedilerine göre biraz düşük olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Sönmez ve Ağaoğlu (2010), THR değerinin erkek Van kedilerinde dişi Van kedilerine göre daha yüksek olduğunu belirtirken, Özkan ve arkadaşları (2016) ise, THR değerinin erkek Van kedilerinde dişi Van kedilerinden daha düşük olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinin THR değerinin, sağlıklı Van kedilerinin THR değerine göre önemli düzeyde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu durumun, yangı kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Sattasathuchana ve ark. (2020) dermatofitozlu kedilerin TP ve Alb değerlerinin dermatofit enfeksiyonu olmayan kedilerin TP ve Alb değerlerinden daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada TP ve Alb değerlerinin solar dermatitli Van kedilerinde, sağlıklı Van kedilerine göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Dermatofitozlu kedilerin Glob değeri ile dermatofit enfeksiyonu olmayan kedilerin Glob değerleri arasında önemli ölçüde fark olmadığı belirtilmektedir (Sattasathuchana ve ark. 2020). Bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinin Glob değerinin, sağlıklı Van kedilerinin Glob değerinden yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu durumun, oluşan yangı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Coşkun ve ark. (2021) IgA değerinin, erkek kedilerde dişi kedilere göre ve 10-14 yaşındaki yaşlı Van kedilerinde 2-4 yaşındaki Van kedilerine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinde IgA değerinin düşük olduğu, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Ural ve arkadaşları (2019), ev tozu akarına özgü serum IgE değerlerinin spesifik patojen içermeyen kedilerde, alerjik dermatiti olan ve alerjisi olmayan kedilerin aksine daha

düşük olduğunu belirtmektedir. Bu çalışmada IgE değerinin solar dermatitli Van kedilerinde yüksek ancak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Foster ve ark. (1997) alerjisi olan kedilerde, sağlıklı kedilerin aksine ev tozu akarı, pire ve çavdar otu alerjenlerine karşı IgG değerinin arttığını bildirmişlerdir. Gilbert ve Halliwell (1998) laboratuvarında yetiştirilen kedilerde *Dermatophagoides farinae*'ye özgü IgG seviyesini atopik dermatitli ve normal kedilere göre önemli ölçüde düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada IgG değerinin solar dermatitli Van kedilerinde yüksek olduğu, fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0.05$). Coşkun ve ark. (2021), IgM değerinin mavi-mavi gözlü Van kedilerinde diğer (iki gözü kehribar veya bir gözü kehribar bir gözü turkuaz) göz renklerine sahip Van kedilere göre ve 10-14 yaşındaki yaşlı Van kedilerinde 2-4 yaşındaki Van kedilerine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinin IgM değerinin, sağlıklı Van kedilerinin IgM değerine göre yüksek olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Enfeksiyon hastalıklarının akut döneminde IgM düzeyinde önemli artış meydana geldiği bildirilmektedir (Yılmaz ve Akgül 2014) ve bu çalışmada solar dermatitli Van kedilerinde yüksek IgM değerinin hastalığın akut dönemi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; Van kedilerinde solar dermatitin görülme olasılığının diğer kedi ırklarına göre daha yüksek olduğu, solar dermatitin ilerlemesiyle skuamöz hücreli karsinom oluşabileceği, solar dermatitisle ilgili literatürlerin yetersiz olduğu, solar dermatitin hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliklere yol açmadığı ve solar dermatitisli kedilerde hematolojik ve bazı biyokimyasal (TP, Alb Glob) parametreler ile immunglobulin (IgA, IgE, IgG, IgM) düzeyleri ilk kez ortaya konulmuştur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TYL-2022-10126 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Bu çalışma Özlem SARİMURATOĞLU isimli yazarın yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: AK, ÖS
Denetleme/Danışmanlık: AK
Veri Toplama ve/veya İşleme: AK, SÖ
Analiz ve/veya Yorum: AK, SÖ
Makalenin Yazımı: AK, SÖ
Eleştirel İnceleme: AK

KAYNAKLAR

- Almeida EM, Caraça RA, Adam RL ve ark. (2008). Photodamage in feline skin: clinical and histomorphometric analysis. *Vet Pathol*, 45 (3), 327-335.
- Coşkun P, Altunok V, Kazak F, Yüksek N (2021). Immunoglobulins and acute phase proteins in Van cats -associations with sex, age, and eye colour. *Turk J Vet Anim Sci*, 45 (2), 205-211.
- Çelik FA (2019). Van Kedisinde görülen sağrlığın insidansı ve göz renklerine göre dağılımı üzerine araştırmalar. Doktora tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Çetiner S (2020). Simental Irkı Değişik Yaş Grubundaki Sığırlarda Telomeraz Enzimi ve IgG Değerlerinin İlişkinin Araştırılması. Yüksek

- lisans tezi, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye.
- Eğlenti N (2019)**. Koksidiyozis ile doğal enfekte buzağılarda immünglobulin (IgA, IgE, IgG, IgM) konsantrasyonlarının değerlendirilmesi. Yüksek lisans tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Foster A (2012)**. BSAVA Manual of Canine and Feline Dermatology. Jackson HA, Marsella R (Eds). 3th ed. Actinic (solar) dermatoses, 235-242. England.
- Foster AP, O'Dair HA, DeBoer DJ (1997)**. Allergen-specific IgG antibodies in cats with allergic skin disease. *Res Vet Sci*, 63 (3), 239-243.
- Garcez TNA, Gerardi DG, Ferreira KC et al. (2012)**. Topical treatment of actinic keratosis with imiquimod 5% cream. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 64 (6), 1524-1528.
- Ghibaud G (2016)**. Canine and Feline Solar Dermatitis. *Summa, Animalia da Compagnia*, 33 (7), 29-33.
- Gilbert S, Halliwell REW (1998)**. Feline immunoglobulin E: induction of antigen-specific antibody in normal cats and levels in spontaneously allergic cats. *Vet Immunol Immunopathol*, 63 (3), 235-252.
- Hughes K (2018)**. Solar Dermatitis in Cats: How to Prevent Cat Sunburn. Erişim Tarihi: 7 Ağustos 2018. Erişim Adresi: <https://www.petmd.com/cat/conditions/skin/solar-dermatitis-cats-how-prevent-cat-sunburn>.
- Lamerz R, Fateh-Moghadam A (1974)**. Immunglobulin E. *Klin Wschr*, 52, 1-17.
- Miller WH, Griffin CE, Campbell KL (2013)**. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7th ed. Elsevier Mosby, St. Louis, Missouri, China.
- Molho-Pessach V, Lotem M (2007)**. Ultraviolet Radiation and Cutaneous Carcinogenesis. Tur E, (Ed). Environmental Factors in Skin Diseases, 35, 14-27. Basel, Karger.
- Özbek M (2019)**. Enzootik Pnömonili Buzağılarda Oksidatif Stres Parametreleri ve Serum İmmünglobülin Düzeylerinin Değerlendirilmesi. Doktora tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Özkan C, Kozat S, Kaya A, Akgül Y (2016)**. Some hematological and biochemical parameter levels in healthy Van cats at different age and gender. *Eurasian J Vet Sci*, 32 (4), 214-219.
- Paterson S (2019)**. Cutaneous sun damage and skin protection: a focus on Filtaclear. *Vet Nurse*, 10 (2), 90-95.
- Pucheu-Haston CM (2017)**. Solar Dermatitis. World Small Animal Veterinary Association Congress Proceedings, Baton Rouge, LA, USA.
- Reinero CR (2009)**. Feline immunoglobulin E: Historical perspective, diagnostics and clinical relevance. *Vet Immunol Immunopathol*, 132 (1), 13-20.
- Sattasathuchana P, Bumrungpun C, Thengchaisri N (2020)**. Comparison of subclinical dermatophyte infection in short- and long-haired cats. *Vet World*, 13 (12), 2798-2805.
- Scarff D (2017)**. Solar (actinic) dermatoses in the dog and cat. *Dermatol*, 22 (4), 188-197.
- Scarff D (2007)**. Solar dermatoses in companion animals Part 2: Feline solar dermatoses. *UK Vet Companion Animal*, 12 (4), 1-4.
- Sousa CA (1995)**. Exudative, Crusting and Scaling Dermatoses. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 25 (4), 813-831.
- Sönmez N, Ağaoğlu ZT (2010)**. Van Kedilerinde Kardiak Troponin Seviyelerinin Araştırılması. *YYÜ Vet Fak Derg*, 21 (1), 21-25.
- Tkacheva Y, Glazunova L (2018)**. Hematological Changes in Dogs and Cats With Ectoparasitosis in Northern Trans-Urals. *Advances in Engineering Research*, 151, 742-746.
- Ural K, Erdoğan H, Gültekin M (2018)**. Allergen specific IgE determination by in vitro allergy test in head and facial feline dermatitis: A pilot study. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 65, 379-386.
- Ural K, Paşa S, Erdoğan H ve ark. (2019)**. House dust mite specific in vitro IgE determination in cats with allergic dermatitis. *MAE Vet Fak Derg*, 4 (1), 14-17.
- Williams K, Hunter T, Ward E (2018)**. Solar Dermatitis in Cats. *VCA Hospitals*. Erişim adresi: <https://vcahospitals.com/know-your-pet/solar-dermatitis-in-cats>.
- Yılmaz N, Akgül Y (2014)**. İmmünglobulinler ve Septisemi. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 33 (1-2), 33-42.
- Yılmaz O, Ertürk YE (2015)**. Türkiye kedi ırkları. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Konya, Türkiye.



Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Barınağındaki Köpeklerde Bulunan Pirelerin Prevalansı

Ömer ERDEMİR¹ Vural DENİZHAN^{2,*} Ayşe KARAKUŞ²

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Parazitoloji Anabilim Dalı, 65080, Van, Türkiye

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, 65080, Van, Türkiye

Geliş Tarihi: 14.03.2024

Kabul Tarihi: 19.07.2024

ÖZ

Bu çalışma Van ili Büyükşehir Belediyesi Hayvan Barınağı'na getirilen sahipsiz 318 köpekte bulunan pirelerin prevalansını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Köpeklerden elde edilen pire enfestasyon oranları belirlenmiş ve toplanan veriler konağın enfestasyon durumu ve cinsiyet gibi değişkenlere göre değerlendirilmiştir. Çalışmada muayenesi yapılan köpeklerden elde edilen pire enfestasyon oranı %46.86 (149/318) olmak üzere, dört pire türü tespit edilmiştir. Tespit edilen türler; *Ctenocephalides canis* (%25.12), *Ctenocephalides felis* (%19.18), *Pulex irritans* (%11.06) ve *Ceratophyllus gallinae* (%3.46)'dir. Tek tür ile enfestasyon oranı; *C. canis* %16.98, *C. felis* % 11.64, *P. irritans* %5.35 ve *Ceratophyllus gallinae* %2.52 iken, aynı anda iki tür ile enfestasyon oranı; *C. canis* + *C. felis* %3.77, *C. canis* + *P. irritans* %2.20, *C. felis* + *P. irritans* %1.89, *C. canis* + *Ceratophyllus gallinae* %0.63 ve *C. felis* + *Ceratophyllus gallinae* %0.31'dir. Aynı anda üç tür ile enfestasyon oranı ise *C. canis* + *C. felis* + *P. irritans* %1.57 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda pire türlerine göre enfestasyon oranları arasında önemli bir farklılık bulunmasına karşın, pire türü ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişkiye rastlanmamıştır. Pireler çeşitli hastalıklara ara konaklık yapmaları sebebiyle gerek hayvan sağlığı gerekse halk sağlığı açısından önemlidir. Çalışmada elde edilen bulguların özellikle tıp ve veteriner hekimlik hizmetleri alanında yapılan çalışmalara önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Barınak, Pireler, Prevalans, Köpek, Van.

ABSTRACT

Prevalence of Fleas on Dogs in Van Metropolitan Municipality Animal Shelter

This study was conducted to determine the prevalence of fleas in 318 stray dogs brought to the Van Province Metropolitan Municipality Animal Shelter. Flea infestation rates obtained from dogs were determined and the collected data were evaluated according to variables such as the infestation status of the host and gender. Four flea species were identified in the study, with a flea infestation rate of 46.86% (149/318) in the dogs examined. Among the species identified; *Ctenocephalides canis* was detected as 25.12%, *Ctenocephalides felis* as 19.18%, *Pulex irritans* as 11.06% and *Ceratophyllus gallinae* as 3.46%. Infestation rate with a single species; while *C. canis* was detected at 16.98%, *C. felis* at 11.64%, *P. irritans* at 5.35% and *Ceratophyllus gallinae* at 2.52%, the infestation rate with two species was; *C. canis* + *C. felis* 3.77%, *C. canis* + *P. irritans* 2.20%, *C. felis* + *P. irritans* was found to be 1.89%, *C. canis* + *Ceratophyllus gallinae* 0.63% and *C. felis* + *Ceratophyllus gallinae* 0.31%. The infestation rate with three species at the same time, *C. canis* + *C. felis* + *P. irritans*, was determined as 1.57%. As a result of the statistical analysis, although there was a significant difference in infestation rates according to flea species, no significant relationship was found between flea species and gender. Fleas are important for both animal and public health as they serve as intermediate hosts for various diseases. It is thought that the findings obtained in the study will make significant contributions to studies, especially in the field of medicine and veterinary services.

Keywords: Dog, Fleas, Housing, Prevalence, Van.

GİRİŞ

Pire gibi ektoparazitler, paraziter hastalıklar arasında önemli bir yer tutmaktadır. Direkt temasla bulaşarak hayvanlarda strese, verim düşüklüğüne ve anemiye neden olan ektoparazitler, ayrıca bakteriyel ve viral hastalıklara vektörlük yaparak önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik

kayıplara yol açabilirler (Özcel ve ark. 1997; Aksın ve ark. 2004). Pireler insan sağlığı açısından önemli olmaları ve büyük ekonomik kayıplara sebep olmaları yanı sıra evcil hayvanlardan kan emmeleri yoluyla da deride kaşıntı, kıl ve tüy dökülmesine neden olur ve aynı zamanda birçok hayvan hastalığının vektörlüğünü de yaparlar (Service 2012).



Pireler, Siphonaptera takımında yer alan ve erişkin dönemleri parazitlik yaşama adapte olmuş böceklerdir. Bugüne kadar *Ceratophylloidea*, *Leptopsyllidae*, *Tungidae*, *Pulicoidea* ailesindeki 246 soya ait 2575 farklı pire türü tanımlanarak bildirilmiştir. Pireler, insan ve diğer hayvanlara; alerjik reaksiyonlara sebep olarak, Yersina, Rickettsia, Bartonella gibi etkenlere vektörlük yaparlar ayrıca, *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis nana* ve *H.dimunata* gibi parazitlere ara konaklık yapması ve kan emmeleri sonucunda canlılara zarar verirler (Marrugal ve ark. 2013; Aydın ve Dumanlı 2016). Pireler sıcakkanlı canlılarda çoğunlukla memelilerde (%94) ve kuşlarda (%6) parazitlik yapmaktadır (Vuruşaner ve Gülanber 2015). Pirelerin gelişimi sıcaklığın artışı ile paralellik göstermektedir. Hava sıcaklığı düştüğünde pirelerin gelişimleri yavaşlamakta ve/veya gelişimleri durabilmektedir (Coşkun ve Çetin 2018).

Dünyada yapılmış olan farklı araştırmalarda köpeklerde %5.5-77.5 oranlarında pire enfestasyonlarının olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde ise 25 pire türüne rastlanıldığı bildirilmiştir (Kalvelage ve Munster 1991; Karaer ve ark. 1997; Cruz-Vazquez ve ark. 2001; Krämer ve Mencke 2001; Chee ve ark. 2008; Beugnet ve Marie 2009; Klimpel ve ark. 2010; Otranto ve ark. 2012; Vuruşaner ve Gülanber 2015; Ebrahizade ve ark. 2016; Galvez ve ark. 2017; Krishna Murthy ve ark. 2017; Shukullari ve ark. 2017; Oğuz ve Değer 2019).

Pireler sokak köpeklerinde sık görülen ektoparazitler olmasının yanı sıra, bazı önemli hastalıklara vektörlük yapması sonucu ortaya çıkacak risklerden dolayı önem arz etmektedir. Bu çalışma ile Van İli'nin farklı yerlerinden hayvan barınağına getirilen sokak köpeklerinde pire yaygınlığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışma materyalini oluşturan pireler 01.05.2022 ile 03.10.2022 tarihleri arasında Van Büyükşehir Belediyesi Hayvan Barınağı'nda bulunan köpeklerden toplanmıştır. Örneklerin toplanması ve çalışmanın yürütülmesi için onaylar Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 30/06/2022 tarih ve 2022/06-04 sayılı izin alınarak yapılmıştır. Köpeklerde pirelerin yaygın olarak bulunduğu boyun ve genital bölgeleri olmak üzere saf etil alkol spreyleme şeklinde kullanılarak pireler toplanmıştır. Köpeklerin tüy yapısına bağlı olarak tarakla taranmış ardından beyaz bir zemin üzerine dökülen pireler pens ile toplanmıştır. Toplanan pire örnekleri Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı'nda tür teşhisleri yapılana kadar %70 alkol bulunan tüplerde +4°C derecede muhafaza edilmiştir. Laboratuvara getirilen pireler 3-5 gün %10'luk KOH'de bekletilerek şeffaflaşmaları sağlanmıştır. Potasyum hidroksit ile şeffaflandırma işleminden sonra distile su ve alkol derivasyonlarından geçirilmiştir. Kanada balsam pireler lam üzerine sabitlenerek preparat haline getirilmiştir. Daha sonra mikroskop altında incelendi ve ilgili literatürler yardımı ile tür tayinleri yapıldı (Skalon 1970; Soulsby, 1986; Pratt ve Stojanovich 1992; Durden ve Hinkle 2009).

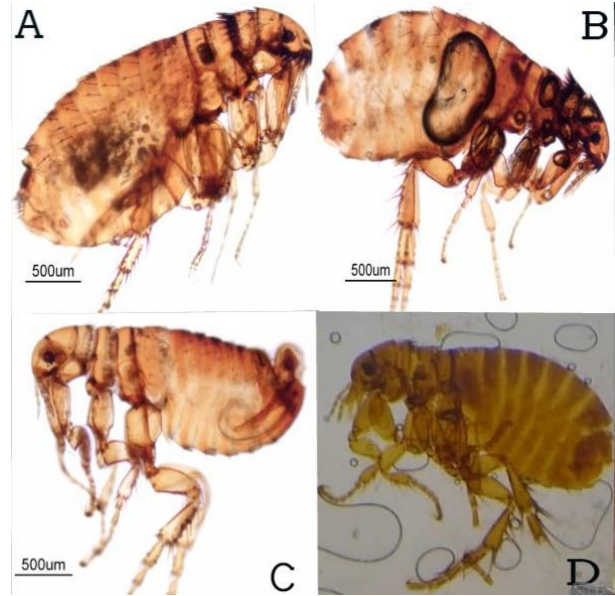
İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (Versiyon. 26) paket programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz olarak pire türleri arasındaki ilişki Ki kare testi ile belirlenmiştir. Tanımlayıcı istatistikler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR

Araştırma süresince incelenen 318 köpeğin 149 (%46.86)'unda pire enfestasyonu belirlenmiştir. Enfeste olan bu köpeklerden toplam 889 adet pire toplanmıştır. Toplanan pire örneklerinin morfolojik özellikleri esas alınarak teşhis anahtarlarına göre (Skalon 1970; Soulsby, 1986; Pratt ve Stojanovich 1992; Durden ve Hinkle 2009) teşhisleri yapılmış olup, çalışmada *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans* ve *Ceratophyllus gallinea* olmak üzere 4 pire türü teşhis edilmiştir (Şekil 1).

Pireler tür bazında *C. canis* %25.12, *C. felis* %19.18, *P. irritans* %11 ve *Ceratophyllus gallinea* %3.46 olarak tespit edilmiştir (Tablo 1).



Şekil 1: A: *Ctenocephalides canis*, B: *Ctenocephalides felis*, C: *Pulex irritans* ve D: *Ceratophyllus gallinea*.

Figure 1: A: *Ctenocephalides canis*, B: *Ctenocephalides felis*, C: *Pulex irritans* and D: *Ceratophyllus gallinea*.

Çalışmada incelenen 318 köpekten toplanan pirelerin erkek/dişi oranları; *Ctenocephalides canis* türünde 1/2.46, *Ctenocephalides felis* 1/3.05, *Pulex irritans*; 1/2.94, *Ceratophyllus gallinea*; 1/2.88 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Tek tür, iki tür ve üç tür ile enfestasyon oranları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 1: Köpeklerden toplanan pire türlerinin prevalansı.

Table 1: Prevalence of flea species collected from dogs.

Ektoparazit	Enfeste Hayvan Sayısı	(%) Prevalans	p
<i>Ctenocephalides canis</i>	80	25.12	
<i>Ctenocephalides felis</i>	61	19.18	
<i>Pulex irritans</i>	35	11	0.001*
<i>Ceratophyllus gallinea</i>	11	3.46	
Toplam	187		

* Ki kare testi, Pire türlerine göre enfestasyon oranları arasında önemli bir farklılık vardır (p<0.001).

Tablo 2: Tespit edilen pire türlerinin toplam sayıları, yüzdeleri ve cinsiyetlerin dağılımları.**Table 2:** Total numbers, percentages and gender distribution of the flea species detected.

Ektoparazit	Dişi	Erkek	Toplam	Toplamdaki Payı (%)	Cinsiyet Oranı Erkek/Dişi	p
Pire (Genel)						
<i>Ctenocephalides canis</i>	312	127	439	49.38	1/2.46	0.599*
<i>Ctenocephalides felis</i>	262	86	348	39.15	1/3.05	
<i>Pulex irritans</i>	53	18	71	7.98	1/2.94	
<i>Ceratophyllus gallinae</i>	23	8	31	3.49	1/2.88	
Toplam	650	239	889	100		

*Ki kare testi, Pire türü ile cinsiyetler arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. (p>0.05).

Tablo 3: Enfeste köpeklerin tek, iki ve üç pire türleri ile enfestasyon oranları.**Table 3:** Infestation rates of infested dogs with single, two and three flea species.

Tür	Enfeste köpek sayısı	Tek tür ile enfestasyon yüzdesi (%)
<i>Ctenocephalides canis</i>	54	16.98
<i>Ctenocephalides felis</i>	37	11.64
<i>Pulex irritans</i>	17	5.35
<i>Ceratophyllus gallinae</i>	8	2.52
Toplam	116	36.47

Tür	Enfeste olan köpek sayısı	İki tür ile enfestasyon yüzdesi (%)
<i>Ctenocephalides canis</i> + <i>Ctenocephalides felis</i>	12	3.77
<i>Ctenocephalides canis</i> + <i>Pulex irritans</i>	7	2.20
<i>Ctenocephalides felis</i> + <i>Pulex irritans</i>	6	1.89
<i>Ctenocephalides canis</i> + <i>Ceratophyllus gallinae</i>	2	0.63
<i>Ctenocephalides felis</i> + <i>Ceratophyllus gallinae</i>	1	0.31
Toplam	28	8.80

Tür	Enfeste olan köpek sayısı	Üç tür ile enfestasyon yüzdesi (%)
<i>Ctenocephalides canis</i> + <i>Ctenocephalides felis</i> + <i>Pulex irritans</i>	5	1.57
Toplam	5	1.57

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyanın birçok yerinde köpeklerde pirelerin prevalansı ile ilgili farklı çalışmalar yapılmış olup, yapılan çalışmalarda farkı sonuçlar bildirilmiştir. Yunanistan'da 1995 yılında 129 köpekte yapılan bir çalışmada, *C. canis* %71.3, *C. felis* %40.3 ve *P. irritans* %0.8 oranında bulunmuştur (Koutinas ve ark. 1995). Şili'nin Santiago, Conception ve Osorno adlı üç bölgesinde 150 adet köpekte yapılan çalışmada *C. felis* %41.8, *C. canis* %39.4 ve *P. irritans* %18.8 oranında bulunmuştur (Jamshidi ve ark. 2012). Arjantin'de 116 köpek üzerinde yürütülen bir çalışmada *C. canis* %15.7 oranında bulunmuştur (González ve ark. 2004). Almanya'nın üç farklı bölgesinde bulunan 12 farklı veteriner kliniğinde taranan 1922 köpekte pire enfestasyon oranı %5.13 olarak tespit edilmiştir. Toplanan pirelerin tür dağılımı *C. felis* %73.2, *C. canis* %17.6, *Archaeopsylla erinacei* %4.3, *Pulex irritans* %3.5 *Ceratophyllus gallinae* %0.4, *Ceratophyllus garei* %0.2 ve

Megabothris spp. %0.4 olarak tespit edilmiştir (Beck ve ark. 2006). İtalya'nın güney bölgesinde 1376 köpekte %16.3 oranında *C. felis* ve %1.5 oranında *C. canis* tespit edilmiştir (Rinaldi ve ark. 2007). 2005 yılında Birleşik Krallık'ta köpeklerde pire istilasına ilişkin yapılan araştırmada, farklı veteriner kliniklerine getirilen 2653 köpekte pire enfestasyon oranı %6.82 oranında bulunmuş, türlere göre pire dağılım oranları; *C. felis* %93.1, *C. canis* %1.5, *P. irritans* %1.5 ve *Ceratophyllus fasciatus* %0.3 olarak tespit edilmiştir (Bond ve ark. 2007). İspanya'da 2008 yılında yapılan çalışmada, farklı bölgelerden getirilen 744 sokak köpeğinden pirelerin türleri; *C. felis* %88.2, *C. canis* %10.4, *P. irritans* %1.5 ve *Echidnophaga gallinacea* %0.1 olarak bildirilmiştir (Gracia ve ark. 2008). Arnavutluk'ta yapılan bir araştırmada 181 köpek taranmış; pire oranı %75.7 olarak tespit edilmiştir. Tespit edilen pirelerin türlere göre dağılımları; *C. canis* %75.7, *C. felis* %5 ve *P. irritans* %8.3 olarak bildirilmiştir (Xhaxhiu ve ark. 2009). Brezilya'da 2009 yılında yapılan çalışmada 41 köpekten toplanan pirelerin %43.9'u *C. felis* olarak tespit

edilmiştir (Dantas-Torres ve ark. 2009). Macaristan'ın şehir merkezinde ve kırsal alanında yaşayan ayrıca farklı veteriner kliniklerine getirilen 2267 köpekten toplanan pire enfestasyon oranı %14.1 olarak bulunmuştur. Tür dağılım oranları; *C. canis* %68.6, *C. felis* %29.5 ve *P. irritans* %1.9 oranında bildirilmiştir (Farkas ve ark. 2009). Etiyopya'nın güneyinde yapılan başka bir çalışmada ise köpeklerden toplanan pire türleri *C. felis* %82.9, *C. canis* %73.8 ve *P. irritans* %2.5 olarak bildirilmiştir (Kumsa ve Mekonnen 2011). 2012'de İran ve Irak'ın sınır bölgesinde sokak köpeği, çoban köpeği, ev köpeği, av köpeği ve bekçi köpeklerinden oluşan çalışmada 802 köpek taranmış; *C. canis* %28.9, ve *C. felis* %2.4 oranında tespit edilmiştir (Bahrami ve ark. 2012). Yunanistan'da 2016 yılında yapılan diğer bir çalışmada ise 242 köpek muayene edilmiş; *C. felis* %46.28 ve *C. canis* %43.8 oranlarında tespit edilmiştir (Lefkaditis ve ark. 2016). Bu çalışmada taranan 318 köpekten tespit edilen pire enfestasyon oranı; %46.86 olarak tespit edilmiştir. Dünyada yapılan araştırmalarda pire türleri dağılımı %5.5-77.5 arasında bir oran göstermekte olup, çalışmamız ile paralellik göstermektedir (Rinaldi ve ark. 2007; Chee ve ark. 2008; Klimpel ve ark. 2010; Tüzer ve ark. 2010; Salant ve ark. 2014; Lefkaditis ve ark. 2015; Ebrahimzade ve ark. 2016; Thomas ve ark. 2016; Galvez ve ark. 2017; Krishna Murthy ve ark. 2017; Shukullari ve ark. 2017).

Türkiye'nin farklı bölgelerinde pirelerin tür çeşitliliği ve yaygınlığı üzerinde yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Konya ilinde 50 köpeğin taranması sonucunda *C. canis* %92 ve *P. irritans* ise %20 oranında bulunmuştur (Aydenizöz ve Köse 1997). İstanbul'da 50 köpek üzerinde yapılan çalışmada; *C. felis* %74, *C. canis* %4 ve *P. irritans* %2 oranında bulunmuştur (Gülanber ve ark. 2002). Erzurum'da yapılan çalışmada 48 sokak köpeği taranmış ve köpeklerde pire enfestasyon oranı %35.4 oranında bulunmuştur. Pirelerin tür bazında %88.2'si *C. canis* ve *C. felis* ise %11.8 oranında tespit etmiştir (Aldemir 2007). Antalya'da yapılan çalışmada 27 sahipli köpekten pire taraması yapılmış olup, *C. felis* %70.4, ve *C. canis* %18.5 oranında tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *C. felis* ve *C. canis* aynı köpekte enfestasyon oranı da %11.1 olarak bildirilmiştir (Coşkun ve Çetin, 2018). Hatay ilinde yapılan bir çalışmada köpeklerde pire enfestasyon oranı %78.7 oranında bulunmuş olup tür olarak *C. canis* %74'ü ve *C. felis* %26 oranında bildirilmiştir (Akküçük ve ark. 2019). Muğla ilinin Datça ilçesinde, sahipli 142 adet köpek taranmış pire enfestasyon oranı %19 oranında bulunmuş ve pirelerin *C. felis* %73.7, *C. canis* %22.8 ve *P. irritans* %3.5 olarak tespit edilmiştir (Acıöz ve Aydın 2020).

Türkiye ve dünya genelinde köpeklerde pirelerin prevalansı ile ilgili yapılan çalışmalarda yoğunlukta olan türler *C. canis*, *C. felis* ve *P. irritans*'tir. Bu çalışmada taranan 318 köpekten elde edilen pire enfestasyon oranı; %46.86 bulunurken, tür bazında; *C. canis* %25.12, *C. felis* %19.18, *P. irritans* %11 ve *Ceratophyllus gallinae* %3.46 oranında tespit edilmiştir. Ayrıca köpeklerden elde edilen pirelerin tek tür, iki tür ve üç tür ile enfestasyon oranları tespit edilmiş olup, elde edilen bu veriler bir köpeğin birden fazla pire türü ile enfeste olabileceğini göstermektedir. Türkiye'nin farklı yerlerinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da köpeklerin pire türleri ile enfeste olma oranları arasında farklılıklar görülmektedir. Ortaya çıkan bu farklılıkların nedeni tam olarak tespit edilmemiş olmakla beraber bazı bilim insanları bu sonucun *C. felis*'in ilaçlara basit bir şekilde direnç oluşturabildiği; *C. canis*'in ise dış etkenlere daha kolay uyum sağlayabildiği gibi tezler ileri sürmektedir (Durden ve Hinkle 2009).

Avrupa piresi olarak bilinen *Ceratophyllus gallinae* kanatlılarda parazitlenen bir pire türüdür. Almanya'da yapılan birkaç araştırmada hem köpek hem de kedide *C. gallinae* bildirilmiştir (Liebisch 1985; Beck ve ark., 2006; Gilles 2008). Kendi konaklarında kan emmedikleri zaman başka konak tercih edebilirler. Türkiye'de yapılan bir çalışmada bir baykuşta *C. gallinae* ürünü tespit edildiği bildirilmiştir (Yılmaz ve ark. 2017). Bu çalışmada, *C. gallinae* piresinin bulunması bu pirenin asıl konakları olan kanatlı hayvanların dışında da bulunabileceğini göstermekte olup, çalışmaya bir özgünlük katmıştır. Sonuç olarak pireler bazı hastalıklara vektörlük yapmalarından dolayı gerek hayvan sağlığı gerekse halk sağlığı açısından önemlidir. Bu nedenle pirelerin yaygınlığı ile ilgili veriler tespit edilmesi, özellikle taşımış oldukları hastalıkların kontrolü kapsamında yapılacak çalışmalarda önem arz edeceği kanısındayız.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu çalışma Ömer ERDEMİR isimli yazarın yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: VD
Denetleme/Danışmanlık: VD
Veri Toplama ve/veya İşleme: ÖE
Analiz ve/veya Yorum: VD, AK, ÖE
Makalenin Yazımı: VD, AK
Eleştirel İnceleme: VD, AK

KAYNAKLAR

- Acıöz M, Aydın MF (2020). Türkiye'nin Muğla ili Datça ilçesinde sahipli köpeklerde pire enfestasyonları. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 31 (1), 70-74.
- Akküçük Ş, Kaya ÖM, Karagöz M, Zerek A, Yaman M (2019). Antakya hayvan barınağındaki kedi ve köpeklerde bit ve pire enfestasyonları. *Van Vet J*, 30 (1), 37-40.
- Aksın N, Erdoğan Z, Aksın E (2004). İki koyun çiftliğinde yaşayan insan ve hayvanlarda bulunan pire türleri ve bunların kontrolleri. *Türkiye Parazit Derg*, 28 (3), 146-149.
- Aldemir OS (2007). Epidemiological study of ectoparasites in dogs from Erzurum region in Turkey. *Rev Med Vet*, 158 (3), 148-151.
- Aydenizöz M, Köse M (1997). Prevalence of ectoparasites of dogs in Konya province. *Türkiye Parazit Derg*, 21, 321-325.
- Aydın MF, Dumanlı N. (2016) Köpek ve Kedilerde Görülen Parazit Hastalıkları-Pire Enfestasyonları. Özcel MA. ed. Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları, Türkiye Parazitoloji Derneği, META Basım, İzmir. s.1290-1294.
- Bahrami AM, Doosti A, Ahmady Asbchin S (2012). Cat and dogs ectoparasite infestations in Iran and Iraq boarder line area. *World Appl Sci J*, 18 (7), 884-889.
- Beck W, Boch K, Mackensen H, Wiegand B, Pfister K (2006). Qualitative and quantitative observations on the flea population dynamics of dogs and cats in several areas of Germany. *Vet Parasitol*, 137 (1), 130-136.
- Beugnet F, Marié JL (2009). Emerging arthropod-borne diseases of companion animals in Europe. *Vet Parasitol*, 163 (4), 298-305.
- Bond R, Riddle A, Mottram L, Beugnet F, Stevenson R (2007). Survey of flea infestation in dogs and cats in the United Kingdom during 2005. *Vet Rec*, 160 (15), 503-506.
- Chee JH, Kwon JK, Cho HS et al. (2008). A survey of ectoparasite infestations in stray dogs of Gwang-ju City, Republic of Korea. *Korean J Parasitol*, 46 (1), 23-27.
- Coşkun G, Çetin H (2018). Kış aylarında evcil kedi ve köpeklerdeki pire (Siphonaptera: Pulicidae) enfestasyonları ile ilgili Antalya, Türkiye'den bir araştırma. *Türkiye Parazit Derg*, 42 (4), 277-280.

- Cruz-Vazquez C, Castro Gamez E, Parada Fernandez M, Ramos Parra M (2001).** Seasonal occurrence of *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) infesting dogs and cats in an urban area in Cuernavaca, Mexico. *J Med Entomol*, 38 (1), 111-113.
- Dantas-Torres F, Melo MF, Figueredo LA, Brandão-Filho SP (2009).** Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of São Vicente Férrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 18, 75-77.
- Durden LA, Hinkle NC (2009).** Fleas (Siphonaptera). In: Medical and Veterinary Entomology. Mullen GR, Durden LA, editor. Academic Press, San Diego, USA. 115-136.
- Ebrahimzade E, Fattahi R, Ahoob MB (2016).** Ectoparasites of stray dogs in Mazandaran, Gilan and Qazvin Provinces, north and center of Iran. *J Arthropod Borne Dis*, 10 (3), 364-369.
- Farkas R, Gyurkovszky M, Solymosi N, Beugnet F (2009).** Prevalence of flea infestation in dogs and cats in Hungary combined with a survey of owner awareness. *Med Vet Entomol*, 23 (3), 187-194.
- Galvez R, Montoya A, Checa R et al. (2017).** Flea species infesting dogs in Spain: updated spatial and seasonal distribution patterns. *Med Vet Entomol*, 31 (1), 107-113.
- Gilles J ve ark. (2008).** Rickettsia felis in fleas, Germany. *Emerg Infect Dis*, 14(8): 1294.
- González A, del C Castro D, González S (2004).** Ectoparasitic species from *Canis familiaris* (Linné) in Buenos aires province, Argentina. *Vet Parasitol*, 120 (1-2), 123-129.
- Gracia MJ, Calvete C, Estrada R et al. (2008).** Fleas parasitizing domestic dogs in Spain. *Vet Parasitol*, 151 (2-4), 312-319.
- Gülanber A, Tüzer E, Keleş V (2002).** Flea infestations of dogs in İstanbul, Turkey. *Istanbul Univ Vet Fak Derg*, 28 (1), 219-225.
- Jamshidi S, Maazi N, Ranjbar-Bahadori S et al. (2012).** A survey of ectoparasite infestation in dogs in Tehran, Iran. *Rev Bras Parasitol Vet*, 21 (3), 326-329.
- Kalvelage H, Munster M (1991).** *Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis* infestations of dogs and cats. Biology of the agent, epizootiology, pathogenesis, clinical signs, diagnosis and control. *Tierarztl Prax*, 19 (2), 200-206.
- Karaer Z, Yukarı BA, Aydın L (1997).** Türkiye Keneleri ve Vektörlükleri. Özcel MA, Daldal N. (eds). Parazitoloji'de Arthropod Hastalıkları ve Vektörler, İzmir, Ege Üniversitesi Basımevi, pp. 363-458.
- Klimpel S, Heukelbach J, Pothmann D, Ruckert S (2010).** Gastrointestinal and ectoparasites from urban stray dogs in Fortaleza (Brazil): high infection risk for humans? *Parasitol Res*, 107 (3), 713-719.
- Koutinas AF, Papazahariadou MG, Rallis TS, Tzivara NH, Himonas CA (1995).** Flea species from dogs and cats in northern Greece: environmental and clinical implications. *Vet Parasitol*, 58 (1-2), 109-115.
- Krishna Murthy CM, Ananda KJ, Adeppa J (2017).** Prevalence of ectoparasites in dogs of Shimoga, Karnataka. *J Parasit Dis*, 41 (1), 167-170.
- Kumsa BE, Mekonnen S (2011).** Ixodid ticks, fleas and lice infesting dogs and cats in Hawassa, southern Ethiopia. *Onderstepoort J Vet Res*, 78 (1), 1-4.
- Lefkaditis MA, Athanasiou LV, Ionică AM et al. (2016).** Ectoparasite infestations of urban stray dogs in Greece and their zoonotic potential. *Trop Biomed*, 33 (2), 226-230.
- Lefkaditis MA, Sossidou AV, Panorias AH et al. (2015).** Urban stray cats infested by ectoparasites with zoonotic potential in Greece. *Parasitol Res*, 114 (10), 3931-3934.
- Liebisch A, Brandes R, Hoppenstedt K (1985).** Tick and flea infections of dogs and cats in the German Federal Republic.
- Marrugal A, Callejon R, de Rojas M, Halajian B, Cutillas C (2013).** Morphological, biometrical, and molecular characterization of *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* isolated from dogs from different geographical regions. *Parasitol Res*, 112 (6), 2289-2298.
- Oğuz B ve Değer S (2019).** PCR detection of *Anaplasma phagocytophilum* in stray Dogs in Batman, Turkey. *Van Vet J*, 30 (3), 183-185.
- Otranto D, Dantas-Torres F, Tarallo VD et al. (2012).** Apparent tick paralysis by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs. *Vet Parasitol*, 188 (3), 325-329.
- Özcel MA, Daldal N (1997).** Parazitoloji'de Arthropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, 13.
- Pratt HD, Stojanovich CJ. (1992).** Fleas: Illustrated Key to Species Found During Plague Investigations. In: CDC pictorial keys, arthropods, reptiles, birds and mammals of public health significance US Department of Health Education and Welfare. Public Health Service. Reprinted in, 171-174.
- Rinaldi L, Spera G, Musell V et al. (2007).** Survey of fleas on dogs in southern Italy. *Vet Parasitol*, 148 (3-4), 375-378.
- Salant H, Mumcuoğlu KY, Baneth G (2014).** Ectoparasites in urban stray cats in Jerusalem, Israel: differences in infestation patterns of fleas, ticks and permanent ectoparasites. *Med Vet Entomol*, 28 (3), 314-318.
- Service MW (2012).** Medical Entomology for Students. Fifth Edition. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press. ISBN: 978-1-107-66818-8.
- Shukullari E, Rapti D, Visser M, Pfister K, Rehbein S (2017).** Parasites and vector-borne diseases in client-owned dogs in Albania: infestation with arthropod ectoparasites. *Parasitol Res*, 116 (1), 399-407.
- Skalon OI (1970).** Order Siphonaptera (Aphaniptera, Suctoria)-fleas. In: G.Y. Bei-Bienko (ed.) Identification key to the insects of the European part of the USSR. 5, part 2. Diptera, Siphonaptera. Nauka, Leningrad: 799-844 (in Russian).
- Soulsby E.J.L. (1986).** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domestic Animals, 7th ed. pp. 807, Bailliere, Tindall, London, UK.
- Thomas JE, Staubus L, Goolsby JL, Reichard MV (2016).** Ectoparasites of free-roaming domestic cats in the central United States. *Vet Parasitol*, 228, 17-22.
- Tüzer E, Muz MN, Bilgin Z, Erçin S, Tınar R (2010).** Fipronil damlatma çözeltisinin kedi ve köpeklerde pirelere ve köpeklerde kenelere etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (3), 469-472.
- Vuruşaner C, Gülanber A (2015).** Siphonaptera: (Pireler). Karaer Z, Dumanlı N. eds. (Edit.) Arthropodoloji. Ankara: Medisan yayın Serisi. 81. Birinci Baskı, 265-279.
- Xhaxhiu D, Kusi I, Rapti D et al. (2009).** Ectoparasites of dogs and cats in Albania. *Parasitol Res*, 105 (6), 1577-1587.
- Yılmaz AB, Göz Y, Denizhan V ve ark. (2017).** Türkiye'de Bir Baykuş'ta (Athene Noctua) Ceratophyllus Gallinae (Siphonaptera/Ceratophyllidae). International Congress on New Trends in Science, Engineering and Technology (pp.287). Barcelona, Spain.



Çöven Ekstraktı, Tahin, Saponin ve Sesaminin Tip 2 Diyabetik Farelerde Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Tuğba Melike PARLAK^{1,*} Büyamin TRAŞ¹ ¹Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 42130, Konya, Türkiye

Geliş Tarihi: 10.05.2024

Kabul Tarihi: 16.07.2024

ÖZ

Çalışmanın amacı farelerde deneysel olarak oluşturulan tip 2 diyabetes mellitus (T2DM)'de sesamin, saponin, sesamin+saponin, tahin, çöven ekstrektı ve tahin+çöven ekstrektı uygulamalarının aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), kan üre nitrojen (BUN) ve kreatinin düzeylerine etkisini belirlemektir. Araştırmada 92 adet Swiss albino erkek fare kullanıldı. Sekiz adet fare sağlıklı kontrol (SK) grubu için ayrıldıktan sonra diğer hayvanlarda yüksek yağlı besleme ve streptozotocin (STZ) uygulaması yapılarak T2DM oluşturuldu. T2DM oluşturulan 84 adet fare 7 gruba ayrılarak diyabet kontrol (DK), sesamin (D+SS), saponin (D+SP), sesamin+saponin (D+SS+SP), tahin (D+T), çöven ekstrektı (D+Ç) ve tahin+çöven ekstrektı (D+T+Ç) 2 hafta süresince uygulandı. Deney süresi sonunda anestezi altında kanları alınarak serum örnekleri toplanan fareler ötenazi edildi. Serum AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeyleri otoanalizörde ölçüldü. AST düzeyi D+SP grubunda yüksek ($p<0.05$), D+SP, D+T ve DK gruplarında ise birbiri ile benzer bulundu ($p>0.05$). SK grubu AST düzeyi ise DK, D+SP, D+SS+SP ve D+T gruplarından düşük belirlendi ($p<0.05$). DK ile D+SP grupları ALT düzeyleri birbiri ile benzer bulunurken ($p>0.05$), diğer araştırma gruplarından farklı tespit edildi ($p<0.05$). SK ile DK grupları BUN değerleri birbiri ile benzer bulunurken ($p>0.05$), iki grubun BUN değerlerinin diğer gruplardan farklı olduğu belirlendi ($p<0.05$). SK, DK, D+SP ve D+T gruplarının kreatinin düzeyleri birbiri ile benzer ($p>0.05$) olarak tespit edilirken, diğer gruplardan farklı olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). Sonuç olarak uygulanan maddelerin T2DM'de karaciğer ve böbrek fonksiyonu üzerine olumlu etkileri olabileceği ifade edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Çöven, Diyabet, Tahin.

ABSTRACT

Effect of *Gypsophila* Extract, Tahini, Saponin and Sesamin on some Biochemical Parameters in Type 2 Diabetic Mice

The study aims to determine the effects of sesamin, saponin, sesamin+saponin, tahini, gypsophila extract and tahini+gypsophila extract on aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN) and creatinine levels in experimentally induced type 2 diabetes (T2DM) in mice. 92 Swiss albino male mice were used. After 8 mice were separated as healthy control (HC) group, T2DM was induced by high-fat feeding and streptozotocin (STZ) application. 84 T2DM mice were divided into 7 groups; diabetes control (DC), sesamin (D+SS), saponin (D+SP), sesamin+saponin (D+SS+SP), tahini (D+T), *gypsophila* extract (D+C) and tahini+*gypsophila* extract (D+T+C) were applied for 2 weeks. At the end of the research, the animals were euthanized and serum was obtained. Serum AST, ALT, BUN and creatinine levels were measured on an autoanalyzer. AST level was higher than D+SP group ($p<0.05$), but like D+SP, D+T and DC groups ($p>0.05$). The AST level of the HC group was lower than DC, D+SP, D+SS+SP and D+T groups ($p<0.05$). While the ALT levels of DC and D+SP groups were similar to others ($p>0.05$), they were different from the other groups ($p<0.05$). While the BUN values of HC and DC groups were similar ($p>0.05$), BUN values of the two groups were different from the other groups ($p<0.05$). While the creatinine levels of HC, DC, D+SP and D+T groups were like each other ($p>0.05$), they were different from the other groups ($p<0.05$). As a result, it can be stated that the applied substances may have positive effects on T2DM liver and kidney function.

Keywords: Diabetes, *Gypsophila*, Tahini.

GİRİŞ

Diyabetes mellitus birçok faktörün (genetik, çevresel, beslenme vs) etkilemesi ile ortaya çıkan insülin salınımı, biyolojik etkinliği veya her ikisindeki eksiklikler ile

karakterize, kontrolsüz hiperglisemi oluşumuna yol açan metabolik bir hastalık olarak kabul edilir (WHO 2006). Canlıda birçok metabolizmayı (karbonhidrat, lipid, protein) etkileyen bu hastalık iyi yönetilemediği takdirde birçok önemli komplikasyona yol açabilmektedir (Uludağ



2010). Toplumların yaşam tarzındaki hızlı değişiklikler çeşitli hastalıkların gelişimine de zemin hazırlayan diyabetin son yıllarda en önemli sağlık problemlerinden biri olacağını göstermektedir (IDF 2019).

Diyabetes mellitus tanısında genellikle kan glukoz ve glikozile hemoglobin (HbA1c) düzeylerinden faydalanılmaktadır. Sekiz saat veya daha uzun süren açlık sonrasında ölçülen açlık plazma glukozu düzeyi 100-125 mg/dl olduğu durumlar bozulmuş açlık plazma glukozu olarak tanımlanırken, >126 mg/dl düzeyi ise diyabet tanısı olarak kabul edilmektedir. Ayrıca rastgele zamanda yapılan ölçümlerde plazma glukozunun ≥ 200 mg/dl üzerinde tespit edildiği durumlar ve buna hipergliseminin klinik semptomlarının da belirgin şekilde eşlik ettiği vakalara da diyabet tanısı konmaktadır (ADA 2020).

Tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) hiperglisemi, periferik insülin direnci ve insülinin bozulmuş sentez ve sekresyonu ile ilişkili metabolik bir hastalıktır (Kaul ve ark. 2012). Dünya genelinde tüm diyabet vakalarının %90-95'ini oluşturur (ADA 2020) ve genetik veya çevresel pek çok faktörden etkilenerek gelişen karmaşık bir süreç olarak tanımlanır (DeFronzo ve ark. 2015). T2DM hastalarında pankreasta sentezlenen ve salınan insülin etkin şekilde kullanılamamaktadır. Bu durumda ise pankreas beta hücreleri daha fazla miktarda insülin sentezlemektedir. Ancak ilerleyen dönemlerde kompenzasyon mekanizması yetersiz kalmakta ve glisemik kontrol sağlanamadığından kalıcı bir hiperglisemi oluşmaktadır (Kahn ve Flier 2000; Shulman 2000).

Diyabetes mellitus ile gelişen hiperglisemi uygun şekilde kontrol altına alınmadığında hastalarda birçok komplikasyona veya organ (kalp, böbrek, sinir sistemi vs) hasarlarına neden olabilmektedir (Rewers 2018). Organlarda gelişen fonksiyon bozuklukları ise kan, serum veya plazmadan ölçülebilen bazı parametreler ile anlaşılabilir. Bir canlıda yüksek serum veya plazma alanin aminotransferaz (ALT) ve aspartat aminotransferaz (AST) düzeyleri karaciğer hasarını tanımlarken, yüksek kan üre nitrojen (BUN) ile kreatinin düzeyleri ise böbrek yetmezliğini tanımlamaktadır (Turgut 2000).

T2DM tedavisinde ilaç uygulaması, diyet ve egzersiz uygulamaları önerilmektedir. Kesin tedavisi bulunmamakla birlikte gerekli uygulamalar yapıldığında hastalarda yaşam kalitesi daha konforlu devam edilmektedir (Turan ve Kulaksızoğlu 2015). T2DM tedavisinde genellikle insülin duyarlılığını arttırmak için biguanidler veya tiyazolidinedionlar kullanılmaktadır. Biguanidler bu etkilerini özellikle karaciğer düzeyinde gösterirken tiyazolidinedionlar ise çizgili kas ve yağ dokusu gibi periferik dokular düzeyinde insülin duyarlılığını arttırmaktadır (Şenyiğit ve Kanat 2017).

T2DM tedavisinde modern farmakolojik ilaçlar yanında tedaviye destek olarak bazı bitkisel ürünler kullanılabilmektedir (Zheleva-Dimitrova ve ark. 2018; Heshmati ve ark. 2021). Susam tohumları E vitamini, çöklü doymamış yağ asitleri, sesamin, sesamolin gibi biyoaktif lignanlar açısından oldukça zengin olduğu (Andargie ve ark. 2021; Nagar ve Agrawal 2022), kan glukoz düzeyini azaltıcı etkiler gösterebileceği (Ghoreishi ve ark. 2022) ve diyabet sürecinde sesamin alımının hasta üzerinde olumlu etkiler gösterebileceği ifade edilmiştir (Bigoniya ve ark. 2012). Diğer yandan çöven bitkisinin kök ve rizomlarının kaynatılması sonucu elde edilen çöven ekstrektü ana bileşeninin hipoglisemik etki gösteren saponinler olduğu (Yücekutlu ve Bildacı 2008) ve saponinlerin alfa-glukozidaz inhibisyonu ile postprandiyal hiperglisemiyi baskılayarak antidiyabetik etki gösterebileceği

bildirilmiştir (Luo ve ark. 2008). T2DM hastalığında birçok metabolik değişiklik yanında karaciğer ve böbrek fonksiyonlarının olumsuz yönde değişebileceği ifade edilmiştir (Rewers 2018).

Bu çalışmada sesamin, saponin, tahin ve çöven ekstraktının T2DM'de değişebilen karaciğer ve böbrek fonksiyonlarına olumlu etkiler gösterebileceği hipoteze edildi. Bu çalışmanın amacı farelerde deneysel olarak T2DM'de sesamin, saponin, sesamin+saponin, tahin, çöven ekstraktı ve tahin+çöven ekstraktı uygulamalarının serum AST, ALT, BUN ve kreatinin düzeylerine etkisini belirlemektir.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali ve Kimyasallar

Çalışmanın tüm protokolleri Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Tarih: 28/08/2020; Karar No: 2020/36 ve Tarih: 24/09/2021; Karar No: 2020/36(Ek-1)) tarafından onaylandı. Araştırma için hayvan materyali olarak Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden Swiss albino ırkı 6 haftalık 48 adet erkek fare (30-35 g) temin edildi. Altı adet fare sağlıklı kontrol grubu için ayrıldı. Farelerin sağlık durumları çalışma öncesinde kontrol edildi. Çalışma süresince hayvanlar polisulfon yapıdaki kafeslerde, 24 ± 1 °C, %60 atmosferik nemli ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlığın sağlandığı ortamda barındırıldı. Sağlıklı kontrol grubundaki hayvanlar ticari fare yemi (ham protein %25, ham selüloz %7.69, ham kül %7.70, ham yağ %2.04) ile beslenirken diyabet gruplarındakiler ise yüksek yağlı yem (%58 yağ, %25 karbonhidrat, %17 protein) ile beslendi (Bas ve ark. 2012). Çalışma kapsamındaki farelerde Yu ve ark. (2017) tarafından önerilen metoda göre deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturuldu. Bu metoda göre 6 haftalık yaşa gelen fareler 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslendi. Bu süre sonunda çoklu düşük doz (1. gün 50 mg/kg, periton içi, 2.-7. günler 25 mg/kg, periton içi) streptozotosin (STZ, Sigma- Aldrich, Almanya) uygulaması ardından kuyruk ucundan alınan kan ile ölçülen açlık kan glukoz konsantrasyonları 250 mg/dl den yüksek olan fareler tip 2 diyabetik olarak kabul edildi. STZ'den kaynaklanan hipogliseminin ölümcül sonuçlarından kaçınmak için STZ enjeksiyonundan itibaren farelere 6 gün süresince %10'luk sükröz içeren içme suyu sağlandı. Sesamin (TCI, Japonya), %1'lik karboksimetilselüloz (TCI, Japonya) içerisinde 10 mg/ml konsantrasyonda çözdürülerek uygulamaya hazır hale getirildi. Saponin (Medicago AB, Uppsala, İsveç) 10 mg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde distile suda çözdürüldü ve uygulamaya hazır hale getirildi. Çöven otu kökünün sulu ekstraktı 130 mg/ml konsantrasyonunda ticari bir firmadan (Kalealtı Çöğen Kuruyemiş İth. İhr. San. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) temin edildi. Literatür bilgilerinde üreticilerden temin edilen çöven ekstraktlarında %0.56-1.63 oranında saponin bulunduğu ifade edilmiştir (Battal ve ark. 2003). Uygulama miktarları üretici firmanın verdiği içerik bilgisi doğrultusunda çöven ekstraktının içerdiği saponin yüzdesine göre hesaplandı. Tahin (Gesaf Genel Gıda San. ve Tic. A.Ş., Konya, Türkiye) %100 susam tohumlarından üretilmektedir. Literatürlerde susam tohumunda 6824 mg/kg sesamin bulunduğu ifade edilmiştir (Bozkurt 2006). Uygulama miktarları üretici firmanın verdiği içerik bilgisi doğrultusunda tahinin içerdiği sesamin miktarına göre hesaplandı.

Grupların Oluşturulması ve Örneklerin Toplanması

Grup SK (Sağlıklı Kontrol, n:6): Bu gruptaki fareler 17 haftalık yaşa ulaştıktan sonra gruptaki hayvanlara 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla serum fizyolojik (0.2 ml/fare) verildi. Bu grup negatif kontrol olarak kabul edildi.

Grup DK (Diyabet Kontrol, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla serum fizyolojik (0.2 ml/fare) verildi. Bu grup pozitif kontrol olarak kabul edildi.

Grup D+SS (50 mg/kg, gavaj yoluyla, sesamin, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 50 mg/kg sesamin verildi.

Grup D+SP (0.4 mg/kg, gavaj yoluyla, saponin, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 0.4 mg/kg dozunda saponin uygulaması yapıldı.

Grup D+SS+SP (50 mg/kg sesamin+0.4 mg/kg saponin, gavaj yoluyla, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 50 mg/kg sesamin ve 0.4 mg/kg saponin uygulandı.

Grup D+T (22.25 g/kg, gavaj yoluyla, tahin, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 22.25 g/kg tahin verildi.

Grup D+Ç (20 mg/kg gavaj yoluyla, çöven ekstraktı, n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 20 mg/kg dozunda sulu çöven ekstraktı verildi.

Grup D+T+Ç (22.25 g/kg tahin+20 mg/kg çöven ekstraktı, gavaj yoluyla n:6): Deneysel tip 2 diyabet modeli oluşturulan bu gruptaki farelere 2 hafta boyunca günde bir defa gavaj yoluyla 22.25 g/kg tahin ve 20 mg/kg çöven ekstraktı uygulandı.

İki hafta sonunda ketamin (90 mg/kg, periton içi, Ketazol %10 enj, Richter Pharma AG, Avusturya) ve ksilazin (10 mg/kg, periton içi, Xylazinbio %2 enj, Bioveta, Çek

Cumhuriyeti) anestezisi altındaki farelerin kalbinden kan alındı ve fareler servikal dislokasyon yolu ile sakrifiye edildi. Kanlardan serum örnekleri alınarak analize kadar derin dondurucuda (Operon Co LTD Ultra Low Temperature Freezer -86°C, Güney Kore) muhafaza edildi. Her gruptan 6 hayvana ait serum örneklerinden ALT, AST, BUN ve kreatinin düzeyleri otoanalizör (Abbott c8000, Chicago, USA) cihazı aracılığıyla ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin istatistiksel analizi SPSS 22.0 programı kullanılarak yapıldı. Araştırmadaki sağlıklı ve deney grupları hayvan sayısı güç analizi yapılarak belirlendi. Analizler her bir gruptan rastgele seçilen altı hayvan üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada düzeyleri incelenen rutin biyokimyasal parametrelerin (AST, ALT, BUN, kreatinin) her bir canlı türü için normal referans aralıkları varyasyonunun geniş olması, bu çalışmada elde edilen değerlerin diğer araştırmalar ile tartışılmasının parametrik veriler üzerinden yapılabilmesi için biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde ANOVA ve Post-hoc test olarak Duncan testi kullanıldı. Araştırma sonuçları ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak önem sınırı kabul edildi.

BULGULAR

Araştırmada ölçülen AST, ALT, BUN ve kreatinin değerleri Tablo 1'de sunuldu. En yüksek AST düzeyi D+SP grubunda belirlenirken ($p < 0.05$), D+SP, D+T ve DK grupları AST düzeyleri birbiri ile benzer belirlendi ($p > 0.05$). SK grubu AST düzeyi ise DK, D+SP, D+SS+SP ve D+T gruplarından düşük belirlendi ($p < 0.05$). En yüksek ALT düzeyleri DK ile D+SP gruplarında belirlenirken, bu iki grubun değerleri diğer araştırma gruplarından farklı tespit edildi ($p < 0.05$). SK ile DK grupları BUN değerleri birbirleri ile benzer tespit edilirken ($p > 0.05$), iki grubun BUN değerlerinin diğer gruplardan farklı olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). SK, DK, D+SP ve D+T gruplarının kreatinin düzeyleri birbirleri ile benzer ($p > 0.05$) olarak tespit edilirken, diğer gruplardan farklı ($p < 0.05$) olduğu gözlemlendi.

Tablo 1: Deneysel tip 2 diyabet oluşturulmuş farelerde sesamin, saponin, tahin, çöven ekstraktı ve kombinasyonlarının bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri (ortalama \pm SS).

Table 1: Effects of sesamin, saponin, tahini, *gyssophila* extract and their combinations on some biochemical parameters in mice with experimental type 2 diabetes (mean \pm SD).

Gruplar	Parametre			
	AST (U/l)	ALT (U/l)	BUN (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)
SK (n:6)	91.33 \pm 11.96 ^{ef}	35.50 \pm 8.17 ^c	27.83 \pm 2.40 ^a	0.45 \pm 0.10 ^a
DK (n:6)	172.83 \pm 26.40 ^{abc}	170.00 \pm 37.80 ^a	28.50 \pm 4.59 ^a	0.47 \pm 0.04 ^a
D+SS (n:6)	114.50 \pm 53.11 ^{def}	44.67 \pm 17.73 ^c	14.17 \pm 1.17 ^{cd}	0.13 \pm 0.07 ^b
D+SP (n:6)	216.17 \pm 70.63 ^a	160.33 \pm 63.10 ^a	20.00 \pm 1.26 ^b	0.46 \pm 0.04 ^a
D+SS+SP (n:6)	142.17 \pm 27.28 ^{bcd}	48.33 \pm 13.70 ^c	15.67 \pm 1.86 ^{cd}	0.14 \pm 0.12 ^b
D+T (n:6)	180.83 \pm 47.49 ^{ab}	90.67 \pm 24.21 ^b	16.83 \pm 3.19 ^c	0.46 \pm 0.17 ^a
D+Ç (n:6)	126.17 \pm 22.92 ^{cde}	39.33 \pm 20.75 ^c	13.17 \pm 2.23 ^d	0.13 \pm 0.05 ^b
D+T+Ç (n:6)	69.50 \pm 7.47 ^f	32.17 \pm 15.64 ^c	9.17 \pm 2.40 ^e	0.18 \pm 0.06 ^b

a, b, c, d, e, f: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak anlamlıdır (Duncan test, $p < 0.05$). SK: Sağlıklı Kontrol Grup, DK: Diyabet Kontrol Grup, D+SS: Diyabet+50 mg/kg Sesamin Grup, D+SP: Diyabet+0.4 mg/kg Saponin Grup, D+SS+SP: Diyabet+50 mg/kg Sesamin+0.4 mg/kg Saponin Grup, D+T: Diyabet+22.25 g/kg Tahin Grup, D+Ç: Diyabet+20 mg/kg Çöven Ekstraktı Grup, D+T+Ç: Diyabet+22.25 g/kg Tahin+20 mg/kg Çöven Ekstraktı Grup, AST: Aspartat Aminotransferaz, ALT: Alanin Aminotransferaz, BUN: Kan Üre Azotu.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabetes mellitus, dünya genelinde toplum sağlığını tehdit etmekte ve hızla yaygın hale gelmektedir. Türkiye’de ise 2019 yılı verilerine göre 20 ile 79 yaş arası diyabetli birey sayısı ve ülkedeki yaygınlık oranının 6.6 milyon (%12) olduğu bildirilmektedir (IDF 2019). Diyabet tedavisinde öncelikle kan glukoz düzeyini kontrol altına alan ve hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan faktörlerin bir veya birkaçına odaklanan farmakoterapiye başvurulurken, destekleyici tedavi olarak bazı bitkisel ürünlerden faydalanılmaktadır (Nicolle ve ark. 2011; Turan ve Kulaksızoğlu 2015).

Serumdan ölçülen ALT ve AST düzeyleri karaciğer biyokimyasal fonksiyonları ile ilişkili enzimler olup, serumdaki yüksek seviyeleri karaciğer hücre hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Pratt ve Kaplan 1999). Diyabet ile artan reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres hepatositlerde hasara yol açmaktadır (Jaeschke ve ark. 2000). Ayrıca, STZ ile oluşturulan diyabette karaciğer enzimlerinin aktivitesinde bozukluklar meydana gelmekte bu durum diyabette gözlenen glukoneogenez ve ketogenez ile ilişkilendirilmektedir (Punitha ve ark. 2005; Salih ve ark. 2014). Mevcut çalışmada DK grubunda belirlenen AST ve ALT düzeylerindeki artış ($p < 0.05$, Tablo 1), diyabetik farelerde yürütülen önceki çalışmalarla uyumlu bulundu (Salih ve ark. 2014). Sesaminin karaciğeri oksidatif hasardan koruyarak karaciğer fonksiyonlarını düzenlediği belirtilmektedir (Sirato-Yasumoto ve ark. 2001). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada çöven otu (*Gypsophila glomerata*) ekstraktının NF- κ B sinyal yolağını düzenleyerek hepatorenal hasara bağlı olarak artan AST ve ALT düzeylerini önemli derecede azalttığı bildirilmektedir (Dimitrova ve ark. 2021). Mevcut çalışmanın sonuçları, diyabetli farelerde karaciğer fonksiyonunun hasar gördüğünü ve sesamin, çöven ekstraktı ve tahin+çöven ekstraktı uygulamalarının diyabetli farelerde karaciğer hasarına karşı önemli koruyucu etkiler sergilediği ifade edilebilir. Çöven ekstraktı uygulaması ile karaciğer hasarı üzerine görülen olumlu etkilerin saponin uygulaması sonucunda görülmemesinin nedeni çöven otunun saponin haricinde flavonoid glikozitler gibi farklı aktif bileşikler içermesi ve karaciğer koruyucu etkisinin bu bileşiklerden kaynaklanması olabilir.

Serumdan ölçülen BUN ve kreatinin düzeyleri, böbrek fonksiyonları ile ilişkilendirilmektedir (Set ve Şahin 2003). Yüksek BUN ve kreatinin düzeyleri renal fonksiyon kaybı olarak değerlendirilir (Turgut 2000; Duman ve Erden 2004). Karaciğerde amonyak metabolizmasının son ürünü olarak üretilen BUN, kana geçerek vücut sıvılarına homojen şekilde dağılır ve glomerular filtrasyona uğrar. BUN’nin serum konsantrasyon düzeyi, tubuler sıvı akış hızı ile ters orantılıdır (Turgut 2000). Kaslarda kreatin fosfatın enzimatik olmayan hidrolizinin son ürünü olan kreatinin glomeruluslardan filtre edilir ve reabsorbsiyona uğramadan idrarla atılır (Bagshaw ve Gibney 2008). Glomerüler filtrasyon oranı ile ters orantıya sahip serum kreatinin konsantrasyonu vücuttaki kas kütlesi, kaslarda yıkım oranı, ağır egzersiz ve diyet ile ilişkili olarak değişir (Duman ve Erden 2004; Stevens ve Levey 2005). Mevcut çalışmada SK ile DK grupları BUN değerleri birbirleri ile benzer bulunurken ($p > 0.05$), iki grubun BUN değerlerinin diğer gruplardan yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0.05$, Tablo 1). Serum kreatinin değerleri ise SK, DK, D+SP ve D+T gruplarında birbirleri ile benzer ($p > 0.05$) olarak tespit edilirken, diğer gruplardan yüksek ($p < 0.05$) olduğu gözlemlendi (Tablo 1). Hipertansiyon hastaları üzerinde gerçekleştirilen çalışmada susam yağı tüketiminin

plazma potasyum konsantrasyonunu yükseltirken, sodyum konsantrasyonunu düşürdüğü belirtilmektedir (Sankar ve ark. 2006). Bu durum sodyum atılımı ve buna bağlı olarak diürezis artışının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Susam yağında bulunan lignanlardan biri olan sesaminin diürezis artışı ile değişebilen BUN ve kreatinin konsantrasyonlarına katkısı olabileceği düşünülmektedir. Lipopolisakkarit ile akut böbrek hasarı oluşturulan farelerde yürütülen çalışmada, serum BUN ve kreatinin düzeylerindeki artışın sesamin tedavisi ile iyileştirildiği bildirilmiştir (Rousta ve ark. 2018). Yapılan başka bir çalışmada ise sesaminin düşük serum BUN ve kreatinin konsantrasyonları ile tutarlı şekilde tubul hücre hasarı ve apoptozisini azaltarak böbrek hasarına karşı koruyucu bir etki gösterdiği belirtilmiştir (Li ve ark. 2016). Çöven ile aynı familyada bulunan *Hernaria glabra*’dan elde edilen saponinlerin hipertansif ratlarda böbrek tubullerinde sodyum ve su transportunu etkileyerek diürezisi arttırdığı rapor edilmiştir (Rhiouani ve ark. 1999). Önceki çalışmalar dikkate alındığında mevcut çalışmada uygulama gruplarında gözlenen düşük BUN değerlerinin, uygulanan maddelerin diürezisi artırması ile ilişkilendirilebilir. Kreatinin düzeyinde belirlenen değişimler, deneysel olarak oluşturulan T2DM farelerde kısmi olarak oluşan üriner sistem fonksiyon değişikliğinden kaynaklanabilir.

Sonuç olarak dünyada yaygın olarak gözlenen metabolik hastalıklardan T2DM’nin tedavisinde farmakolojik ajanlar yanında bazı bitkisel ürünlerden de faydalanılmaktadır. Bu ürünler radikal tedavi imkânı sağlamamakla birlikte hastalığın yönetimine ve komplikasyonların önlenmesine katkıda bulunabilmektedir. T2DM hastalarında sesamin, saponin, tahin, çöven ekstraktı ve kombinasyonlarının bu hastalarda gelişebilen karaciğer hasarına önlemede belirgin olumlu etkiler ve böbrek fonksiyonları üzerine ise daha sınırlı etkiler gösterebileceği ifade edilebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından “20112005” numaralı proje ile finanse edildi.

Bu araştırma Tuğba Melike PARLAK isimli yazarın doktora tezinden özetlenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: BT, TMP
Denetleme/Danışmanlık: BT
Veri Toplama ve/veya İşleme: TMP
Analiz ve/veya Yorum: TMP, BT
Makalenin Yazımı: TMP
Eleştirel İnceleme: BT

KAYNAKLAR

- Andargie M, Vinas M, Rathgeb A, Möller E, Karlovsky P (2021). Lignans of sesame (*Sesamum indicum* L.): A comprehensive review. *Molecules*, 26 (4), 883.
- American Diabetes Association (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2020. *Diabetes care*, 43, 14-31.
- Bagshaw SM, Gibney RTN (2008). Conventional markers of kidney function. *Crit Care Med*, 36 (4), 152-158.

- Bas AL, Demirci S, Yazihan N, Uney K, Ermis Kaya E (2012).** Nerium oleander Distillate Improves Fat and Glucose Metabolism in High-Fat Diet-Fed Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int J Endocrinol*, 2012, 947187.
- Battal H, Sarı F, Velioğlu S (2003).** Çöven ekstraktı üretimi üzerine bir araştırma. *Anadolu Üniv Bilim Teknol Derg*, 4 (1), 75-84.
- Bigoniya P, Nishad R, Singh CS (2012).** Preventive effect of sesame seed cake on hyperglycemia and obesity against high fructose-diet induced Type 2 diabetes in rats. *Food Chem*, 133 (4), 1355-1361.
- Bozkurt G (2006).** Susam yağının antioksidan özellikteki başlıca bileşenlerinin nitelik ve nicelikleri üzerine araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.
- DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L et al. (2015).** Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*, 1 (1), 1-22.
- Dimitrova B, Vitanska R, Gevrenova R et al. (2021).** Molecular networking-assisted flavonoid profile of *Gypsophila glomerata* extract in relation to its protective effects on carbon tetrachloride-induced hepatorenal damage in rats. *Acta Pharm*, 72 (1), 59-77.
- Duman C, Erden BF (2004).** Birinci basamak sağlık hizmetlerine yönelik biyokimyasal laboratuvar verilerinin kısa yorumu. *STED*, 13 (7), 256-262.
- Ghoreishi AS, Chatrnour G, Mahmoodi M (2022).** The effect of sesame seeds on fast blood sugar, haemoglobin A 1C, liver enzymes and lipid profile in patients with type 2 diabetes: a randomised clinical trial. *J Family Med Prim Care*, 24 (3), 207-211.
- Heshmati J, Moini A, Sepidarkish M et al. (2021).** Effects of curcumin supplementation on blood glucose, insulin resistance and androgens in patients with polycystic ovary syndrome: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine*, 80, 153395.
- IDF (2019).** Diabetes atlas. Erişim Tarihi: 05 Nisan 2024. Erişim Adresi: https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/2019/IDF_Atlas_9t_h_Edition_2019.pdf.
- Jaeschke H (2000).** Reactive oxygen and mechanisms of inflammatory liver injury. *J Gastroenterol Hepatol*, 15 (7), 718-724.
- Kahn BB, Flier JS (2000).** Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*, 106 (4), 473-81.
- Kaul K, Tarr JM, Ahmad SI, Kohner EM, Chibber R (2012).** Introduction to diabetes mellitus. *Adv Exp Med Biol*, 771, 1-11.
- Li K, Gong X, Kuang G et al. (2016).** Sesamin protects against renal ischemia reperfusion injury by promoting CD39-adenosine-A2AR signal pathway in mice. *Am J Transl Res*, 8 (5), 2245-2254.
- Luo JG, Ma L, Kong LY (2008).** New triterpenoid saponins with strong alpha-glucosidase inhibitory activity from the roots of *Gypsophila oldhamiana*. *Bioorg Med Chem*, 16 (6), 2912-2920.
- Nagar P, Agrawal MAK (2022).** Sesame (*Sesamum indicum* L.) seed as a functional food: A review. *Energy (Kcal)*, 519 (516.49), 507-565.
- Nicolle E, Souard F, Faure P, Boumendjel A (2011).** Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure-activity relationship. *Curr Med Chem*, 18 (17), 2661-2672.
- Pratt DS, Kaplan MM (1999).** Laboratory tests. Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC (Ed). Schiff's diseases of the liver (pp. 205-44). Lippincott-Raven, Philadelphia.
- Punitha ISR, Rajendran K, Shirwaikar A (2005).** Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves anti-oxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Evid Based Complement Altern Med*, 2, 375-381.
- Rewers A (2018).** Acute Metabolic Complications in Diabetes. Cowie CC, Casagrande SS, Menke A (Ed). Diabetes in America. (pp. 1-19). National Institutes of Health, Maryland.
- Rhiouani H, Settaf A, Lyoussi B et al. (1999).** Effects of saponins from *Herniaria glabra* on blood pressure and renal function in spontaneously hypertensive rats. *Therapie*, 54 (6), 735-739.
- Rousta AM, Mirahmadi SM, Shahmohammadi A et al. (2018).** Protective effect of sesamin in lipopolysaccharide-induced mouse model of acute kidney injury via attenuation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 40 (5), 423-429.
- Salih ND, Kumar GH, Noah RM, Muslih RK (2014).** The effect of streptozotocin induced diabetes mellitus on liver activity in mice. *Glob J Adv Pure Appl Sci*, 3, 67-75.
- Sankar D, Rao MR, Sambandam G, Pugalendi KV (2006).** Effect of sesame oil on diuretics or Beta-blockers in the modulation of blood pressure, anthropometry, lipid profile, and redox status. *Yale J Biol Med*, 79 (1), 19-26.
- Shulman GI (2000).** Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest*, 106 (2), 171-176.
- Sirato-Yasumoto S, Katsuta M, Okuyama Y, Takahashi Y, Ide T (2001).** Effect of sesame seeds rich in sesamin and sesamol on fatty acid oxidation in rat liver. *J Agric Food Chem*, 49 (5), 2647-2651.
- Set T, Şahin EM (2003).** Birinci basamak hekimi için böbrek fonksiyon testleri. *STED*, 12, 344.
- Stevens LA, Levey AS (2005).** Measurement of kidney function. *Medical Clinics*, 89 (3), 457-473.
- Şenyiğit A, Kanat M (2017).** Tip 2 diyabette fizyopatolojik tedavi yaklaşımı ve pioglitazonun yeri. *Anadolu Klin*, 22 (3), 220-223.
- Turan E, Kulaksızoğlu M (2015).** Tip 2 diyabet tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Okmeydanı Tıp Derg*, 31, 86-94.
- Turgut K (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. 2. Baskı. Bahçıvanlar Basım Sanayi AŞ, Konya.
- Uludağ MO (2010).** Diyabete bağlı ikincil hastalıklar (komplikasyonlar). *Diyabet ve Obezite*, 39, 10370-10389.
- WHO (2006).** World Health Organization: definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Erişim Tarihi: 23 Nisan 2024. Erişim Adresi: <https://www.who.int/publications/i/item/definition-and-diagnosis-of-diabetes-mellitus-and-intermediate-hyperglycaemia>
- Yu T, Sungelo MJ, Goldberg IJ, Wang H, Eckel RH (2017).** Streptozotocin-treated high fat fed mice: a new type 2 diabetes model used to study canagliflozin-induced alterations in lipids and lipoproteins. *Horm Metab Res*, 49 (5), 400-406.
- Yücekutlu AN, Bildacı I (2008).** Determination of Plant Saponins and Some of *Gypsophila* Species: A review of the literature. *Hacettepe J Biol Chem*, 36 (2), 129-135.
- Zheleva-Dimitrova D, Zengin G, Balabanova V et al. (2018).** Chemical characterization with in vitro biological activities of *Gypsophila* species. *J Pharm Biomed Anal*, 5 (155), 56-69.



Retrospective Review of Congenital Anomaly Cases in Ruminants

Abdullah KARASU^{1,*} Caner KAYIKCI¹ Yağmur KUŞCU¹

¹Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, 65040, Van, Türkiye

Received: 15.05.2024

Accepted: 10.07.2024

ABSTRACT

This study was designed to provide data on the incidence rates of congenital anomalies and their distribution by organs and systems in calves, lambs and kids brought to Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Surgery Clinic between 2017-2023. The animal material of the study consisted of 1104 ruminants, including 886 calves, 183 lambs and 35 kids, aged 0-6 months. In addition to clinical examination, anomalies were diagnosed by using direct and indirect radiographic examinations when necessary. In some cases, a definitive diagnosis was made by performing experimental laparotomy based on clinical and radiological examinations. 341 out of 1104 ruminants, including 234 calves, 96 lambs and 11 kids, suffered from congenital anomalies. Of the ruminants with congenital anomalies, 208 (61.00%) were male, 132 (38.70%) female and 1 (0.30%) hermaphrodite. Abdominal wall anomalies were determined with the highest number of 112 (32.9%) cases. These were followed by musculoskeletal system anomalies in 83 (24.4%) cases and gastrointestinal system anomalies in 56 (16.5%) cases. Head region anomalies occurred in 41 cases (12.1%), urinary system anomalies in 23 cases (6.8%) and CNS anomalies in 9 cases (2.6%). Multiple anomalies were recorded in 16 (4.7%) cases. In conclusion, congenital anomalies are frequently seen as pathologies in ruminants in our country, especially in our region. Avoiding inbreeding, making artificial insemination widespread, improving the care and nutrition of the dam during pregnancy, correcting adverse environmental conditions and eliminating stress factors, avoiding over-the-counter medication misuse during pregnancy and most importantly informing field veterinarians and animal owners about the subject will contribute to the prevention of congenital malformations and losses in livestock.

Keywords: Calf, Congenital anomaly, Kid, Lamb, Ruminant.

ÖZ

Ruminantlarda Konjenital Anomali Olgularının Retrospektif Değerlendirilmesi

Bu çalışma, 2017-2023 yılları arasında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Kliniğine getirilen buzağı, kuzu ve oğlaklarda konjenital anomalilerin insidans oranları hakkında veri sağlamak ve bu hayvanlardaki anomalilerin organ ve sistemlere göre dağılımları hakkında bilgi vermek amacıyla tasarlandı. Çalışmanın hayvan materyalini 0-6 aylık 886 buzağı, 183 kuzu ve 35 oğlak olmak üzere 1104 ruminant oluşturdu. Klinik muayene yöntemlerine ek olarak, gerektiğinde direkt ve indirekt radyografik muayeneler kullanılarak anomaliler teşhis edildi. Bazı vakalarda klinik ve radyolojik muayenelere dayanarak deneysel laparotomi yapılarak kesin tanı konuldu. 234 buzağı, 96 kuzu ve 11 oğlak olmak üzere 1104 ruminanttan 341'i konjenital anomalilere sahipti. Konjenital anomalili ruminantların 208'i (%61.00) erkek, 132'si (%38.70) dişi ve 1'i (%0.30) hermafroditti. Karın duvarı anomalileri 112 (%32.9) vaka ile en fazla gözlenen anomali çeşidi olarak tespit edildi. Bunu 83 (%24.4) olgu ile kas-iskelet sistemi anomalileri ve 56 (%16.5) olgu ile gastrointestinal sistem anomalileri takip etmiştir. Daha sonra 41 vakada (%12.1) baş bölgesi anomalileri, 23 vakada (%6.8) üriner sistem anomalileri ve 9 vakada (%2.6) MSS anomalileri görüldü. Multiple anomali 16 (%4.7) vakada kaydedildi. Sonuç olarak, konjenital anomaliler bölgemizde ruminantlarda sıklıkla görülen patolojilerdir. Akrabalı yetiştirmeden kaçınılması, suni tohumlamanın yaygınlaştırılması, gebelik süresince annenin bakım ve beslenmesinin iyileştirilmesi, olumsuz çevre koşullarının düzeltilmesi ve stres faktörlerinin ortadan kaldırılması, gebelik süresince bilinçsiz ilaç kullanımından kaçınılması ve en önemlisi saha veteriner hekimlerinin ve hayvan sahiplerinin konu hakkında bilgilendirilmesi çiftlik hayvanlarında konjenital malformasyonların ve kayıpların önlenmesine katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Konjenital anomali, Kuzu, Oğlak, Ruminant.



INTRODUCTION

Congenital abnormalities are a range of structural, functional, or metabolic disorders that occur during embryonic or fetal development (Su et al. 2023). They may affect a single anatomical structure or function, an entire system, or parts of several systems, or may involve several body systems, or combine functional and structural defects to form syndromes (Leipold et al. 1982; Leipold et al. 1991). Although the causes of congenital anomalies in ruminants have not been fully explained, it has been suggested that they may develop at various stages of embryogenesis or fetal development under the influence of genetic, environmental or both factors. Environmental factors have been reported as nutritional deficiencies, viruses, teratogens, infectious agents, fertilization technique, hormones and antibodies (Newman et al. 1999). It is also stated that stress factors, faulty breeding selection and rectal palpation for early diagnosis of pregnancy may also be effective (Meylan 2008).

Leipold (1982) stated that congenital defects may be lethal, semi-lethal, viable, and minor defects may also have an aesthetic effect. Although economic losses due to congenital defects are less than those due to infectious, chemical and nutritional agents, they may be economically important to livestock producers. Congenital defects cause economic losses by increasing perinatal calf mortality and reducing the value of viable defective calves (Leipold 1978; Leipold 1982). Congenital anomalies account for 11.5% of surgical diseases and are of great importance in veterinary medicine. As patients with congenital anomalies are not usually referred for treatment, it is difficult to determine the number and type of patients. Depending on the species, the breed, sex, age of parent and the environment in which the animals live, the incidence of anomalies varies. All animal species are affected by congenital anomalies. However, they are more likely to occur in calves, lambs and kids (Doğan and Şındak 2013). Congenital defects are most commonly found in the musculoskeletal system and gastrointestinal system, and less frequently in the genitourinary, eye and other organ systems (Aksoy et al. 2006).

The aim of animal breeders is to obtain economically healthy animals and animal products. Birth defects are among the main causes of newborn animal losses. Also, the care and feeding of surviving animals is difficult, and there is a loss of productivity and reduction in animal welfare. It can also cause economic loss for animal breeders (Uzar et al. 2020; İder and Ertürk 2023). Van province is an important region of our country in terms of animal husbandry potential. According to the records in 2023, there are 132.641 cattle, 2.993.722 sheep and 286.423 goat population in Van province (DrDataStats 2023). The majority of the people of the region make their living from animal husbandry. Birth defects are important in our region. The present study was designed to provide data on the incidence rates of congenital anomalies in calves, lambs and kids brought to our clinic between 2017 and 2023, their distribution according to organs and systems, treatment and precautions to be taken.

MATERIAL AND METHODS

The study was carried out with the permission of Van Yuzuncu Yil University Animal Experiments Local Ethics Committee, numbered 2024/01-03.

The animal material of the study consisted of a total of 341 animals, including 234 calves, 96 lambs and 11 kids with

congenital anomalies of different breeds, ages and genders, brought to surgery department of veterinary faculty in Van Yuzuncu Yil University between 2017 and 2023 (Table 1).

Routine physical clinical examinations such as general condition, heart rate and respiratory rate were performed. Then, anomalies were diagnosed by using clinical examination methods such as inspection, auscultation, palpation and percussion, as well as direct and/or indirect radiographic examinations when necessary. In some cases, a definitive diagnosis was made by experimental laparotomy following clinical and radiological examination. Surgical intervention was performed in cases such as hernia umbilicalis, hernia scrotalis, urachus fistula, atresia ani, atresia ani et recto-vaginal fistula, atresia coli, meningocele, cyst dermoid. Supported bandage was applied in cases such as flexural contracture and joint laxity in the extremities. Euthanasia was recommended in animals with a negative prognosis such as arthrogyposis and spina bifida. No intervention was performed in cases such as anophthalmia and microphthalmia.

Statistical Analysis

The data of breed, sex, frequency and localization of anomalies were evaluated using descriptive statistical analysis.

RESULTS

Between 2017 and 2023, 1104 ruminants, including 886 calves, 183 lambs and 35 kids aged 0-6 months, were brought to our clinic and 341 of them were with the complaint of congenital defects. The distribution of these cases by species was 234 (68.62%) calves, 96 (28.15%) lambs and 11 (3.23%) kids. Of the calves with congenital malformations, 158 (67.52%) were Simmental, 46 (19.66%) native cross, 28 (11.97%) Brown Swiss and 2 (0.85%) Holstein Friesian breeds. Of the lambs with congenital abnormalities, 70 (71.88%) were Akkaraman, 16 (16.67%) Norduz and 10 (10.41%) Morkaraman breeds. Of the kids with congenital disorder, 7 (63.64%) were Coloured Mohair and 4 (36.36%) hair goat. Of the ruminants with congenital anomalies, 208 (61.00%) were male, 132 (38.70%) female and 1 (0.30%) hermaphrodite. Of the anomaly cases in calves, 138 (58.97%) were male and 96 (41.03%) females. In lambs, 60 (62.50%) were male, 35 (36.36%) female, 1 (1.04%) hermaphrodite, and in kids, 10 (90.90%) were male and 1 (9.10%) female. The species, breed and sex distribution of the anomaly cases are given in Table 1.

Abdominal wall anomalies were observed in ruminants with the highest number of 112 (32.9%) anomaly cases. These were followed by musculoskeletal system anomalies in 83 (24.4%) cases and gastrointestinal system anomalies in 56 (16.5%) cases. Then, head region anomalies occurred in 41 cases (12.1%), urinary system anomalies in 23 cases (6.8%) and CNS anomalies in 9 cases (2.6%). Multiple anomalies were recorded in 16 (4.7%) cases. In calves, we mostly encountered hernia umbilicalis, flexural deformity, amaurosis omphalocele and cyst dermoid cases, respectively. The most common congenital disorders identified in lambs were atresia ani, followed by omphalocele, flexural deformity, and meningocele. In kids, the most common cases of urethral diverticulum, atresia ani, flexural deformity and scoliosis were observed, respectively. The distribution of anomaly cases detected in ruminants by systems and organs are presented in Tables 2, 3, 4 and 5. Images of various anomalies seen in calves and lambs are presented in Figures 1, 2, 3, 4, 5 and 6.

Table 1: The distribution of anomaly cases by species, breed and sex.

		Animals			Total (%)
Species	Breed	Sex			
		Male	Female	Hermaphrodite	
Calf	Simmental	93	65	-	158 (67.52%)
	Native Cross	28	18	-	46 (19.66%)
	Brown Swiss	15	13	-	28 (11.97%)
	Holstein Friesian	2	-	-	2 (0.85%)
Total (n) (%)		138 (58.97%)	96 (41.03%)	-	234 (100%)
Lamb	Akkaraman	42	27	1	70 (71.88%)
	Norduz	11	5	-	16 (16.67%)
	Morkaraman	7	3	-	10 (10.41%)
Total (n) (%)		60 (62.50%)	35 (36.46%)	1(1.04%)	96 (100%)
Kid	Colored Mohair	6	1	-	7 (63.64%)
	Mohair Goat	4	-	-	4 (36.36%)
Total (n) (%)		10 (90.90%)	1 (9.10%)	-	11 (100%)

Table 2: Abdominal wall, gastrointestinal and urogenital system anomalies.

Anomaly	Calf			Lamb			Kids			Total
	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total	
Hernia umbilicalis	46	32	78	-	-	-	-	-	-	78
Omphalocele	9	8	17	8	6	14	-	-	-	31
Atresia ani	6	4	10	22	11	33	1	1	2	45
Atresia ani et recti	1	-	1	1	1	2	-	-	-	3
Atresia coli	5	3	8	-	-	-	-	-	-	8
Scrotal hernia	-	-	-	4	-	4	-	-	-	4
Artesia urethra distalis	-	4	4	-	-	-	-	-	-	4
Urethral dilatation	2	-	2	-	-	-	-	-	-	2
Penile urethral diverticulum	-	-	-	-	-	-	6	-	6	6
Urachal fistula	3	5	8	2	-	2	-	-	-	10

Table 3: Anomalies of the musculoskeletal system.

Anomaly	Calf			Lamb			Kids			Total
	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total	
Flexural deformity	32	17	49	5	4	9	2	-	2	60
Joint laxity	3	1	4	-	3	3	-	-	-	7
Arthrogryposis	-	-	-	2	1	3	-	-	-	3
Shoulder dislocation	-	1	1	-	1	1	-	-	-	2
Patella luxation	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Polydactyly	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1
Adactyly	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Coxofemoral luxation	2	-	2	1	-	1	-	-	-	3
Femoral fracture	-	1	1	-	-	-	-	-	-	1
Scoliosis	-	1	1	2	-	2	1	-	1	4

Table 4: Anomalies of the head region and nervous system.

Anomaly	Calf			Lamb			Kids			Total
	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total	
Amaurosis	10	9	19	1	1	2	-	-	-	21
Dermoid cyst	8	6	14	-	-	-	-	-	-	14
Anophthalmia	1	-	1	2	-	2	-	-	-	3
Micropthalmia	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1
Ankyloblepharon	-	-	-	1	1	2	-	-	-	2
Bilateral anterior nasal atresia	1	-	1	-	-	-	-	-	-	1
Meningocele	-	-	-	5	1	6	-	-	-	6
Spina bifida	2	-	2	1	-	1	-	-	-	3

Table 5: Multiple anomalies of various system.

Anomaly	Calf			Lamb				Kids			Total
	Male	Female	Total	Male	Female	HM	Total	Male	Female	Total	
Atresia ani and polymelia (notomelia)	-	-	-	2	-	-	2	-	-	-	2
Atresia ani and rectovaginal fistula	-	3	3	-	3	-	3	-	-	-	6
Atresia ani and hermaphroditism	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1
Polymelia (thoracomelia) and scoliosis	-	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1
Spina bifida and flexural deformity	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Amaurosis and exophthalmos	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Atresia ani and hernia umbilicalis	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
Atresia ani and coccygeal agenesis	2	-	2	-	-	-	-	-	-	-	2
Schistosoma reflexum	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1



Figure 1: Radiographic view of a calf with atresia ani and coccygeal agenesis.

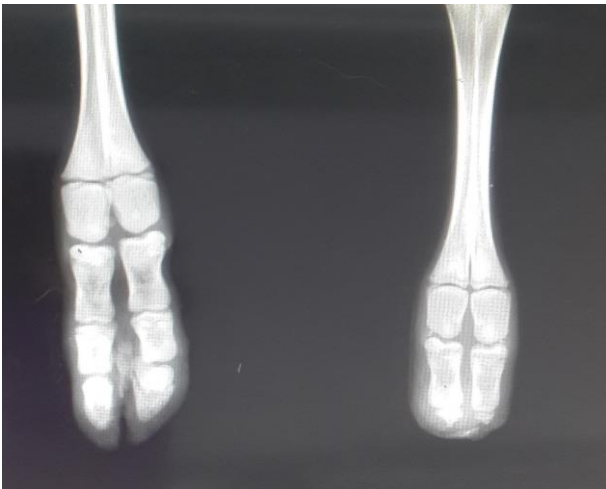


Figure 2: Radiographic view of a calf with adactyly.



Figure 3: Flexural deformity of the forelimbs in a Simmental calf.



Figure 4: Dermoid cyst in the right eye of a Simmental calf.



Figure 5: Scoliosis in Brown Swiss calf.



Figure 6: Meningocele in lamb.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Congenital anomalies, defined as morphogenesis defects present at birth, are an important problem in livestock farming. These defects can lead to the death of animals, reduce their productivity and affect animal welfare. It can also cause economic loss for animal breeders (Uzar et al. 2020). It is stated that factors such as genetic causes, stress factors, nutritional disorders, vitamin deficiencies, incorrect stud selection, environmental factors and not preferring artificial insemination play a role in the etiologies of anomalies (Newman et al. 1999; Meylan 2008). In studies conducted in our region, it is estimated that the factors causing anomalies may be mineral and vitamin deficiencies, inbreeding, and unconscious drug use by patient owners (Belge et al. 2000; Aksoy et al. 2006). Since no investigation was conducted related to the cause in this study, it was not possible to identify the factors causing the anomaly. However, we estimate that these congenital anomalies seen in our region may be due to genetic factors as well as non-genetic factors such as inadequate nutrition, inbreeding, uncontrolled drug use and the use of animals without pedigree in the enterprise.

In congenital defects, as a result of the defect affecting the embryo in the first 3 weeks of gestation, the embryo either dies or the regulatory mechanism in the embryo prevents damage and the embryo survives. The period when the embryo is vulnerable to abnormal growth is between 3 and 8 weeks (embryogenesis period). Structural abnormalities in the affected embryo are inevitable during this period. After eight weeks of gestation, major structural abnormalities are unlikely to occur. This is because by this time many of the embryo's organs have completed their formation (Sinowatz 2010). We assume that the malformations that occurred in the cases in our investigation were probably caused by malformation-causing effects during the embryogenesis of the embryos in the womb.

In studies conducted in our country, the prevalence of congenital anomalies in calves was reported as 26.8% by Özyaydın et al. (1995), 6.58% by Belge et al. (2000), 16.5% by Aksoy et al. (2006), 1.9% by Elma (1992), 22.37% by Han and Durmuş (2005), 18.20% by Kaya et al. (2011), 7.55% by İşler et al. (2016), 13.99% by Karabulut et al. (2001) and 2.96% by Oğurtan et al. (1997). It is stated that in calf screening studies conducted on a regional basis, congenital anomalies were detected at a rate of 0.80% (Hasan et al. 2015) and 6.26% (Herschler et al. 1962; Nigam et al. 1984). In a study that reviewed case reports on congenital anomalies in farm animals published in Bangladesh from 1975 to 2021; it is reported that 1746 cases of congenital anomalies were detected in calves and 55 cases in kids (Samad 2021). In many studies, the prevalence of congenital anomalies in lamb was reported as 16.6% by Elma (1992), 36% by Aksoy et al. (2006), 2.89% by İşler et al. (2016) and 0.2-2% by Dennis (1993). The frequency of birth defects in kids was found as by 22.7% Elma (1992), 5.12% Basrur et al. (1993), 18.67% Al-Ani et al. (1998) and 83% by Aksoy et al. (2006). During the 6-year period, 341 (30.88%) of 1104 ruminants aged between 0-6 months brought to our clinic were diagnosed with congenital anomalies. We recorded that 234 out of 886 calves (26.41%), 96 out of 183 lambs (52.45%) and 11 out of 35 kids (31.42%) aged between 0-6 months were born with anomalies. We estimate that these different rates of incidence of anomalies in ruminants vary according to criteria such as geographical region, nutritional level, parental age and environmental

factors (Sonfada et al. 2010). When the studies on the incidence of congenital anomalies are analyzed, most of them were conducted either in the form of regional surveys or on animals admitted to veterinary faculty clinics. Therefore, we consider that these data do not reflect the actual and general prevalence of congenital anomalies.

When congenital defects in calves are evaluated in terms of breed, different results are reported. While some researchers reported that there was no significant difference between congenital anomalies in calves and their breeds (Özyaydın et al. 1995), many studies reported that congenital anomalies in calves were mostly seen in Holstein (Han and Durmuş 2005; İşler et al. 2016), Simmental (Aksoy et al. 2006; Yurdakul 2019; Polat 2022; Sağlam et al. 2023), Brown Swiss (Kaya et al.) breeds. In a survey study conducted in Swiss sheep, it was reported that congenital defects were detected most frequently in Swiss White Alpine sheep breed (Greber et al. 2013). In different studies conducted in our country, it was reported that birth defects were found most frequently in Morkaraman breed (Aksoy et al. 2006) and Akkaraman breed (Polat 2022) in sheep and in Mohair goat breed in goats (Aksoy et al. 2006; Polat 2022). In this report, when the relationship between birth defects and breed was evaluated, the highest number of congenital malformations were observed in Simmental breed calves, Akkaraman breed lambs and Colored Mohair breed kids. The high incidence of congenital anomalies in these breeds in our study suggests that it may be related to the common breeds bred in the region. In some studies, it is stated that anomalies are related to the breed factor, but some environmental and pathological factors may also be effective in the region (Göksel and Sarıtaş 2016), and when a new breed is started to be raised in a region, an increase in congenital anomalies may occur due to environmental factors (Aksoy et al. 2006).

In many studies in which the sex distribution of congenital anomalies in ruminants was analyzed, it was reported that congenital anomalies were mostly observed in the male sex (Özyaydın et al. 1995; Oğurtan et al. 1997; Aksoy et al. 2006; Göksel and Sarıtaş 2016; İşler et al. 2016, Polat 2022; Sağlam et al. 2023). In our research, congenital defects were seen in 58.97% of male calves, 62.50% of male lambs and 90.90% of male kids. Except for atresia ani and rectovaginal fistula which were specific to females, atresia urethra distalis, shoulder dislocation, polydactyly, femoral fracture and scoliosis were observed only in calves females and shoulder dislocation, microphthalmia, polymelia (thoracomelia) and scoliosis were observed only in lambs females. In the present study, it was determined that congenital anomalies observed in calves, lambs and kids were mostly observed in the male sex in highly consistent with previous studies. No evidence was put forward by these researchers on the relationship between congenital anomalies and sex (Özyaydın et al. 1995; Constable et al. 1997; Oğurtan et al. 1997; Aksoy et al. 2006; Azizi et al. 2010; Göksel and Sarıtaş 2016; İşler et al. 2016). In humans, as in animals, birth defects are reported to be more common in male infants than in female infants. Different theories about sex-related anomalies have been proposed. The interaction of sex hormones and system development is suggested as a possible cause of sex differences in some anomalies such as cleft palate and cleft lip. In addition, urinary and reproductive defects in males are explained by the development of male reproductive organs during early pregnancy and their sensitivity to excessive hormone levels (Sokal et al. 2014).

In many previous studies, musculoskeletal system, ocular system and digestive system (Özaydın et al. 1995; Carraro et al. 1996; Oğurtan et al. 1997; İşler et al. 2016), flexural deformities, meningocele and cleft palate in calves (Abdelhakiem and Elrashidy 2017) digestive system (Özaydın et al. 1995; Oğurtan et al. 1997; Aksoy et al. 2006; İşler et al. 2016), CNS and musculoskeletal system in lambs (Perez et al. 2017) and urinary system anomalies in kids are reported to be the most common system anomalies (Özaydın et al. 1995; Oğurtan et al. 1997; Aksoy et al. 2006; Doğan and Şındak 2013; İşler et al. 2016). Gangwar et al. (2014) reported the most common congenital malformations in calves as hernia umbilicalis, flexural deformity, atresia ani and omphalocele, respectively. In another study, atresia ani was the most common congenital malformation, followed by flexural deformity, amorosis and cyst dermoid. In the same study, it was reported that only atresia ani was detected in kids (Hasan et al. 2005). In recent years, it has been reported that birth defects are most common in the abdominal wall/gastrointestinal system, musculoskeletal system and head region in ruminants in the Elazığ region. It was also reported that hernia umbilicalis, flexural deformity and coccygeal agenesis in calves, and atresia ani in lambs and kids were the most commonly observed congenital anomalies (Polat 2022). The results of the research carried out in Samsun region in recent years show that the distribution of congenital anomalies in calves by organs and systems shows the musculoskeletal system as the most frequent, followed by the digestive system, nervous system, and then the urogenital system. (Sağlam et al. 2023). According to the results of a survey conducted with farmers in Switzerland, the most common defects in sheep were entropion, brachygnathia inferior, umbilical hernia and cryptorchidism (Greber et al. 2013). In a retrospective review of articles, it was found that the most common systemic congenital anomalies in calves and kids were in the digestive system (67.18%), followed by the eye system (17.07%), musculoskeletal system (8.42%), urogenital system (2.58%) and integumentary system (2.52%). In the same paper, it was reported that 56.25% of 1746 anomaly cases in calves and 67.27% of 55 anomaly cases in kids were found to be atresia ani (Samad 2021). In a recent study conducted by Radjendran et al. (2023) in calves, they reported systemic congenital defects at a rate of 46.0% in the gastrointestinal system, 40.0% in the musculoskeletal system, and 8.0% in the urogenital system. Among the gastrointestinal disorders, atresia ani came first, followed by atresia coli. Arthrogyposis was the most common musculoskeletal condition, followed by contracted tendon, polymelia and prognathism. Nervous system disorders included hydrocephalus. In the urogenital system, it contained a permanent urachus with an ectopic bladder. The results of a survey conducted among veterinarians in Ireland show that systemically, musculoskeletal system anomalies are the most frequently observed in calves, followed by digestive system cases. In the same study, it was reported that intestinal atresia was the most common anomaly (Mee et al. 2024). In our research, which we followed for six years, the distribution of congenital anomalies in ruminants by systems, abdominal wall, musculoskeletal and ocular anomalies were the most common in calves, respectively. In lambs, gastrointestinal, musculoskeletal and abdominal wall defects were the most common. All congenital malformations belonged to the urinary system and gastrointestinal systems in kids. Multiple anomalies were recorded equally in calves and lambs. In addition, hernia umbilicalis, flexural deformity and amaurosis were the top three in calves, atresia ani,

omphalocele and flexural deformity in lambs, and urethral diverticulum, atresia ani and flexural deformity in kids. The findings obtained in our study are consistent with the many studies on this subject.

In conclusion, congenital anomalies are frequently seen pathologies in ruminants in our country, especially in our region. Although congenital defects in farm animals are not very high compared to other diseases, they can cause significant economic and animal welfare concerns. These birth defects develop under the influence of many environmental factors as well as genetic predispositions. In particular, avoiding inbreeding, making artificial insemination widespread, improving the care and nutrition of the dam during pregnancy, correcting adverse environmental conditions and eliminating stress factors, avoiding over-the-counter medication misuse during pregnancy and most importantly informing field veterinarians and animal owners about the subject will contribute to the prevention of congenital malformations and losses in livestock.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: AK

Supervision / Consultancy: AK, CK, YK

Data Collecting and / or Processing: YK

Analysis and / or Interpretation: CK

Writing the Article: AK

Critical Review: AK, CK, YK

REFERENCES

- Abdelhakiem AHM, Elrashidy HM (2017). A retrospective study of the congenital anomalies of the axial and appendicular skeleton in cow calves. *Assiut Vet Med J*, 63 (153), 88-99.
- Aksoy Ö, Kılıç E, Öztürk S et al. (2006). Congenital anomalies encountered in calves, lambs and kids 1996-2005 (262 cases). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 12 (2), 147-154.
- Al-Ani FK, Khamas WA, Al-Qudah KM, Al-Rawashdeh O (1998). Occurrence of congenital anomalies in Shami breed goats: 211 cases investigated in 19 herds. *Small Rumin Res*, 28 (3), 225-232.
- Azizi S, Mohammadi R, Mohammadpour I (2010). Surgical repair and management of congenital intestinal atresia in 68 calves. *Vet Surg*, 39 (1), 115-120.
- Basrur PK (1993). Congenital abnormalities of the goat. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 9 (1), 183-202.
- Belge A, Gönenci R, Biricik HS, Ormanci S (2000). Buzağılarda doğmasal anomali olguları. *YYÜ Vet Fak Derg*, 11 (2), 23-26.
- Constable PD, Shanks RD, Huhn J, Morin DE (1997). Evaluation of breed as a risk factor for atresia coli in cattle. *Theriogenology*, 48 (5), 775-790.
- Dennis SM (1993). Congenital defects of sheep. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 9 (1), 203-217.
- Doğan H, Şındak N (2013). The incidence of anomalies in calves, lambs and goat kids in the district of Nizip and its villages and determination of some biochemical parameters in these cases. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2 (2), 61-66.
- DrDataStats (2023). İllere göre Türkiye'de hayvancılık: Canlı hayvan sayıları. Erişim tarihi: 12 Nisan 2024. Erişim Adresi: <https://www.drdatastats.com/illere-gore-turkiyede-hayvancilik-canli-hayvan-sayilari/>.
- Elma E (1992). S. Ü. Veteriner fakültesi cerrahi kliniğine 1985-1990 yılları arasında getirilen hastalara toplu bir bakış. *SÜ Vet Fak Derg*, 8 (1), 58-60.
- Gangwar AK, Devi KS, Singh AK et al. (2014). Congenital anomalies and their surgical correction in ruminants. *Adv Anim Vet Sci*, 2 (7), 369 - 376.
- Göksel BA, Sarıtaş ZK (2016). Clinical and operative approach of intestinal atresia in calves. *Kocatepe Vet J*, 9 (3), 200-210.
- Greber D, Doherr M, Drögemüller C, Steiner A (2013). Occurrence of congenital disorders in Swiss sheep. *Acta Vet Scand*, 55 (1), 27.
- Han MC, Durmuş AS (2005). Buzağılarda bazı konjenital anomali olguları. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 3 (2), 175-177.

- Hasan MS, Rahaman MM, Sen AB et al. (2015).** Prevalence of congenital defects of cattle and goat in Bangladesh. *Int J Nat Soc Sci*, 2 (5), 13-17.
- Herschler MS, Fechheimer NS, Gilmore LO (1962).** Congenital abnormalities in cattle: their association with hereditary and environmental factors. *J Dairy Sci*, 45 (12), 1493-1499.
- İder M, Ertürk A (2023).** Koyun ve keçilerde neonatal kayıpların önlenmesi. Alkan F (Ed). Sağlıklı ve Sürdürülebilir Koyun ve Keçi Yetiştiriciliği (S. 28-35). Türkiye Klinikleri, Ankara.
- İşler C, Altuğ M, Gönenci R, Aytekin İ (2016).** 2005-2009 yılları arasında Bolu bölgesinde buzağlarda tespit edilen anomali olgularının değerlendirilmesi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 5 (2), 100-104.
- Karabulut, E, Ünsaldı S, Durgun, T (2001).** 1991-2000 Yılları arasında Fırat Üniversitesi veteriner fakültesi cerrahi kliniğine getirilen buzağlardaki doğumsal anomali olguları. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 15 (2), 367-374.
- Kaya M, Okumuş Z, Doğan E, Çetin EM, Yanmaz LE (2011).** Erzurum yöresindeki buzağlarda doğumsal anomalilerin görülme sıklığı ve sağaltım oranları. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25 (2), 83-93.
- Leipold HW (1978).** Genetics and disease in cattle. In: Proceedings of The Eleventh Annual Convention American Association of Bovine Practitioners, Baltimore, Maryland.
- Leipold HW (1982).** Congenital defects of current concern and interest in cattle: A review. *AABP*, 17, 101-114.
- Leipold HW, Steffen DJ, Woollen N, Hiraga T, Dennis SM (1991).** Congenital Defects of Current Concern in Beef Cattle. In: Proceedings of the Twenty-Fourth Annual Conference. American Association of Bovine Practitioners, Orlando, Florida.
- Mee JF, Murphy D, Curran M (2024).** Bovine congenital defects recorded by veterinary practitioners. *Reprod Domest Anim*, 59 (1), e14501.
- Meylan M (2008).** Surgery of the bovine large intestine. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 24 (3), 479-496.
- Newman SJ, Bailey TL, Jones JC, DiGrassie WA, Whittier WD (1999).** Multiple congenital anomalies in a calf. *JVDI*, 11 (4), 368-371.
- Nigam JM, Misk NA, Rifat JF (1984).** Surgical management of congenital anomalies of ruminants. *Agri-practice*, 5 (7), 38-47.
- Oğurtan Z, Alkan F, Koç Y (1997).** Ruminantlarda kongenital anomaliler. *Türk Vet Hekim Derg*, 9 (4), 24-28.
- Özaydın İ, Kılıç E, Okumuş Z, Cihan M (1995).** 1992-1995 yılları arasında Kafkas Üniversitesi veteriner fakültesi kliniklerine getirilen buzağlarda doğumsal anomali olguları. *Vet Cerrahi Derg*, 1 (2), 22-25.
- Perez V, Fernández M, Benavides J et al. (2017).** Anomalías congénitas en pequeños rumiantes: revisión de casos de diagnóstico. XVIII Congreso Internacional y XLII Congreso Nacional SEOC, Salamanca, Spain.
- Polat E (2022).** Descriptive study of congenital anomalies encountered in ruminants in Elazığ region of Turkey. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 21 (1), 1-13.
- Radjendran A, Roshini ST, Gurunathan N et al. (2023).** Incidence of Congenital Abnormalities in Newborn Crossbred Calves. *Ind J Vet Sci and Biotech*, 19 (6), 69-74.
- Sağlam K, Göl M, Önyay T et al. (2023).** Congenital anomaly cases in calves. *Med Veter*, 79 (2), 77-82.
- Samad MA (2021).** Systematic review of congenital anomalies in calves and kids reported during the period from 1975 to 2021 in Bangladesh. *JVMOHR*, 3 (2), 129-153.
- Sinowatz F (2010).** Teratology. Hyttel P, Sinowatz F, Vejsted M, Betteridge K (Eds). *Essentials of Domestic Animal Embryology* (pp. 339-382). Saunders Elsevier, America.
- Sokal R, Tata LJ, Fleming KM (2014).** Sex prevalence of major congenital anomalies in the United Kingdom: a national population-based study and international comparison meta-analysis. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 100 (2), 79-91.
- Sonfada ML, Sivachelvan MN, Haruna Y, Wiam I, Yahaya A (2010).** Incidence of congenital malformations in ruminants in Northeastern Region of Nigeria. *Int J Anim Veter Adv*, 2 (1), 1-4.
- Su J, Gao S, Yan R et al. (2023).** Is the tradeoff between folic acid or/and multivitamin supplementation against birth defects in early pregnancy reconsidered? evidence based on a Chinese birth cohort study. *Nutrients*, 15 (2), 279.
- Uzar T, Szczerbal I, Serwanska-Leja K et al. (2020).** Congenital Malformations in a Holstein-Friesian Calf with a Unique Mosaic Karyotype: A Case Report. *Animals (Basel)*, 10 (9), 1615.
- Yurdakul İ (2019).** Buzağlarda kongenital intestinal atresia olgularının klinik ve sağaltım yönünden değerlendirilmesi. *Van Vet J*, 30 (1), 31-36.



The Effects of Oral Progestagen Administration on the Fertility of Synchronized Goats During the Breeding Season

Nebi ÇETİN^{1,*} Mushap KURU² Davut KOCA¹ Funda EŞKİ³ Barış Atalay USLU⁴

Sait ŞENDAĞ¹ Axel WEHREND⁵

¹Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 65040, Van, Türkiye

²Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 36100, Kars, Türkiye

³Cukurova University, Faculty of Ceyhan Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 01330, Adana, Türkiye

⁴Sivas Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, 58140, Sivas Türkiye

⁵Justus Liebig University, Veterinary Clinic for Reproductive Medicine and Neonatology, Giessen, Germany

Received: 28.05.2024

Accepted: 18.07.2024

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the impact of oral progesterone (altrenogest) administered after mating on fertility in goats synchronized during the breeding season. A total of 47 Hair goats were included in the study. A progesterone-impregnated intravaginal sponges were administered for 12 days. On day 10 of intravaginal sponge administration, 480 IU pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) and 0.075 mg cloprostenol were injected intramuscularly to the goats. Animals were exposed to bucks for 12 hours after detection of estrus by the foraging buck. The goats were randomly assigned to two distinct groups: Group 1 (G1, n=23) and Group 2 (G2, n=24). G1 goats were orally administered 4.4 mg of altrenogest per day for 30 days after mating. G2 goats served as controls. Pregnancy examinations were performed by transrectal ultrasonography on the 30th and 42nd days after mating. Blood samples were taken from one day after mating to 30 days (3-day intervals). Statistical analysis comparing G1 and G2 revealed no significant differences between the groups regarding progesterone concentrations, conception rate, pregnancy rate, lambing rate, multiple birth rate, fecundity, and litter size ($p>0.05$). In conclusion, this study revealed that oral progesterone use had no impact on fertility parameters. Moreover, further research is warranted to explore the efficacy of various oral progesterone analogs.

Keywords: Fertility, Goat, Pregnancy, Progesterone.

öz

Üreme Sezonunda Oral Progestagen Uygulamasının Senkronize Keçilerin Fertilitesi Üzerine Etkileri

Bu çalışmanın amacı, üreme mevsiminde senkronize edilen keçilerde çiftleşmeden sonra uygulanan oral progesteronun (altrenogest) fertilité üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Çalışmada, toplam 47 Kıl keçisi kullanıldı. Hayvanlara 12 gün boyunca progesteron emdirilmiş intravajinal süngerler uygulandı. Vajinal sünger uygulamasının 10. gününde 480 IU PMSG ve 0.075 mg kloprostenol intramüsküler olarak uygulandı. Östrüsdeki hayvanlar, arama tekesi ile tespit edildikten sonra 12 saat tekelere maruz bırakıldı. Keçiler rastgele iki ayrı gruba ayrıldı: Grup 1 (G1, n=23) ve Grup 2 (G2, n=24). G1 keçilerine çiftleşmeden sonraki 30 gün boyunca günde 4.4 mg altrenogest oral olarak uygulandı. G2 keçileri ise kontrol grubu olarak değerlendirildi. Gebelik muayeneleri çiftleşmeden sonraki 30. ve 42. günlerde transrektal ultrasonografi ile yapıldı. Kan örnekleri çiftleşmeden sonraki günden 30 güne kadar (3 günlük aralıklarla) alındı. G1 ve G2 arasında istatistiksel analiz, progesteron konsantrasyonları, konsepsiyon oranı, gebelik oranı, kuzulama oranı, çoklu doğum oranı, fekundite ve bir batındaki yavru sayısı açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını ortaya çıkardı ($p>0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmada oral progesteron kullanımının fertilité parametreleri üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edildi. Ayrıca, çeşitli oral progesteron analoglarının etkinliğini araştırmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Fertilité, Gebelik, Keçi, Progesteron.



INTRODUCTION

Synchronization of estrus and ovulation is frequently used in reproductive management of goats. Many techniques are available for estrous synchronization in small ruminants, and progesterone-impregnated intravaginal devices are commonly used in these protocols (Kuru et al. 2018a; Erdem et al. 2021; Kaya and Kocak 2022). They cause varying degrees of vaginitis during use (Suárez et al. 2006; Manes et al. 2015) and induce discomfort while they are positioned within the vaginal canal (Kuru et al. 2016; Kuru et al. 2018b). This exogen condition and internal hormonal pattern could be one of factors negatively influencing subsequent reproductive response and fertility (Scudamore 1988; Manes et al. 2016). Fertility rates obtained from their use vary widely (Gordon 1983). Some researchers also report that pregnancy rates may be lower in ewes that received intravaginal sponges during the breeding season compared to those ewes that sponges were not applied (Manes et al. 2014).

The establishment and maintenance of pregnancy take place within a balanced system consisting of a healthy embryo, ovary, oviducts, and uterus. Any disruption within this intricate system can potentially result in a reduced embryo survival rate (Thatcher et al. 1994; Spencer 2013; Spencer et al. 2016).

For the formation and maintenance of pregnancy in ruminants, the embryo needs a uterus under the influence of progesterone (Spencer and Bazer 1996; Nava-Trujillo et al. 2008). An early increase in progesterone concentration following ovulation has been shown to enhance embryonic development and the expression of interferon- τ (IFN- τ) (Spencer 2013; Arosh et al. 2016) and promotes embryonic survival rates by improving the relationship between embryo and the uterus. The majority of embryonic losses typically occur during the critical phase of implantation, which takes place within the first few days following fertilization (Vanroose et al. 2000; Spezzigu et al. 2013). Inadequate luteal function has been identified as one of the primary factors contributing to these losses (Mann et al. 2006; Montes-Quiroza et al. 2018). The sustained secretion of progesterone by the corpus luteum is crucial for the maintenance of pregnancy (Diskin and Morris 2008). Progesterone plays a vital role in both the establishment and maintenance of pregnancy and should be on an increasing course after fertilization. Cellular divisions in the developing embryo are adversely affected when the increase in progesterone level is delayed or the progesterone level is insufficient. Since the conceptus of animals with low progesterone levels is less capable of producing interferon tau, embryonic death rates are higher in these animals. There is a positive relationship between the blood progesterone concentration and the continuation of pregnancy during the pregnancy recognition process. This shows that high progesterone concentrations are important for the maintenance of pregnancy during the pregnancy recognition process (Satterfield et al. 2006; Cetin 2021). Various approaches can be employed to achieve elevated progesterone concentrations post-insemination, aiming to mitigate or forestall embryonic losses and thereby enhance animal fertility. Among these strategies post-mating treatment with exogenous progesterone (Cetin 2021) has been shown to augment both embryo viability and pregnancy rates in ruminants (Thatcher et al. 1994; Mann and Lamming 1999; Mann et al. 2006; Alcay et al. 2022a; Koca et al. 2023a).

To our knowledge, there is no study investigating oral progesterone administration on fertility parameters in goats. In this study, we hypothesized that oral progesterone administration may positively affect fertility parameters in synchronized goats. Therefore, this study investigated whether oral progesterone (altrenogest) administration to goats after mating during the breeding season had a potential positive effect on fertility parameters.

MATERIAL AND METHODS

Ethical Statement

Ethical approval was received for this study from Van Yuzuncu Yil University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision No: 2017/01) on 26.01.2017.

Location, Animals and Feeds

The current study was conducted at Van Yuzuncu Yil University Research and Application Farm, specifically during the breeding season (September-October) in Van-Türkiye. Van is situated at a high altitude of 1730 meters above sea level, precisely located at coordinates 42°40-44'30"E and 37°43-39'26"N. In this region, small ruminants show seasonal breeding characteristics most intensely in September-November.

In the study, 47 clinically healthy Hair goats between 3-5 years of age that had given birth at least once were used. In addition, 7 fertile bucks that have no reproductive problems were used for mating. Animals were housed under semi-extensive conditions during the study. In addition to grazing, the animals were fed with 0.5 kg of concentrated feed (1300 kcal/goat/day metabolizable energy, 60 g/goat/day crude protein) daily. No heat, light, feed, or water restrictions were applied.

Estrus Synchronization Protocol

Goats were randomly divided into two groups considering age, body weight, and body condition scores (BCS). The BCS values of these goats were scored from 1 to 5 (Ferguson et al. 1994; Cizmeci et al. 2022).

Flugestone acetate-impregnated intravaginal sponge (FGA, 20 mg, Chronogest-CR®, MSD Animal Health, France) was administered to all goats. For each goat, on day 10 of intravaginal sponge (VS) application, 480 IU (PMSG) (Chrono-Gest/PMSG®, MSD Animal Health, Germany) and 0.075 mg cloprostenol (Estropur®, Bioveta, Czech Republic) were injected intramuscularly. Sponges were removed from the vagina on the 12th day (Figure 1).

Estrus Detection (ED) and Mating

After the sponges were removed, estrus was detected daily (morning-evening) for 3 days with the foraging buck. Goats in estrus were exposed to bucks for 12 hours.

Oral Progesterone Administrations

Goats were randomly divided into two groups considering age, body weight, and body condition scores (BCS). To the best of our knowledge, this is the first report investigating the effect of oral progesterone (altrenogest) administration on fertility parameters in goats considering different doses, durations, and routes of administration. In the study, animals in G1 were treated with 4.4 mg (2 ml) of Altrenogest (Regumate®-MSD Animal Health, France) orally per day for 30 days, starting 24 hours after mating. No hormone supplementation was given to G2.

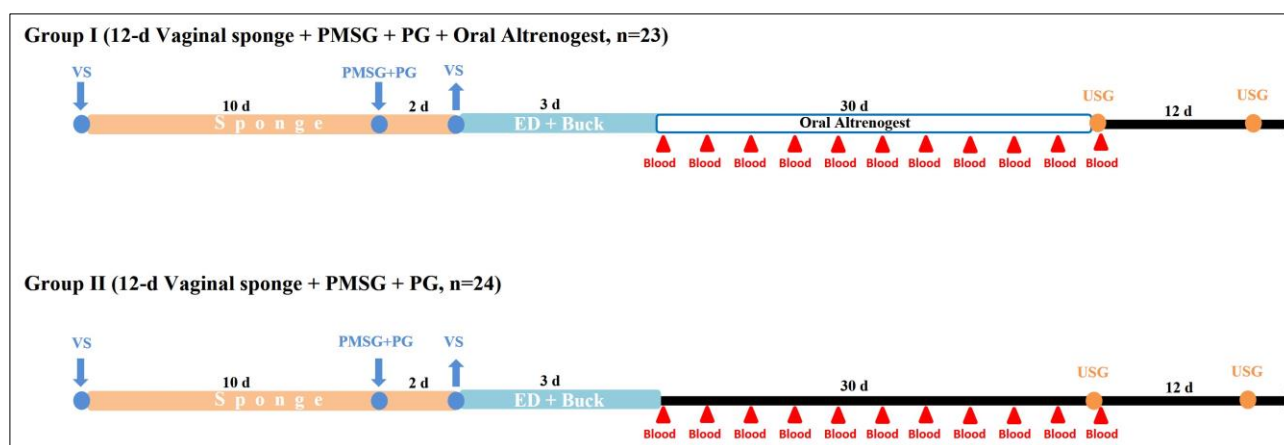


Figure 1: Schematic representation of the experimental design in G1 and G2.

Collection of Blood Samples and Progesterone Analysis

Blood samples were obtained from the jugular vein (vena jugularis) into tubes for serum progesterone analysis from day 1 after mating until day 30 (3-day intervals). During the procedure, the collected blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes to separate the serum. Then, serum samples were stored at -20 °C for further analyses. Serum progesterone concentrations were measured by immunoanalyzer method using automated commercial kit (Elecsys®, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Pregnancy Examinations

Pregnancy examinations were performed on the 30th after mating with trans-rectal ultrasonography (7.5 MHz Linear Probe, Honda HS 1500, Japan). In addition, in the previous examination, the goats diagnosed as pregnant were re-examined again on the 42nd day to confirm pregnancy.

Fertility Parameters

Fertility parameters, including estrus rate, onset of estrus, conception rate, pregnancy rate, kidding rate, multiple birth rate, fecundation rate, and litter size in goats, were determined using the formulas previously reported (Kuru et al. 2017).

Statistical Analysis

In our study, the sample size calculation considered a minimum power of 80% and a type 1 error of 5% for each variable. The Shapiro-Wilk test (for $n < 50$) was utilized to

assess the normal distribution of continuous measurements in the study. Since the timed measurements were found to deviate from normal distribution, nonparametric tests were employed. Descriptive statistics for continuous variables were expressed as mean, standard error, number, and percentage. The "Mann-Whitney U test" was utilized to compare continuous measurements based on categorical groups. The relationships between categorical variables were determined using the Chi-square (Fisher's exact) test. A statistical significance level (α) of 5% was considered in the calculations, and the SPSS (IBM SPSS for Windows, ver.26) statistical package program was employed for the analysis.

RESULTS

None of the intravaginally inserted sponges fell out, and there were no abortions, preterm births, or stillbirths during the study.

According to the data presented in Table 1, estrus was observed in 85.1% (40/47) of all animals included in the study. The mean onset time of estrus was recorded as 28.5 ± 1.59 SEM hours after the removal of the sponges.

Between G1 and G2 based on the findings presented in Table 1, no significant difference was observed regarding the pregnancy rate, conception rate, lambing rate, multiple birth rate, fecundity, and litter size ($p > 0.05$).

Table 1: Fertility parameters of Hair goats following treatment with oral progestagen (G1 altrenogest: 4.4 mg/day x 30 days, G2: control) after mating.

Parameters	G1 (n=23)	G2 (n=24)	Total (n=47)
Estrus rate (%)	87 (20/23)	83.3 (20/24)	85.1 (40/47)
Estrus onset (h) (mean±SEM)	29.8±1.75	27.2±1.63	28.5±1.59
Conception rate (%)	60 (12/20)	60 (12/20)	60 (24/40)
Pregnancy rate (%)	52.1 (12/23)	50 (12/24)	51.1 (24/47)
Lambing rate (%)	100 (12/12)	100 (12/12)	100 (24/24)
Multiple birth rate (%)	50 (6/12)	50 (6/12)	50 (12/24)
Fecundity (n)	1.05 (21/20)	1.15 (23/20)	1.1 (44/40)
Litter size (n)	1.75 (21/12)	1.92 (23/12)	1.83 (44/24)

Multiple birth rates were 50% in both groups, 1.75 and 1.92 in litter size for G1 and G2 groups, respectively ($p>0.05$). Birth types were found to be similar ($p>0.05$) in both groups (Table 2).

Table 2: Type of birth of Hair goats following treatment with oral progestagen (G1 altrenogest: 4.4 mg/day x 30 days, G2: control) after mating.

Type of birth	G1 (n=23)	G2 (n=24)	Total (n=47)
Single, %	50 (6/12)	50 (6/12)	50 (12/24)
Twin, %	33.4 (4/12)	25 (3/12)	29.2 (7/24)
Triplets, %	8.3 (1/12)	8.3 (1/12)	8.3 (2/24)
Quadruplet, %	8.3 (1/12)	16.7 (2/12)	12.5 (3/24)

The blood progesterone level in pregnant goats was found to be below 1 ng/ml (G1 0.38 ± 0.27 ng/ml and G2 0.46 ± 0.33 ng/ml) in both groups on the 1st day after the mating. The highest progesterone level was respectively detected in G1 on the 10th day after mating (13.19 ± 6.18 ng/ml) and in G2 on the 7th day (14.59 ± 5.58 ng/ml). After the highest measurement, a downward trend was recorded until the 13th day and after this day it remained almost stable at about 7-8 ng/ml. It was determined that the blood progesterone concentration was not statistically different between the groups for all times (Figure 2).

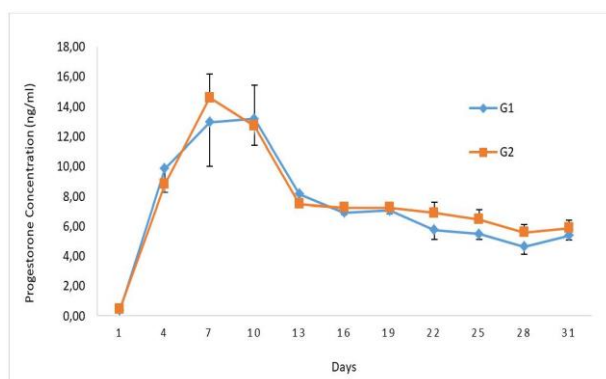


Figure 2: Serum progesterone levels in G1 and G2.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Improvement of production traits in ruminants are important for sustainability of animal production (Koca et al. 2023b; Turgut et al. 2023). And recent studies in ruminants focus on production traits such as milk traits, fertility traits, and reproductive parameters (Alcay et al. 2022b; Koca et al. 2024a; Koca et al. 2024b). In this context, reproductive hormones are commonly used for diagnosis of congenital diseases and evaluation of reproductive performance in ruminant species (Koca et al. 2024a; Koca et al. 2024b; Turgut and Koca 2024).

Progesterone supplementation has been shown to have positive effects on fertility in ruminants (Lopez-Gatius et al. 2004; Villaroel et al. 2004; Kenyon et al. 2005). Therefore, we investigated whether oral progesterone administration following synchronization enhanced fertility in goats. The expectation was that such administration would confer advantages in fertility parameters, including pregnancy/conception/lambing rates, multiple birth rates, fertility, and litter size.

Intravaginal devices have been used successfully for estrus synchronization in small ruminants (Kuru et al. 2020; Cetin et al. 2021). In our study, the estrus rate (85.1%) and estrus onset time (28.5 ± 1.59 hours) were determined, which corroborate with the results reported by findings of Omontese et al. (2013).

There are studies on progesterone supplementation after mating aiming to increase pregnancy rates in ruminants (Robinson et al. 1989; Lopez-Gatius et al. 2004; Villaroel et al. 2004; Kenyon et al. 2005; Nava-Trujillo et al. 2008; Arndt et al. 2009; Montes-Quiroza et al. 2018). Intravaginal devices were used for progesterone supplementation after mating in these studies. However, it was stated that intravaginal devices cause varying degrees of inflammation in the vagina during synchronization (Suárez et al. 2006; Manes et al. 2015) and can cause stress in animals during the application (Kuru et al. 2016; Kuru et al. 2018b). These changes have a negative effect on fertility (Scudamore 1988; Manes et al. 2016). While these methods aim to increase the pregnancy rate, pregnancy rates may be negatively affected indirectly due to the reasons mentioned above. In our study, progesterone (altrenogest) supplementation was administered orally to animals in a non-invasive way for the first time.

In this study, no statistically significant difference was observed between the fertility parameters such as pregnancy/conception/lambing/multiple birth rates, fecundity, litter size, and serum progesterone level. Nava-Trujillo et al. (2008) and Montes-Quiroz et al. (2018) reported the findings between the experimental and control groups of oral progesterone supplementation after mating using intravaginal devices in goats. In these studies, Nava-Trujillo et al. (2008) reported 55.5% in the control group and 44.4% in the experimental group, while Montes-Quiroz et al. (2018) found a similar pregnancy rate in both groups. In our study, we have observed a total pregnancy rate that aligns closely with the results reported by Nava-Trujillo et al. (2008). However, it is worth noting that Montes-Quiroz et al. (2018) reported a higher pregnancy rate compared to the one we have obtained. In our study, progesterone levels were similar between the experimental and control groups. The fertility outcomes achieved through progesterone supplementation after mating or insemination in other species exhibit variability. Arndt et al. (2009) stated that the pregnancy rate was not affected in cows after the application of an intravaginal device containing progesterone from day 4 to day 18 insemination. Kenyon et al. (2005) reported that the application of intravaginal materials containing progesterone at different times after mating in sheep had no effect on reproductive performance. Larson et al. (2007) reported that the pregnancy rate has been increased with intravaginal device application containing progesterone between day 3.5 and day 10 after insemination in cows. The results obtained in our study are also consistent with other reported studies (Nava-Trujillo et al. 2008; Arndt et al. 2009). Progesterone supplementation after mating/insemination may help prevent pregnancy losses in animals with luteal deficiency, but it does not seem effective in increasing fertility after synchronization.

Different findings have been obtained in studies using progesterone supplements to increase fertility in ruminants. Montes-Quiroza et al. (2018) reported that the blood progesterone level was higher after reinsertion of the CIDR devices after post-insemination synchronization compared to the group that did not undergo reinsertion. Likewise, Kenyon et al. (2005) reported that application of

the intravaginal devices containing progesterone after mating in sheep, causes increased plasma progesterone concentrations in sheep compared to the group that did not receive the inserts. Larson et al. (2007) reported that blood progesterone concentrations increased in cows in which they applied progesterone supplementation with intravaginal devices after insemination. In another study, Walton et al. (1990) employed a combination of intravaginal devices, human chorionic gonadotropin (hCG) injections, and progesterone injections after insemination in repeat breeder cows. Their findings indicated that following these interventions, plasma progesterone concentrations increased in cows that received intravaginal devices and hCG injections. However, there was no observed change in animals that received progesterone injections. Arndt et al. (2009) found that the administration of an intravaginal device containing progesterone after insemination did not increase blood progesterone concentration in cows. In our study, there was no statistically significant difference detected between the groups in blood progesterone levels at all times after the administration of exogenous oral progesterone after mating. The observed phenomenon is believed to be attributed to several potential factors. One possible reason could be that the dosage of the administered hormone is insufficient to significantly impact hormone levels. Additionally, it's conceivable that the administered hormone might be absorbed inefficiently through the digestive system, affecting its overall effectiveness.

In conclusion, exogenous oral progestagen administration after mating had no effect on fertility parameters in synchronized Hair-goats during the breeding season. Nevertheless, comprehensive investigations should be conducted across different breeding seasons and management systems using various progesterone analogues and different dosage regimens. These studies can help advance our understanding of how to optimize fertility outcomes in Hair goats and may provide valuable insights into improving reproductive success in this context.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by the Van Yuzuncu Yil University, Scientific Research Projects Coordination Unit (Project number: TSA-2017-5978).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: NÇ, SŞ

Supervision / Consultancy: AW, SŞ

Data Collection and / or Processing: NÇ, FE, DK

Analysis and / or Interpretation: MK, BAU

Writing the Article: NÇ, MK, DK

Critical Review: NÇ, MK, DK

REFERENCES

- Alcay S, Aktar A, Sağırkaya H (2022a). Embriyo transferi yapılan taşıyıcı ineklerde progesteron seviyesinin gebelik başarısı üzerine etkisi. *J Res Vet Med*, 41 (2), 70-73.
- Alcay S, Aktar A, Koca D et al. (2022b). Autologous platelet rich plasma have positive effect on ram spermatozoa during cryopreservation in non-breeding season. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 28 (2), 229-234.
- Arndt WJ, Holle AJ, Bauer ML et al. (2009). Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. *Can J Vet Res*, 73 (4), 271-274.
- Arosh JA, Banu SK, McCracken JA (2016). Novel concepts on the role of prostaglandins on luteal maintenance and maternal recognition and establishment of pregnancy in ruminants. *J Dairy Sci*, 99 (7), 5926-5940.
- Çetin N (2021). İneklerde Embriyonik Ölümlemlerden Korunmada Nonsteroid Antiinflatuar İlaç Uygulamaları ve Hormonal Girişimler. Ayvazoğlu Demir P and Kuru M (Eds). Tüm Yönleriyle İneklerde Embriyonik Ölümlemler ve Abortus. (p. 153-171). Akademisyen Kitabevi, Ankara.
- Çetin N, Eşki F, Mis L, Naseer Z, Bolacalı M (2021). Dynamics of oxidants, antioxidants and hormones during different phases of pregnancy in Hairy goats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 27 (1), 117-121.
- Cizmecı SU, Kivrak MB, Takci A, Dinc DA, Coskun B (2022). Evaluation of hormonal protocols for induction of synchronized estrus on reproductive indices in Kanga-Akkaraman ewes during the outbreeding season. *Small Rumin Res*, 216, 106787.
- Diskin MG, Morris DG (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim*, 43 (2), 260-267.
- Erdem E, Özbaşer FT, Atasoy F (2021). Determination of the reproductive characteristics of Saanen goats using estrus synchronization and the growth performances of kids. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 68, 173-176.
- Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N (1994). Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci*, 77 (9), 2695-2703.
- Gordon I (1983). Controlled Breeding in Farm Animals. (p. 197-208). Pergamon Press, Sydney.
- Kaya S, Kocak G (2022). Effect of Vitamin D Injection with Synchronization Protocol on Some Reproductive Parameters in Romanov Sheep in Breeding Season. *Van Vet J*, 33 (3), 76-79.
- Kenyon PR, Morris ST, West DM (2005). The effect of progesterone supplementation post mating and shearing of ewes in early pregnancy on the reproductive performance of ewes and birth weight of lambs. *N Z Vet J*, 53 (5), 321-325.
- Koca D, Aktar A, Turgut AO, Sağırkaya H, Alçay S (2023a). The Effect of Conventional Semen, Sexed-Semen, and Embryo Transfer on Pregnancy Rate in Holstein Dairy Cows. *J Res Vet Med*, 42 (2), 99-103.
- Koca D, Turgut AO, Çetin N et al. (2023b). Chemical composition and physical properties of milk in Norduz sheep. *Van Vet J*, 34 (3), 271-274.
- Koca D, Nak Y, Sendag S et al. (2024a). Anti-Müllerian hormone: A novel biomarker for detecting bovine freemartinism. *Reprod Domest Anim*, 59 (2), e14542.
- Koca D, Aktar A, Turgut AO, Sağırkaya H, Alçay S (2024b). Elecsys® AMH assay: Determination of Anti-Müllerian hormone levels and evaluation of the relationship between superovulation response in Holstein dairy cows. *Vet Med Sci*, 10 (4), e1509.
- Kuru M, Kuru BB, Sogukpinar O et al. (2020). Oestrus synchronisation with progesterone-containing sponge and equine chorionic gonadotropin in Pirlak ewes during the non-breeding season: can Toryum improve fertility parameters. *J Vet Res*, 64, 573-579.
- Kuru M, Kükürt A, Kulaksız R et al. (2016). Controlled internal drug release use for synchronization on paraoxonase activities and total sialic acid levels in Abasian goats. *J Cell Neurosci Oxidative Stress*, 8, 544.
- Kuru M, Oral H, Kulaksız R (2018a). Determination of gestational age by measuring defined embryonic and foetal indices with ultrasonography in Abaza and Gurcu goats. *Acta Vet Brno*, 87 (4), 357-362.
- Kuru M, Ögün M, Kulaksız R, Kükürt A, Oral H (2018b). Comparison of oxidative/nitrosative stress, leptin and progesterone concentrations in pregnant and non-pregnant Abaza goats synchronized with controlled internal drug release application. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 24 (6), 887-892.
- Kuru M, Sogukpinar O, Makav M, Çetin N (2017). Effect of barium selenate injections on fertility of Pirlak ewes subjected to estrus synchronization during nonbreeding season. *Med Weter*, 73 (8), 479-482.
- Larson SF, Butler WR, Currie WB (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim Reprod Sci*, 102 (1-2), 172-179.
- Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz JL, Hunter RHF (2004). Progesterone supplementation during the early fetal period reduces pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. *Theriogenology*, 62 (8), 1529-1535.
- Manes J, Campero C, Hozbor F, Alberio R, Ungerfeld R (2015). Vaginal Histological Changes after Using Intravaginal Sponges for Oestrous Synchronization in Anoestrous Ewes. *Reprod Domest Anim*, 50 (2), 270-274.
- Manes J, Hozbor F, Alberio R, Ungerfeld R (2014). Intravaginal placebo sponge affect negatively the conception rate in sheep. *Small Rumin Res*, 120 (1), 108-111.

- Manes J, Ríos G, Fiorentino MA, Ungerfeld R (2016).** Vaginal mucus from ewes treated with progestogen sponges affects quality of ram spermatozoa. *Theriogenology*, 85 (5), 856-861.
- Mann GE, Fray MD, Lamming GE (2006).** Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *Vet J*, 171 (3), 500-503.
- Mann GE, Lamming GE (1999).** The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod Domest Anim*, 34 (3-4), 269-274.
- Montes-Quiroza GL, Sánchez-Dávilab F, Grizeljic J et al. (2018).** The reinsertion of controlled internal drug release devices in goats does not increase the pregnancy rate after short oestrus synchronization protocol at the beginning of the breeding season. *J Appl Anim Res*, 46(1), 714-719.
- Nava-Trujillo H, Chango-Villasmil J, Finol-Parra G et al. (2008).** Brief communication: effect of post-mating progestagen administration on pregnancy rate in crossbred goats following an induced estrus. *Rev Cient*, 18 (5), 578-581.
- Omontese BO, Rekwot PI, Ate IU, Rwuaan JS, Makun HJ (2013).** Comparative estrus induction in indigenous Sahel goats using two progestagens (CIDR and FGA) and eCG. *Livest Res Rural Dev*, 25 (4), 25066.
- Robinson NA, Leslie KE, Walton JS (1989).** Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J Dairy Sci*, 72 (1), 202-207.
- Satterfield MC, Bazer FW, Spencer TE (2006).** Progesterone regulation of preimplantation conceptus growth and galectin 15 (LGALS15) in the ovine uterus. *Biol Reprod*, 75 (2), 289-296.
- Scudamore CL (1988).** Intravaginal sponge insertion technique. *Vet Rec*, 123 (21), 554.
- Spencer TE (2013).** Early pregnancy: Concepts, challenges, and potential solutions. *Anim Front*, 3 (4), 48-55.
- Spencer TE, Bazer FW (1996).** Ovine interferon tau suppresses transcription of the estrogen receptor and oxytocin receptor genes in the ovine endometrium. *Endocrinology*, 137 (3), 1144-1147.
- Spencer TE, Forde N, Lonergan P (2016).** The role of progesterone and conceptus derived factors in uterine biology during early pregnancy in ruminants. *J Dairy Sci*, 99 (7), 5941-5950.
- Spezzigu A, Sale S, Bua S (2013).** Ultrasound diagnosis of embryonic death and fetal death in small ruminants. *Summa Animalis da Reddito*, 8 (4), 86-93.
- Suárez G, Zunino P, Carol H, Ungerfeld R (2006).** Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrus ewes. *Small Rumin Res*, 63 (1-2), 39-43.
- Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt EP (1994).** Embryo health and mortality in sheep and cattle. *J Anim Sci*, 72 (3), 16-30.
- Turgut AO, Gulendag E, Koca D, Uner S (2023).** Milk Composition Traits of Hamdani Crossbreed Sheep Raised Under Extensive Management. *ISPEC J Agri Sci*, 7 (2), 271-279.
- Turgut AO, Koca D (2024).** Serum Anti-Müllerian Hormone Levels during Estrus and Diestrus Phases of the Estrous Cycle and its Possible Effect on Fertility in Cross-bred Hamdani Sheep. *Pak Vet J*, 44 (1), 205-209.
- Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A (2000).** Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions. *Anim Reprod Sci*, 60, 131-143.
- Villarroel A, Martino A, BonDurant RH, Dèletang F, Sischo WM (2004).** Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*, 61 (7-8), 1513-1520.
- Walton JS, Halbert GW, Robinson NA, Leslie KE (1990).** Effects of progesterone and human chorionic gonadotrophin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows. *Can J Vet Res*, 54 (3), 305-308.



Pekinez Irkı Bir Köpekte Eklampsia Olgusu

Almina GÜNEŞ^{1,*} Ömer Faruk KATANALP¹ Besra ÇAKMAK¹ Nebahat YETÜT NARİN¹

¹Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

Geliş Tarihi: 18.03.2024

Kabul Tarihi: 25.05.2024

ÖZ

Eklampsia kan kalsiyum seviyesindeki düşüştan kaynaklanan akut ve ölümcül olabilen metabolik bir hastalıktır. Eklampside ilk gözlenen semptomlar huzursuzluk, aşırı agresyon ve buna bağlı davranışlar olup takiben sallantılı yürüyüş, dispne, hipersalivasyon, hipertermi, taşikardi, konvülsiyon ve ataksi gözlenebilmektedir. Bu vakada pekinez ırkı bir köpekte doğumdan sonra şekillenen eklampsinin klinik, laboratuvar bulguları ve tedavi sürecinde edilen deneyimlerin bildirilmesi amaçlandı. Araştırma materyalini Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne inapetenz ve konvülsiyon şikâyetleri ile getirilen pekinez ırkı dişi bir köpek oluşturdu. Klinik muayenede taşikardi, taşipne, hipersalivasyon, trismus, ayağa kalkamama ile mukoza ve konjunktivaların hiperemik görünüşte olduğu belirlenirken rektal sıcaklık ise 40.2 °C olarak tespit edildi. Tam kan sayımı ve serum biyokimyasal analiz sonuçlarına ait bazı parametrelerin referans aralıklarda olmadığı tespit edildi. Eklampsia tanısı konularak tedavisine başlanan köpeğe subkutan kafein, intravenöz kalsiyum ve %5 dekstroz uygulandı. Tedavinin ikinci gününde yapılan fiziksel muayenede ise klinik iyileşme ile hematolojik ve serum biyokimyasal parametrelerin referans aralıklarda olduğu tespit edilerek tedavi sonlandırıldı.

Anahtar Kelimeler: Eklampsia, Kalsiyum, Köpekler.

ABSTRACT

A Case of Eclampsia in a Pekingese Dog

Eclampsia is an acute and potentially fatal metabolic disease caused by a decrease in blood calcium levels. The initially symptoms observed in eclampsia are restlessness, excessive aggression and related behaviors, followed by abnormal gait, dyspnea, hypersalivation, hyperthermia, tachycardia, convulsion and ataxia. In this case, it was aimed to report the clinical and laboratory findings of eclampsia after birth in a Pekingese dog and the experiences gained during the treatment process. The research material consisted of a female Pekingese dog brought to Dicle University Veterinary Faculty Animal Hospital with complaints of inadequacy and convulsions. In the clinical examination, tachycardia, tachypnea, hypersalivation, trismus, inability to stand and hyperemic appearance of the mucosa and conjunctiva were determined, while the rectal temperature was determined to be 40.2 °C. It was observed that some parameters of the complete blood count and serum biochemical analysis results were not within the reference ranges. Subcutaneous caffeine, intravenous of calcium and 5% dextrose were administered to the dog, which was diagnosed with eclampsia. In the physical examination performed on the last day of the treatment, it was detected that there was an improvement and as a result of the hematological and serum biochemical analyses, all values were within the physiological reference range and the treatment was completed.

Keywords: Calcium, Dogs, Eclampsia.

GİRİŞ

Eklampsia, puerperal tetani veya postpartum hipokalsemi olarak da adlandırılan kan kalsiyum seviyesindeki düşüştan kaynaklanan akut ve ölümcül olabilen metabolik bir hastalıktır (Singh ve ark. 2017; Tufani ve ark. 2019; Saritha ve ark. 2022). Hastalık diyetdeki kalsiyum ve fosfor dengesizlikleri, süt yoluyla kalsiyum kaybı, kan albumin düzeyindeki değişiklikler ve paratiroidizm kaynaklı gelişebilmektedir (Davidson 2012; Pradeep ve ark. 2022;

Saraçoğlu ve ark. 2022). Kan kalsiyum konsantrasyonunun azalmasıyla birlikte huzursuzluk ve aşırı agresif davranışlar, sallantılı yürüyüş, taşikardi, dispne, hipersalivasyon, hipertermi, konvülsiyonlar ve ataksi gibi belirtiler gözlenmektedir (Fasanmi ve ark. 2018; Vijay ve ark. 2023). İntravenöz kalsiyum uygulamaları yapılmayan klinik olgular, geri dönüşümsüz serebellar hasar ve nadiren de olsa ölüm ile sonuçlanabilmektedir (Vijay ve ark. 2023).



Bu olgu sunumunda pekinez ırkı bir köpekte doğumu takiben görülen eklampsinin klinik ve laboratuvar bulguları ile tedavi sürecinde edilen deneyimlerin bildirilmesi amaçlandı.

VAKANIN TAKDİMİ

Çalışma materyalini Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi'ne inapetenz ve konvülsiyon şikâyetleri ile getirilen 3.5 kg canlı ağırlıkta, 1.5 yaşındaki pekinez ırkı dişi bir köpek oluşturdu. Çalışma için hasta sahibinden bilgilendirme ve onam formu alınmıştır. Anamnezde hastanın 10 gün önce doğum yaptığı, doğumu takip eden 9. günde inapetenz, arka ayaklarda hareketsizlik, yerde yatma, çenede tremorlar gibi çeşitli klinik bulguların yanı sıra vulvada hemorajik akıntı görüldüğü bilgisi alındı. Klinik muayenede taşikardi (130 vuruş/dakika), taşipne (85 solunum sayısı/dakika), hipersalivasyon, trismus, ayağa kalkamama ile muza ve konjunktivaların hiperemik görünüşte olduğu belirlenirken rektal sıcaklık ise 40.2 °C olarak tespit edildi.

Tam kan sayımı ve serum biyokimyasal analizleri için vena cephalica antebraçiden antikoagülanlı ve antikoagülanlı tüplere kan örnekleri alındı. Antikoagülanlı tüplere alınan örneklerin bekletilmeden kan sayım cihazı (Mindray BC-2800 Vet, Çin) ile total lökosit (WBC) sayısı, lenfosit (Lenf), monosit (Mon), granülosit (Gran), total eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu (MCHC), kırmızı hücre dağılımı (RDW), platelet (PLT), ortalama platelet hacmi (MPV), eozinofil (Eos) analizleri yapıldı. Antikoagülanlı tüplere alınan örnekler ise oda sıcaklığında pıhtılaşması beklendikten sonra 3000 devir/10 dakika santrifüj edildi ve aynı gün biyokimya cihazı (Fujifilm DRI-CHEM NX500, Japonya) ile kalsiyum (Ca), albumin (Alb), kan üre nitrojen (BUN), aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), total protein (TP) ve kreatinin (Cre) analizleri yapıldı.

Tam kan sayımında WBC, Gran sayısı ile Gran (%) ve PLT'nin referans değerlere göre yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 1). Serum biyokimyasal analiz sonuçları referans değerleri ile karşılaştırıldığında Ca seviyesinin düşük (6 mg/dl), AST (99 U/l) ve BUN (50.3 mg/dl) seviyelerinin ise yüksek olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Anamnez, klinik muayene bulguları (konvülsiyon, tremorlar, ayağa kalkamama) ve biyokimyasal analiz sonuçları (hipokalsemi; Ca = 6.0 mg/dl) baz alınarak eklampsi tanısı konuldu. Tedavi amacıyla 0.2 ml subkutan kafein (Kafemet®, Teknovet, Türkiye) enjeksiyonu, kalsiyum glukonat (Calciles®, Vem ilaç, Türkiye) 1 ml/kg dozda 100 ml %0.9'lük NaCl içerisine eklenerek yavaş intravenöz infüzyon şeklinde uygulandı (Singh ve ark. 2017; Tufani ve ark. 2019; Saritha ve ark. 2022). Hasta ikinci gün hastaneye getirildiğinde serum Ca düzeyinin kontrol edilmesi amacıyla tekrar kan örneği alındı. Analiz sonucunda serum Ca düzeyi 8.9 mg/dl olarak tespit edildi ve hastaya aynı tedavi protokolü uygulandı. Tedavi süreci ile ilgili tüm bilgiler ve tedavinin bir süre devam etmesi gerektiği hasta sahibine aktarılmasına rağmen hasta tedavinin 3. gününde getirilmedi. Bu nedenle tedavi süreci tamamlanamadı.

Tablo 1: Eklampsi tanısı konulan köpeğin tam kan sayımı bulguları.

Table 1: Hematological findings of the dog diagnosed with eclampsia.

Parametre	Sonuç	Referans aralık*
WBC (10 ⁹ /l)	22.1	6.0 – 17.0
Lenf (10 ⁹ /l)	2.7	0.8 – 5.1
Mon (10 ⁹ /l)	0.5	0.0 – 1.8
Gran (10 ⁹ /l)	18.9	4.0 – 12.6
Lenf (%)	12.0	12.0 – 30.0
Mon (%)	2.7	2.0 – 9.0
Gran (%)	85.3	60.0 – 83.0
RBC (10 ¹² /l)	5.78	5.5 – 8.5
HGB (g/dl)	12.6	11.0 – 19.0
HCT (%)	39.3	39.0 – 56.0
MCV (fl)	68	62.0 – 72.0
MCH (g/dl)	21.7	20.0 – 25.0
MCHC (fl)	32.0	30.0 – 38.0
RDW (%)	12.8	11.0 – 15.5
PLT (10 ⁹ /l)	1003	117 – 460
MPV (fl)	7.3	7.0 – 12.0
Eos (%)	1.6	1.0 – 10.0

WBC: Total lökosit sayısı, Lenf: Lenfosit, Mon: Monosit, Gran: Granülosit, RBC: Total eritrosit sayısı, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu, RDW: Kırmızı hücre dağılımı, PLT: Platelet, MPV: Ortalama platelet hacmi, Eos: Eozinofil. *(Turgut 2000).

Tablo 2: Eklampsi tanısı konulan köpeğin serum biyokimyasal analiz sonuçları.

Table 2: Serum biochemical analysis findings of the dog diagnosed with eclampsia.

Parametre	Tedavi öncesi	Referans Aralık*
Ca (mg/dl)	6.0	9.3 – 12.1
Alb (g/dl)	3.6	2.6 – 4.0
AST (U/l)	99	17 – 44
ALT (U/l)	62	17 – 78
TP (g/dl)	6.0	5 – 7.2
BUN (mg/dl)	50.3	9.2 – 29.2
Cre (mg/dl)	0.98	0.4 – 1.4

Ca: Kalsiyum, Alb: Albumin, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, TP: Total protein, BUN: Kan üre nitrojen, Cre: Kreatinin. *(Turgut 2000).



Şekil 1: Eklampsili köpek a) ayakta durmada güçlük ve huzursuz, endişeli görünüm, b) tedavi sırasındaki görüntüsü, c) tedavi sonrası köpeğin görünümü.

Figure 1: The dog with eclampsia a) inability to stand and anxious restlessness, b) appearance during treatment, c) the dog after treatment.

Tedaviden 16 gün sonra hasta benzer şikâyetler ile hastaneye tekrar başvurdu. Klinik muayenede taşikardi (125 vuruş/dakika), taşipne (70 solunum sayısı/dk), konvülsiyon, ayakta durmada güçlük ve rektal ısının 39.2°C olduğu belirlendi. Bu nedenle hematolojik ve biyokimyasal analizler tekrarlandı. Yapılan hematolojik analizler (Tablo 3) sonucunda bütün parametrelerin referans aralıklarında olduğu tespit edilirken serum biyokimyasal analizlerde ise hipokalsemi, hiperfosfatemi ve üremi belirlendi (Tablo 4).

Tablo 3: Eklampsili köpeğin hastaneye ikinci kez başvurmasından sonra elde edilen tam kan sayımı bulguları.

Table 3: Hematological findings obtained after the dog with eclampsia was admitted to the hospital for the second time.

Parametre	Sonuç	Referans Aralık*
WBC (10 ⁹ /l)	10.3	6.0 – 17.0
Lenf (10 ⁹ /l)	2.3	0.8 – 5.1
Mon (10 ⁹ /l)	0.6	0.0 – 1.8
Gran (10 ⁹ /l)	7.4	4.0 – 12.6
Lenf (%)	22.4	12.0 – 30.0
Mon (%)	6.0	2.0 – 9.0
Gran (%)	71.6	60.0 – 83.0
RBC (10 ¹² /l)	6.16	5.5 – 8.5
HGB (g/dl)	13.1	11.0 – 19.0
HCT (%)	42.6	39.0 – 56.0
MCV (fl)	69.2	62.0 – 72.0
MCH (g/dl)	21.2	20.0 – 25.0
MCHC (fl)	30.7	30.0 – 38.0
RDW (%)	12.1	11.0 – 15.5
PLT (10 ⁹ /l)	193	117 – 460
MPV (fl)	9.2	7.0 – 12.0
Eos (%)	1.6	1.0 – 10.0

WBC: Total lökosit sayısı, Lenf: Lenfosit, Mon: Monosit, Gran: Granülosit, RBC: Total eritrosit sayısı, HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Ortalama eritrosit hacmi, MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini, MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, RDW: Kırmızı hücre dağılımı, PLT: Platelet, MPV: Ortalama platelet hacmi, Eos: Eozinofil. *(Turgut 2000).

Tedavi amacıyla 0.2 ml subkutan kafein (Kafemet®, Teknovet, Türkiye) enjeksiyonu ile 1 ml/kg dozda kalsiyum glukonat (Calciles®, Vem ilaç, Türkiye) 100 ml %0.9'luk NaCl içerisine eklenerek yavaş intravenöz infüzyon şeklinde uygulandı.

Ayrıca tedaviye ek olarak olarak 10 ml/kg dozda intravenöz %5'lik dekstroz uygulandı. Tedavi 3 gün süreyle uygulandı ve tedavi süresince günlük olarak serum biyokimyasal analizler tekrarlandı. Yapılan analiz sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: Eklampsili köpeğin hastaneye ikinci kez başvurmasından sonra elde edilen serum biyokimyasal analiz sonuçları.

Table 4: Serum biochemical analysis findings obtained after the dog with eclampsia was admitted to the hospital for the second time.

Parametre	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası 1. gün	Referans Aralık*
Ca (mg/dl)	8.3	9.4	9.3 – 12.1
Mg (mg/dl)	1.7	2.1	1.90–2.60
AST (U/l)	46	27	17 – 44
ALT (U/l)	44	43	17 – 78
IP (mg/dl)	5.6	3.6	1.9 – 5.0
BUN (mg/dl)	37	18.2	9.2 – 29.2

Ca: Kalsiyum, Mg: Magnezyum, AST: Aspartat aminotransferaz, ALT: Alanin aminotransferaz, IP: Fosfor, BUN: Kan üre nitrojen. *(Turgut 2000).

Tedavinin son gününde yapılan muayenede klinik bulgularda iyileşme gözlenirken yapılan hematolojik ve serum biyokimyasal analiz sonuçlarında tüm parametrelerin referans aralıklarında olduğu belirlendi ve tedavi sonlandırıldı (Şekil 1).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Eklampsi köpeklerde hipokalseminin neden olduğu akut seyirli ve yaşamı tehdit eden bir hastalıktır. Köpeklerde ve daha nadiren kedilerde görülmekle birlikte küçük ırklarda daha sık karşılaşılmaktadır (Vijay ve ark. 2023). Genellikle

doğumdan sonra şekillenmekte ancak bazen gebelik veya doğum sırasında da görülebilir ki bu durumlarda güç doğum olabilir (Tufani ve ark. 2019). Düşük serum kalsiyum düzeylerinin görülme nedenleri arasında kandaki albumin düzeyi düşüklüğü, paratiroid bezinin negatif etkileri, diyetlerin kalsiyum ve fosfor yönünden dengesiz olması ve laktasyon döneminde süt salgılanması gibi nedenler yer almaktadır (Vijay ve ark. 2023). Eklampside huzursuzluk, sallantılı yürüyüş, dispne, hipersalivasyon, hipertermi, taşikardi, konvülsiyonlar ve ataksi semptomları görülebilir (Dimitrov ve ark. 2016; Saritha ve ark. 2022). Bu olguda da pekinezi ırkı dişi bir köpekte mukoza ve konjunktivalarda hiperemi, taşikardi, taşipne, hipersalivasyon, tremorlar, ayağa kalkamama ve rektal ısının 40.2°C olduğu belirlenerek klinik bulguların literatür verileri ile paralellik gösterdiği tespit edildi.

Eklampsili köpeklerde hematolojik parametreler referans aralıklarda olabileceği gibi (Fasanmi ve ark. 2018) MCV ve MCH değerlerinde artış gözlenebileceği (Dimitrov ve ark. 2016) bildirilmiştir. Bu olguda ise WBC, Gran sayısı ile Gran % ve PLT değerlerinin referans aralıklara göre yüksek olduğu ve literatürlerle uyumunu gösterdiği tespit edildi. Bu durumun eklampsiye eşlik eden pyometradan kaynaklı olduğu kanısına varıldı. Mevcut olguda köpeğin hastaneye ilk başvurduğu dönemde serum AST değeri referans aralık ile karşılaştırıldığında artmış olduğu görülürken hastanın ikinci başvurduğu dönemde ise AST dahil bakılan bütün biyokimyasal parametrelerin referans aralıklarda olduğu tespit edildi. Fasanmi ve ark. (2018) eklampsi olgularında ALT ve Cre değerlerinin referans aralığında olduğunu bildirmiştir. Biyokimyasal analiz verilerini karşılaştıracak yeterli literatüre ulaşılmamasına karşın tespit edilen sonuçların araştırmacıların (Fasanmi ve ark. 2018) verileri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Eklampsi tedavisinde %10'luk kalsiyum glukonatın 0.5-1.0 mg/kg dozunda yavaş intravenöz infüzyon şeklinde uygulanması önerilmektedir (Dimitrov ve ark. 2016; Fasanmi ve ark. 2018; Tufani ve ark. 2019). Dimitrov ve ark. (2016), kan glukoz seviyesindeki düşüşlerin eklampsi olgularında kramp ve tetanileri şiddetlendirdiğini ifade etmiştir. Bu amaçla %5'lik glukoz solüsyonlarının intravenöz uygulamalarının tedavi başarısına katkı sunacağı belirtilmiştir (Dimitrov ve ark. 2016). Mevcut olguda da 100 ml %0.9 NaCl içerisine 3,5 ml kalsiyum glukonat solüsyonu (1 ml/kg) eklenerek yavaş infüzyon şeklinde uygulanmasını takiben %5'lik dekstroz solüsyonu intravenöz yolla uygulandı.

Eklampsili köpeklerde tedavi öncesi serum Ca düzeyinin referans değerlerin altında olduğu ve tedavi süresince yavaş infüzyon şeklinde %10'luk kalsiyum glukonat uygulamasından sonra referans aralığına ulaştığı bildirilmektedir (Fasanmi ve ark. 2018; Tufani ve ark. 2019; Vijay ve ark. 2023). Mevcut olguda da hastanın tedavi öncesi serum Ca değeri 6 mg/dl iken tedaviden sonra referans değerine yaklaştığı tespit edildi.

Dişi köpeklerde süt verme döneminde kalsiyum ihtiyacı katlanarak artmaktadır. Yavruların annelerini emmesi, süt salgısında artışa neden olarak daha fazla kalsiyum kaybına yol açmaktadır (Vijay ve ark. 2023). Mevcut olguda ilk tedaviden sonra köpeğin yavrularından ayrılması ve süt vermeye devam etmesinin hastanın tam olarak iyileşmemesine ve klinik tablonun nüks etmesine neden olduğu düşünülmektedir. Böylece emzirmenin tedavi başarısı üzerine doğrudan etkilerinin olabileceği gözlemlendi.

Sonuç olarak; eklampsinin tedavisi sürecinde annenin süt vermeye devam etmesi durumunda hastalığın nüks edebileceği ve bunun da tedavi başarısını etkili olduğu belirlenmiştir. Tedavi sürecinde kalsiyum glukonat solüsyonlarına ek olarak uygulanacak %5'lik dekstroz solüsyonlarının ise olumlu klinik yansımalarının olduğu düşünülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: ÖFK
Denetleme/Danışmanlık: AG, ÖFK
Veri Toplama ve/veya İşleme: AG, ÖFK, BÇ, NYN
Analiz ve/veya Yorum: AG, ÖFK, BÇ
Makalenin Yazımı: AG, ÖFK, BÇ
Eleştirel İnceleme: AG

KAYNAKLAR

- Davidson AP (2012).** Reproductive causes of hypocalcemia. *Topics In Compan An Med*, 27 (4), 165-166.
- Dimitrov D, Mehandzhisky N, Peev I, Georgiev GA (2016).** Case report of eclampsia in dog, the role of dg sante in the adoption of veterinary legislation. *Tradit Mod Vet Med*, 1 (1), 39-43.
- Fasanmi O, Olaitan-Williams A, Nwufoh O et al. (2018).** A case of periparturient eclampsia and the consequences in a German-shepherd bitch. *J Anim Sci Vet Med*, 3 (5), 160-164.
- Pradeep S, Gowtham RM, Kavin R (2022).** Successful management of postpartum eclampsia in a queen. *Indian J Anim Health*, 1-3.
- Saraçoğlu B, Haney DC, Yaprakçı Mv, Civelek T (2022).** Gastric bleeding case associated with hypocalcemia in a dog. *Kocatepe Vet J*, 15 (3), 363-367.
- Saritha G, Swetha K, Reddy BS (2022).** Diagnosis and treatment of eclampsia in small breed dogs-a review of five cases. *Vet Pract*, 23 (2), 325-326.
- Singh K, Singh R, Singh P, Singh S (2017).** Management of eclampsia in bitches. *Int J Vet Sci Anim Husband*, 2 (5), 11-12.
- Tufani NA, Haq AU, Sofi KA et al. (2019).** Eclampsia with metritis-mastitis-agalactia complex in a boxer bitch. *Indian J Canine Pract*, 11 (2), 111-113.
- Turgut K (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. 2. Baskı. Bahçivanlar Basım Sanayi, Konya.
- Vijay A, Chandrasekar M, Sureshkumar R, Ranjithkumr M (2023).** Clinical management of eclampsia in a cockers paniel dog. *Int J Vet Sci Anim Husband*, 8 (5), 284-285.



Fusarium fujikuroi, *Mucor racemosus*: Sultan Papağanı (*Nymphicus hollandicus*)

Senem ÖZTÜRK KÖSE^{1,*}  Banur BOYNUKARA²  Hacı Halil BIYIK¹ 

¹Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aydın, Türkiye

²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

Geliş Tarihi: 07.05.2024

Kabul Tarihi: 25.06.2024

ÖZ

Bu çalışmada iştahsızlık, kilo kaybı ve dışkıda kötü koku şikayetleri ile getirilen Sultan papağanının (*Nymphicus hollandicus* Kerr, 1972) dışkı örneği mikolojik yünden incelenmiştir. Dışkı örneğinin aseptik şartlarda seri dilüsyonları yapılarak Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) ve kanlı agar besiyerlerine inokülasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonrası örnekler saf koloniler olarak ayrılmış ve bu saf kolonilerden morfolojik, mikroskopik ve moleküler tanımlamalar yapılmıştır. Moleküler tanımlamalarda fenol-kloroform izoamilalkol DNA izolasyon yöntemi kullanılmıştır. Fungus DNA'larından PCR amplifikasyonu Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarında ve hizmet alımı olarak ticari firmalarda yaptırılmıştır. Sekanslama hizmetleri Innopenta Biyoteknoloji ve Macrogen Europe tarafından yapılmıştır. ITS1 (5⁰-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3⁰) / ITS4 (5⁰-TCCTCCGTTATTGATATGC-3⁰) primerleri kullanılmıştır. Fungusların tanımlanmasında nBLAST programı kullanılmış ve genetik benzerlik oranlarına göre türler eşleştirilmiştir. Sekans sonuçları GenBank sisteminde kayıt altına alınmış ve kültür koleksiyonuna eklenmiştir. Moleküler çalışmalar sonrasında *Fusarium fujikuroi* HBF578, *Mucor racemosus* HBB579 suşları tanımlanmıştır. Literatür çalışmaları incelendiğinde *Fusarium fujikuroi* HBF578 suşunun Sultan papağanı'ndan daha önce izole edilmediği ilk kez bu çalışmada raporlandığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: *Fusarium fujikuroi*, *Mucor racemosus*, Sultan papağanı (*Nymphicus hollandicus*).

ABSTRACT

Fusarium fujikuroi, *Mucor racemosus*: Cockatiel (*Nymphicus hollandicus*)

In this study, the stool sample of a cockatiel (*Nymphicus hollandicus* Kerr, 1972), brought with complaints of loss of appetite, weight loss and bad smell in the stool, was examined mycologically. Serial dilutions of the stool sample were made under aseptic conditions and inoculated into Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) and blood agar media. After incubation, the samples were separated as pure colonies and morphological, microscopic and molecular identifications were made from these pure colonies. Phenol-chloroform isoamylalcohol DNA isolation method was used for molecular identification. PCR amplification from fungal DNAs was carried out at Aydın Adnan Menderes University Biology Department Microbiology Laboratory and by commercial companies as service procurement. Sequencing services were provided by Innopenta Biotechnology and Macrogen Europe. Primers ITS1 (5⁰-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3⁰) / ITS4 (5⁰-TCCTCCGTTATTGATATGC-3⁰) were used. The nBLAST program was used to identify fungi and species were matched according to their genetic similarity rates. Sequence results were recorded in the GenBank system and added to the culture collection. After molecular studies, *Fusarium fujikuroi* HBF578 and *Mucor racemosus* HBB579 strains were identified. When the literature studies were examined, it was seen that the *Fusarium fujikuroi* HBF578 strain had not been isolated from the Cockatiel before and was reported for the first time in this study.

Keywords: *Cockatiel* (*Nymphicus hollandicus*), *Fusarium fujikuroi*, *Mucor racemosus*.

GİRİŞ

Sultan papağanı (*Nymphicus hollandicus* Kerr, 1972), Cacatuidae familyasına ait Avustralya kökenli bir kuş olup, (Entegre Taksonomik Bilgi Sistemine göre) dünyanın en küçük kakadu türünü temsil etmektedir (Brilhante ve ark. 2010). Hayvanlarda ve insanlarda bağışıklık sistemi güçlüyse fungal hastalıklar tolere edilebilirken, bazı

durumlarda immünolojik ve fizyolojik hastalıklara neden olabilir (Mirhosseini ve Khosravi 2023). Kuşlar, solunum ve sinir sistemi anatomileri nedeniyle mikotik etkenlere karşı hassastır ve serumları çok zayıf antifungal aktiviteye sahiptir. Ancak kuşların gastrointestinal sistemi yapısından dolayı mantarların gelişmesi için daha uygun bir ortam olabilir (Shivachandra ve ark. 2004).



Yabani ve evcil kuşlar üzerine yapılan çalışmalarda, gastrointestinal sistem mikrobiyotaları incelenmiş; *Saccharomyces*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Trichosporon* ve *Rhodotorula* gibi maya türleri, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Rhizopus* gibi filamentli funguslar tespit edilmiştir (Brilhante ve ark. 2010; Simi ve ark. 2018; Boynukara ve ark. 2019).

Kuşların barsaklarında, kloaklarında ve dışkılarında bulunan mikrobiyota ile ilgili çalışmalar, patojen mantarların yayılma yolları hakkında da yeni bilgiler sunmuştur (Gómez-De-Anda ve ark. 2023). Araştırmalarda kuşların yaklaşık %50'sinin, insanlar ve kendileri için patojen olabilecek mantarların konakçısı ve taşıyıcısı haline geldiği görülmüştür (Abbas ve ark. 2017). Taşıyıcı kuşlar, patojen mantarların büyümesini engelleyen yüksek vücut sıcaklıkları nedeniyle genellikle hastalanmazlar ve bu mantarlar, bağışıklık sistemi zayıf olan insanların veya diğer memelilerin vücut sıcaklıklarında tehlikeli hale gelir (Dynowska ve Kisicka 2005).

Bu çalışmada; kilo kaybı, iştahsızlık, ilgisizlik ve dışkıda ekşimsi kötü koku şikayetleri olan 6.5 yaşındaki bir Sultan papağanı'nın dışkı örneği mikolojik yönden incelenmiş ve izole edilen türlerin moleküler tanımlamaları yapılmıştır.

VAKANIN TAKDİMİ

Bu çalışmada iştahsızlık ve kilo kaybı olan Sultan papağanına ait (Şekil 1) dışkı örneği kullanılmıştır. Çalışma için hasta sahibinden bilgilendirme ve onam formu alınmıştır.



Şekil 1: Dışkı örneği incelenen hasta papağan.

Figure 1: Sick parrot whose fecal sample were examined.

Dışkı örneklerinin fizyolojik tuzlu su (%0.85) kullanılarak seri dilüsyonları hazırlanmış Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) ve kanlı agar besiyerlerine inokülasyonu yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında gelişen koloniler malt ekstre agar besiyerine tek koloni ekim tekniği ile saflaştırılmıştır. Koloni morfolojileri ve mikroskopik görüntüleri incelenerek morfolojik tanımlamaları yapılmıştır (Boynukara ve ark. 2023).

Saf koloniler DNA izolasyonu için 1 ml'lik steril saf su içerisine aktırılarak -20 °C'de 1 gece saklanmıştır. DNA izolasyonu fenol-kloroform izoamil alkol yöntemi kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'lar jel elektroforezi yöntemi ile görüntülenmiş ve Nanodrop spektrofotometresi (Thermo Fisher) ile saflık ve miktar kontrolleri yapılmıştır. Örneklerin PCR amplifikasyonu için ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') primerleri kullanılmıştır. PCR amplifikasyonunda mastermix (Thermo Fisher) kullanılmıştır. Bir fungal örneğin PCR amplifikasyonu Aydın Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılmış olup sekans hizmeti Innopenta Biyoteknoloji firmasından alınmıştır. Diğer örneğin PCR amplifikasyonu ve sekans hizmeti Macrogen Europa şirketi tarafından gerçekleştirilmiştir. Sekans sonuçları için nBLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) adresindeki benzerlik oranları karşılaştırılmış ve benzerlik oranları incelenerek tür tanımlaması yapılmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

İzole edilen ve morfolojik olarak tanımlanan fungal türlere ait DNA'ların Nanodrop spektrofotometresi (Thermo Fisher) ile saflık ve miktar kontrolleri sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Moleküler olarak tanımlaması yapılan türlerin GenBank kayıtları oluşturulmuş ve aksesyon numaraları alınarak kültür koleksiyonumuza eklenmiştir (Tablo 2). Yapılan analiz sonuçlarına göre tanımlanan türler *Fusarium fujikuroi* HBF578 ve *Mucor racemosus* HBF579'dir.

Tablo 1: Nanodrop spektrofotometresi DNA saflık ve miktar ölçüm sonuçları.

Table 1: Nanodrop spectrophotometer DNA purity and quantity measurement results.

Tür adı	Nükleik asit miktarı (ng/µl)	260/280 Abs
<i>Fusarium fujikuroi</i> HBF578	38.4	1.95
<i>Mucor racemosus</i> HBF579	181.7	1.90

Tablo 2: Tanımlanan türlerin sekans sonuçları.

Table 2: Sequence results of identified species.

Tür Adı	Aksesyon numarası	Benzerlik (%)
<i>Fusarium fujikuroi</i> HBF578	OR583900	99
<i>Mucor racemosus</i> HBF579	PP738383	100

Kuşlar kanatları ile fungal enfeksiyonları aerosol olarak taşımaktadırlar. Özellikle pet cinsi olan kuşların bulunduğu ortamlara duyarlı insanlarda da farklı enfeksiyonlar oluşmaktadır (Boynukara ve ark. 2019)

Mucor cinsi üyeleri mukormikosis'e neden olan funguslardır. *Mucor* türleri kuşlarda ve diğer hayvanlarda hastalıklara neden olmaktadır (Abbas ve ark. 2017; Ciftci ve ark. 2024). Kuşlar üzerine yapılan bir çalışmada, *Mucor racemosus* türünün primer hastalık etkeni olmayıp bağışıklığı düşmüş kuşlarda sekonder enfeksiyon oluşturduğu belirtilmiştir (Galosi ve ark. 2022). Kuş yumurtalarından izole edilen fungal türlerin tanımlandığı çalışmada *Mucor racemosus* tespit edilmiştir (Otayoor ve ark. 2024). *Psittacinae* alt familyasından *Agapornis* (aşk papağanı) türünde sistemik bir mikozis görülmüştür. İncelemeler neticesinde hastalığa sebep olan etkenler *Mucor racemosus* ve *Mucor circinelloides* olarak

tanımlanmıştır (Galosi ve ark. 2018). Ölü olarak bulunan yabani bir kuş olan *Cyanistes caeruleus*'un kırmızı, şiş ve sarkık göz kapaklarından *Mucor racemosus* izole edilmiştir. Çalışmada, kuşun sirovirüs enfeksiyonu sonrasında *Mucor racemosus* kaynaklı sekonder enfeksiyona yakalandığı belirtilmiştir (Schmitz ve ark. 2018). Egzotik kuşların fekal örneklerinden fungal izolasyonun gerçekleştiği bir diğer çalışmada da *Mucor racemosus* tanımlanmıştır (Lozano ve ark. 2023).

Fusarium cinsi funguslar genel olarak tahıllar ve yemlerde bulunmakta ve fungal toksinler üretmektedir (Kabak ve Var 2014). Sultan papağanı kanat ve dışkılarından alınan örneklerden izole edilmiş fungus türleri incelendiğinde dışkıdan *Fusarium sp.* izole edilmiştir (Köptcke ve ark. 2021). Orta Batı Brezilya'daki *Psittacidae* familyasındaki kuşlar ve yırtıcı kuşların dışkıları incelendiğinde *Fusarium culmorum*, *Fusarium dimerum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium tabacinum* tespit edilmiştir (Simi ve ark. 2018). *Fusarium* cinsi tarafından üretilen (*fumonisin*, *moniliformin*) toksinler hayvan ve insan sağlığı açısından olumsuz etkilere sahiptir. Yapılan çalışmalarda bu toksinlerin kas zayıflığı, solunum güçlüğü ve kalp kası dejenerasyonu gibi etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Altomare ve ark. 2021).

Bu çalışmada, Sultan papağanına (*Nymphicus hollandicus* Kerr, 1972) ait dışkı örneğinde *Mucor racemosus* HBF 579 ve *Fusarium fujikuroi* HBF 578 iki farklı fungal tür moleküler olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmadan önce yapılan ön çalışmada *Mucor racemosus*, morfolojik ve mikroskopik özellikleri incelenerek *Mucor piriformis* olarak tespit edilmesine karşın moleküler analiz sonuçları morfolojik veriler ile incelendiğinde *Mucor racemosus* olarak tanımlanmıştır. Morfolojik veriler moleküler veriler ile birleştirilerek tür tanımlamasında en doğru sonuç elde edilmiştir. Her iki türün de hayvana yemden bulaştığı ve sistemik bir enfeksiyona sebep olduğu düşünülmektedir. Literatür çalışmaları incelendiğinde ülkemizde ve Dünya'da Sultan papağanı kaynaklı *Fusarium fujikuroi* kaydına ulaşılamamıştır (Asan 2011). Bu çalışma Sultan papağanı kaynaklı ilk *Fusarium fujikuroi* raporudur.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu araştırmanın ön çalışmaları 5. International Food, Agriculture and Veterinary Sciences Congress (17-19 March 2023-Kafkas University, Kars, Türkiye) isimli kongrede kongre kitabına tam metin olarak basılmıştır. Metin içinde bu ön çalışmaya atıf yapılmıştır.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: BB
Denetleme/Danışmanlık: BB, HHB
Veri Toplama ve/veya İşleme: BB
Analiz ve/veya Yorum: SÖK
Makalenin Yazımı: SÖK
Eleştirel İnceleme: BB, HHB

KAYNAKLAR

- Abbas MS, Yassein SN, Khalaf JM (2017). Isolation and identification of some important mycological isolates from dropping of birds in Baghdad. *J Entomol Zool Stud*, 5 (53), 671-673.
- Altomare C, Logrieco AF, Gallo A (2021). Mycotoxins and mycotoxigenic fungi: risk and management. A challenge for future global food safety and security. *Encyclopedia of Mycology*, 1, 64-93.
- Asan A (2011). Checklist of *Fusarium* species reported from Turkey. *Mycotaxon*, 116 (1), 479.
- Boynukara B, Gülhan T, Kurç MA (2019). Komplike mantar enfeksiyonu: muhabbet kuşu. *Doğanın Sesi Dergisi*, 2 (4), 24-32.
- Boynukara B, Gülhan T, Öztürk Köse S, Albayrak AK (2023). Sultan papağanından *Mucor piriformis*, *Rhizopus stolonifer* ve *Fusarium sp.* izolasyonu. 5th International Food, Agriculture and Veterinary Sciences Congress, Kars, Turkey.
- Brilhante RSN, Castelo-Branco DDSCM, Soares GDP et al. (2010). Characterization of the gastrointestinal yeast microbiota of cockatiels (*Nymphicus hollandicus*): a potential hazard to human health. *J Med Microbiol*, 59 (6), 718-723.
- Ciftci A, Büyük HH, Arslan S et al. (2024). Morphological and molecular characterization of mucormycosis and other fungal agents in cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 30 (2), 243.
- Dynowska M, Kisicka I (2005). Participation of birds in the circulation of pathogenic fungi descend from water environments: a case study of two species of Charadriiformes birds. *Int J Ecohydrol Hydrobiol*, 2 (05), 173-178.
- Galosi L, Danesi P, Falcaro C et al. (2018). Systemic mucormycosis in two lovebirds (*Agapornis fischeri* and *Agapornis roseicollis*). 72nd SISVet Congress, Torino, Italy, 370.
- Galosi L, Falcaro C, Danesi P et al. (2022). Atypical mycosis in psittacine birds: A retrospective study. *Front Vet Sci*, 9, 883276.
- Gómez-De-Anda F R, Flores-Jiménez NG, De-la-Rosa-Arana JL et al. (2023). Isolation and identification of filamentous fungi and yeasts with zoonotic potential obtained from cattle egret (*Bubulcus ibis*) droppings. *Vet Res Forum*, 14 (10), 525.
- Kabak B, Var İ (2014). *Fusarium* toksinleri. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 8, 30-42.
- Köptcke FBN, de Assunção Pinto L, Moraes TT et al. (2021). Determinação da microbiota e micotoxinas em rações comerciais destinadas para calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) no Rio de Janeiro, Brasil. *BJAER*, 4 (3), 4385-4394.
- Lozano J, Louro M, Almeida C et al. (2023). Isolation of saprophytic filamentous fungi from avian fecal samples and assessment of its predatory activity on coccidian oocysts. *Sci Rep*, 13 (1), 8965.
- Mirhosseini Z, Khosravi A (2023). Fungal pathogens: emerging threats to birds and human health, assessment the relative frequency of pathogenic fungi in ornamental bird feces. *JPSAD*, 1 (4), 20-24.
- Otayoor RA, Dieware GK, Akpan UM, Oku IY (2024). Fungal culture and bioinformatics analysis of selected eggs of domestic birds in Bayelsa state, Nigeria. *IJBMR*, 12 (1), 20-28.
- Schmitz A, Korbel R, Rinder M (2018). Zygomycosis due to *Mucor racemosus* associated with a circovirus infection in a blue tit (*Cyanistes caeruleus*). *J Comp Pathol*, 165, 67-71.
- Shivachandra SB, Sah RL, Singh SD et al. (2004). Comparative pathological changes in aflatoxin fed broilers infected with hydropericardium syndrome. *Indian J Anim Sci*, 74 (6).
- Simi WB, Leite-Jr DP, Paula CR et al. (2018). Yeasts and filamentous fungi in psittacidae and birds of prey droppings in midwest region of Brazil: a potential hazard to human health. *Braz J Biol*, 79, 414-422.