

Isobrown Irkı Tavuklarda Kırmızı Acı Biberli Rasyonla Beslemenin M. İliofibularis ve M. Pektoralisin Yapısal Özelliklerine Etkilerinin İncelenmesi

Nesrin ÖZFİLİZ*

Geliş Tarihi: 28.03.2002

Özet: Çalışmada M. Pektoralis ve M. İliofibulariste kırmızı acı biberli rasyon ile beslenme nedeniyle glikojen ve lipid metabolizmasına bağlı olarak ortaya çıkabilecek olası histolojik değişiklikleri incelemek amaçlandı.

Araştırma yumurtacı karakterde 40 adet Isobrown ırkı civciv ile başladı ve 5 ay devam etti. Kontrol grubu yumurtacı civciv gelişimine uygun rasyon ile beslendi. Deneme grubu, kontrol grubu rasyonuna %1 oranında Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberi ilave edilerek beslendi. M. İliofibularis ve M. Pektoralisten alınan doku örnekleri Formol ve Bouin solusyonlarında tepit edildi. Parafin kesitlere yapısal özelliklerin tespit edilebilmesi için Mallory'nin Crossmonn tarafından modifiye edilen üçlü boyama, nötr mukopolisakkaritler için PAS, dondurma kesitlerine lipidler için Sudan Black B teknikleri uygulandı.

Kontrol ve deneme gruplarında karkasın rengi bakımından makroskobik olarak bir farklılık görülmedi. Karın içi yağ miktarının özellikle 5. ay deneme gruplarında kontrollere göre az olduğu tespit edildi. Sudan Black B tekniği uygulanan dondurma kesitlerinde; tüm kontrol gruplarında M. İliofibularisin çoğunlukla lipidden zengin, M. Pektoralisin ise lipidden fakir kas tellerinden oluştuğu görüldü. Deneme gruplarında ise lipid miktarının çok az olduğu tespit edildi. Periodic Acide Schiff tekniği uygulanan preperatlarda kontrol ve deneme grupları arasında bir farklılık gözlenmedi.

Sonuç olarak; rasyona %1 oranında Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberi ilave edilmesi M. İliofibularis ve M. Pektoralisin lipid birikimini olumsuz yönde etkilerken, PAS reaksiyonu üzerinde bir etkisi olmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Histoloji, Kas, Kırmızı Acı Biber.

Histological Investigation on the Effects of Feeding with a Diet Containing Red hot Pepper on M. Iliofibularis and M. Pectoralis of Isobrown Chicks

Summary: This study was made on 40 Isobrown chicks and carried out for 5 months. The control group chicks were fed with the diets prepared according to the layers. The experimental group chicks were fed with the control group diet supplemented with 1% red hot pepper of Kahraman Maraş region. The tissue samples taken out from M. İliofibularis and M. Pektoralis were fixed in Bouin and Formalin solutions. Paraffin sections were stained with Crossmonn's triple stain for the structural features, PAS stain neutral mucopolysaccharides and cryostat sections were stained with Sudan Black B method for lipids.

Any macroscopical differences weren't seen on the carcass colour in both the control and experimental groups. Abdominal fat content of the experimental group was less than that of the control group especially in the fifth month. In the cryostat sections, all of the control groups of were stained dense with Sudan Black B in M. İliofibularis whereas it vicaverca in M. Pektoralis. The quantity of lipid was less in experimental groups. Any differences weren't seen between the control and experimental group muscle sections applied with PAS stain.

As a result; less lipid was seen in the experimental group chicks fed with a diet supplemented with 1% red hot pepper of Kahraman Maraş region.

Key Words: Histology, Muscle, Red Hot Pepper.

* Doç. Dr. Nesrin ÖZFİLİZ, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı

Giriş

Botanikte kapsikum annum olarak adlandırılan kırmızı acı biberin etken maddesi olan kapsaisin kuvvetli acı, beyaz, kokusuz, sıcak su, etil alkol, metil alkol ve asetonda kolayca eriyebilen bir maddedir. Kırmızı acı biberin yapısındaki kapsaisin miktarı %0.12-17 arasında değişmektedir^{3,8,26}. Kapsaisinin lipid peroksidasyonunu artırarak yağ doku miktarı ile karaciğer ve serum trigliseridlerinin seviyesini düşürdüğünü, barsaklardan yağ emilimini geciktirdiğini ve in vitro ortamda iskelet kaslarında glikojen metabolizmasını inhibe edici bir rol oynadığını bildiren metabolizma çalışmaları vardır^{19-21,27,28,30,33}.

Kanatlı hayvanların beslenmesinde, kırmızı acı bibere ekonomik bir bakış açısı ile yaklaşarak; yumurta verimi, yumurta kalitesi ve kuluçka verimine etkileri incelenmiştir. Oktay ve Olgun²² Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberinin New-Hampshire tavuklarda sadece yumurta sarısının rengini koyulaştırdığını, başka önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Furuse ve ark.¹¹ Beyaz Leghorn Tavukların rasyonuna 10 hafta süre ile % 2-10 oranında kırmızı acı biber ilave edilmesinin abdominal yağ miktarını etkilemediğini, yumurtlama performansını çok az etkilediğini, kırmızı acı biberin doz artışına bağlı olarak yumurta sarısının renginin koyulaştığını saptamışlardır. Özer ve ark.²³ da gelişme döneminde toksik olmayan dozlarda kullanılan kırmızı acı biberin tavuklarda reproduktif sistem organlarının gelişmesine yararlı biyolojik aktivatör bir madde olduğunu bildirmişlerdir.

Kas telleri, organizmanın aktif hareketlerini gerçekleştirmek için yapısal farklılaşmaya uğramış özel dizilimde miyofibriller içeren hücrelerdir. Kanatlı kas hücrelerinde nukleuslar birden fazla sayıda ve oval şekillidir. Nukleus sarkolemmanın altında olmasına rağmen, bazı türlerde hücrenin ortasında yerleştiği de bildirilmektedir^{7,15,24}. Morfolojik özelliklerine bakıldığında kanatlılardaki iskelet kası tellerinin memelilerde olduğu gibi beyaz, kırmızı ve intermediyer olmak üzere üç tipe ayrılır^{1,2,4,9,12,13,15,25,29,31,32}. Kas tellerinin morfolojik olarak birbirinden ayırt etmeye yarayan özelliklerden biri içerdiği miyoglobulin miktarıdır. Miyoglobulin beyaz kas tellerinde az, kırmızı kas tellerinde fazla, intermediyer olanlarda orta miktardadır. Kas tellerinde miyofibrillerin yerleşimi de farklılık gösterir, beyaz kas tellerinde tek tek ve eşit aralıklar-

la yerleşirken, kırmızı kas tellerinde Conheim alanları adı verilen topluluklar oluşturmuşlardır. Herbir iskelet kası telini kuşatan ince bağ doku endomizyum, değişik sayıda kas telinin biraraya gelerek oluşturduğu primer demeti saran kalın bağ doku perimizyum ve primer demetlerin birkaçının oluşturduğu sekonder demeti en dıştan saran oldukça kalın bağ doku epimizyum olarak adlandırılır^{7,24}.

Kanatlı hayvanlarda kas tellerinin özelliklerini kasın hareket tipi, egersiz miktarı, yaş tür ve beslenme gibi faktörler etkilemektedir. Eti için beslenen kanatlı hayvanlarda yaş, tür, beslenme ve rasyona katılan bazı biyolojik aktivatör maddelerin kasların gelişimi ve histolojik özelliklerine etkileri incelenmiştir^{6,10,11,29}. Başka bir çalışmada Aberle ve Stevart¹ broyler ve yumurtacı tavuk ırklarında kasların gelişimini ve büyüme oranını incelemişlerdir.

Çalışmada yumurtacı bir ırk olan Isobrown tavuklarda morfolojik olarak beyaz kas tellerinden zengin M. Pectoralis ve kırmızı kas tellerinden zengin M. İliofibularis'te (M. Biceps Femoris) kırmızı acı biberli rasyon ile beslenme nedeniyle glikojen ve lipid metabolizmasında ortaya çıkabilecek olası histolojik değişiklikleri incelemek amaçlandı.

Materyal ve Metot

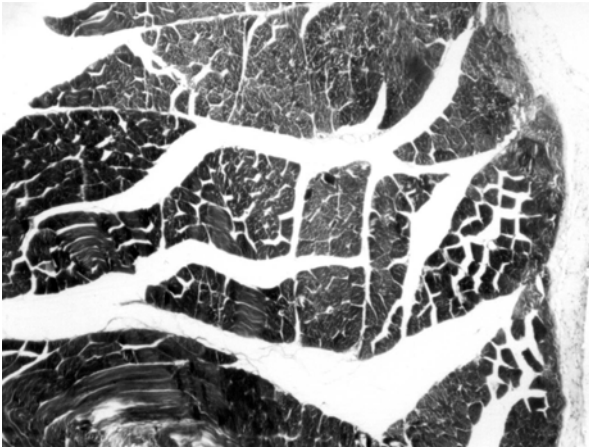
Araştırma yumurtacı karakterde 40 adet Isobrown ırkı günlük civciv ile başladı ve yumurtlama dönemine kadar 5 ay devam etti. Kontrol grubunu oluşturan 20 adet civciv, yumurtacı civciv gelişimine uygun rasyon ile beslendi. Deney grubunu oluşturan diğer 20 civciv de kontrol grubu rasyonuna % 1 oranında Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberi ilave edilerek beslendi.

5 ay süren çalışma da 1. ve 5. ayların sonunda kontrol ve deneme gruplarından 10'ar hayvan rastgele seçilerek canlı ağırlık tartımları yapıldı. Kesilerek öldürülen hayvanların M. İliofibularis ve M. Pectoralis¹⁶ kaslarından alınan doku parçaları Formol ve Bouin solusyonlarında tespit edildi. Parafin bloklardan elde edilen kesitlere yapısal özelliklerin tespit edilebilmesi için Mallory'nin Crossmonn tarafından modifiye edilen üçlü boyama⁵, nötr mukopolisakaritler için Periodic-Acide Schiff (PAS)¹⁸, dondurma kesitlerine; lipidler için Sudan Black B¹⁴ teknikleri uygulandı.

Bulgular

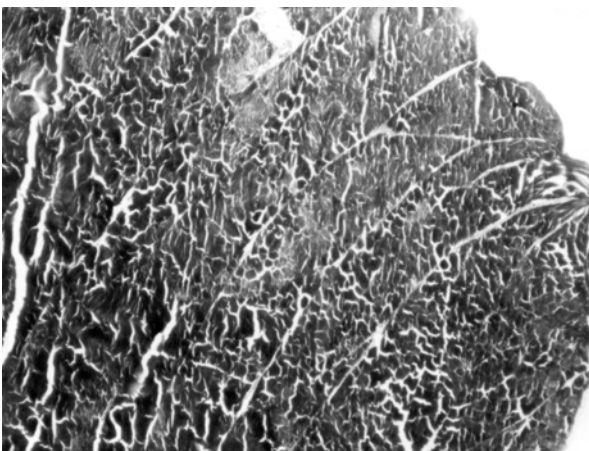
Kesim sonrasında makroskopik olarak bakıldığında kontrol ve deneme gruplarında karkasın rengi bakımından herhangi bir farklılık görülmezken, karın içi yağ miktarının 5. ay deneme gruplarında daha az olduğu görüldü. Canlı ağırlık artışı ortalaması, 1. ay sonunda deneme ve kontrol gruplarında birbirlerine yakın iken, 5. ay sonunda kontrol grubunda deneme grubuna göre fazla olarak belirlendi.

Çalışmada kullanılan tavukların M. İliofibularis ve M. Pektoralis kaslarından alınan enine kesitlerde kas telleri ve kas teli gruplarının meydana getirdiği demetler görüldü. Endomizyum, perimizyum ve epimizyumu oluşturan bağ dokunun M. İliofibulariste oldukça gevşek bir yapı gösterirken, M. Pektoraliste kompakt bir yapıya sahip olduğu belirlendi (Resim 1-2).



Resim 1:

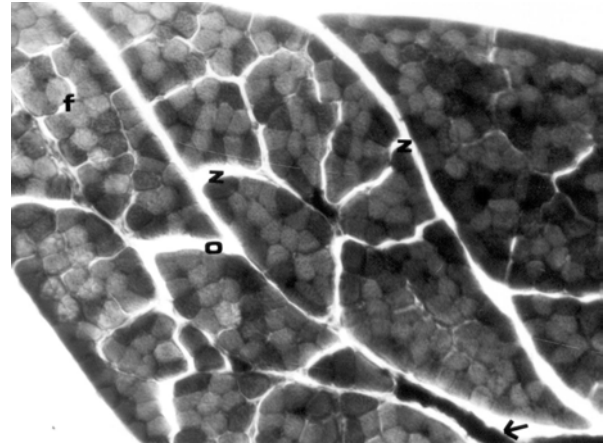
M. İliofibularisin genel görünümü (Üçlü boyama tekniği) 70X.



Resim 2:

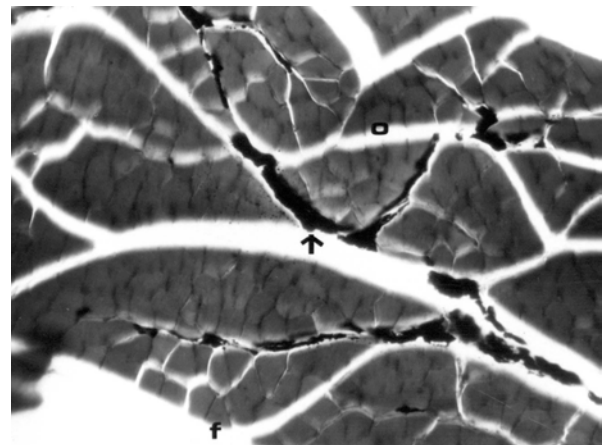
M. Pektoralisin genel görünümü (Üçlü boyama tekniği) 70X.

Sudan Black B tekniği uygulanan dondurma kesitlerinde; tüm kontrol gruplarında M. İliofibularisin çoğunlukla lipidden zengin, orta derecede lipid içeren ve lipidden fakir kas tellerinin dağılımı nedeniyle mozaik tarzında görüldüğü, M. Pektoralisin ise çoğunlukla lipidden fakir ya da orta derecede lipid içeren kas tellerinden oluştuğu saptandı (Resim 3-4). Tüm kontrol gruplarında, endomizyum perimizyum ve epimizyumun; M. İliofibulariste lipidden fakir, M. Pektoraliste ise lipidden daha zengin olduğu tespit edildi (Resim 3-4).



Resim 3:

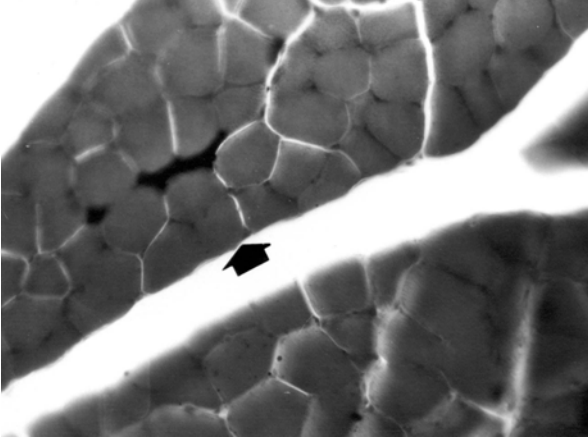
Kontrol grubunda M. İliofibularis kas tellerinde lipid dağılımı, Lipidden zengin (z), orta (o) ve fakir (f) kas telleri, Endomizyum ve Perimizyumda lipid (Ok) 140X.



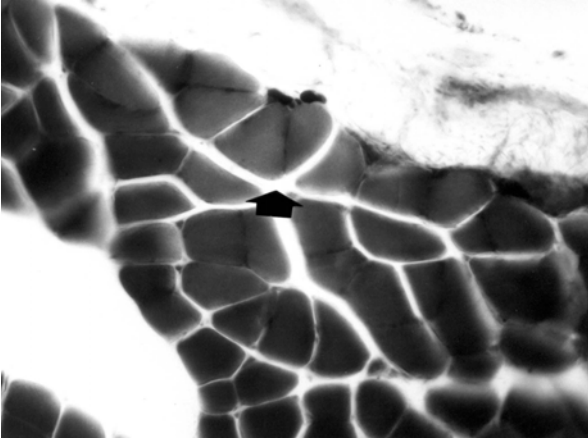
Resim 4:

Kontrol grubunda M. Pektoralis kas tellerinde lipid dağılımı, Lipidden fakir (f), orta (o) kas telleri, Endomizyum ve perimizyumda lipid (Ok) 140X.

Deneme gruplarında ise; her iki kas grubunda kas gelişimi ile birlikte kas tellerinde lipid miktarının çok azaldığı, endomizyum, perimizyum ve epimizyumda da lipidin çok az miktarda olduğu görüldü (Resim 5-6).

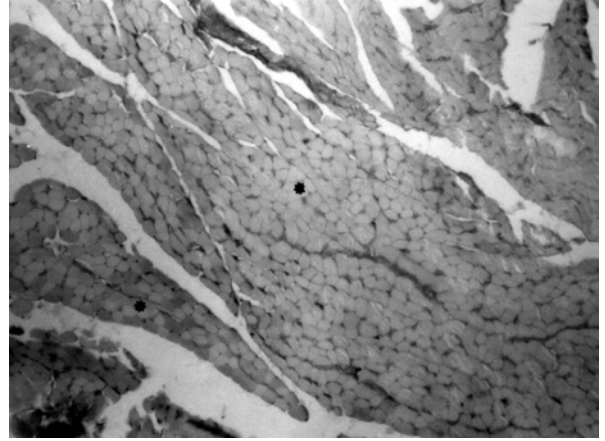


Resim 5:
Deneme grubunda M. İliofibularisde lipidden fakir kas telleri (oklar) 140X.

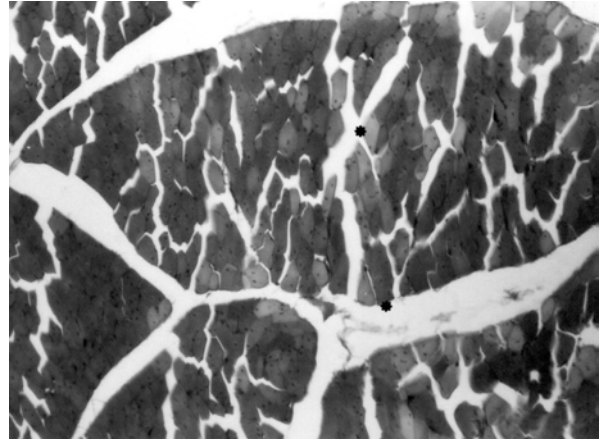


Resim 6:
Deneme grubunda M. Pectoralisde lipidden fakir kas telleri (oklar) 140X.

Periodic Acide Schiff tekniği uygulanan preparatlarda kontrol gruplarında M. İliofibularisin orta ve hafif derecede PAS pozitif reaksiyon veren çoğunluğu küçük çaplı kas tellerinden oluştuğu gözlemlendi (Resim 7). M. pektoralisin ise kuvvetli ve orta derecede PAS pozitif reaksiyon veren çoğunluğu büyük çaplı kas tellerinden oluştuğu tespit edildi (Resim 8). Deneme gruplarında PAS reaksiyonu yönünden herhangi bir değişiklik görülmedi.



Resim 7:
M. İliofibularisde orta ve hafif derecede PAS + reaksiyon veren kas telleri () 140X.*



Resim 8:
M. Pectoralisde kuvvetli ve orta derecede PAS + reaksiyon veren kas telleri () 140X.*

Tartışma ve Sonuçlar

Çalışmada canlı ağırlık ortalaması 1. ay sonunda deneme ve kontrol gruplarında birbirlerine yakın olarak belirlenirken 5. ay sonunda kontrol grubunda deneme grubuna göre fazla olarak saptandı. Rasyona % 1 oranında Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberinin ilave edilmesinin canlı ağırlık kazancı üzerine etkisinin olumsuz olduğu sonucuna varıldı. Sadece 5. ay deneme gruplarında karın içi yağ miktarının azaldığı görüldü. Furuse ve Ark.¹¹'nin ise Beyaz Leghorn tavukların rasyonuna 10 hafta süre ile % 2-10 oranında kırmızı acı biber ilavesinin abdominal yağ miktarını etkilemediğini bildirirken, Sirinivasan ve Satranayana²⁷ ratlara diet ile verilen % 0.2 oranındaki kapsaisin sonuçlarımıza benzer olarak yağ doku miktarında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmada kullanılan M. İliofibularis ve M. Pectoralis kaslarının bilinen kanatlı iskelet kası telleri özelliklerine sahip olduğu görüldü^{2,6,7,12,15,24}. Kas telleri ve kas teli demetlerini saran endomizyum, perimizyum ve epimizyumu oluşturan bağ doku ipliklerinin tüm gruplarda M. İliofibulariste çok miktarda ve gevşek bir yapısal özellik gösterirken M. Pektoraliste daha ince ve sıkı olduğu gözlemlendi. Çörekçi ve Dağlıoğlu⁶ farklı oranlarda ham protein içeren rasyonla besledikleri civcivlerde, Ante ve ark.² biyolojik bir aktivatör olarak polienzim preparat kullandıkları başka bir çalışmada benzer sonuçlar almışlardır.

Tüm kontrol gruplarında morfolojik olarak kırmızı kas grubunda yer alan M. İliofibularisin çoğunlukla lipidden zengin, daha az oranda da orta derecede lipid içeren ve lipidden fakir, beyaz kas grubunda yer alan M. pektoralisin de çoğunlukla lipidden fakir, daha az oranda da orta derecede lipid içeren kas tellerinden oluştuğu saptandı. Ancak deneme gruplarında kas tellerinde ve çevrelerindeki bağ dokuda lipid miktarının daha da azaldığı ve her iki kasın da lipidden çok zayıf bir reaksiyon verdiği görüldü. Bu sonuçlar deney hayvanlarında kapsaisin lipid peroksidasyonunu artırarak yağ doku miktarını ve barsaklardan yağ emilimini geçiktirdiğini bildiren çalışmaların sonuçları ile paralel^{21,27,28}, kapsaisin serum trigliserid ve kolesterol düzeyini düşürdüğünü bildiren çalışmalar ile uyumludur¹⁷.

Periodic Acide Schiff tekniği uygulanan preparatlarda tüm gruplarda M. İliofibularisi çoğunluğu küçük çaplı olan orta ve hafif derecede PAS pozitif reaksiyon veren kas tellerinin, M. Pektoralisi ise çoğunluğu büyük çaplı olan ve kuvvetli PAS pozitif reaksiyon veren kas telerinin oluşturduğu tespit edildi. Kontrol ve deneme grupları arasında farklılık gözlenmedi. Bu veriler bilinen fonksiyonel ve histokimyasal özellikler ile benzer olduğu gibi Matsuo ve ark.²⁰'nin diyetlerine %0.014 oranında kapsaisin ilave edilen ratların egzersiz öncesi ve sonrasında soleus kasının glikojen içeriğinde önemli bir değişiklik olmadığını bildiren çalışması ile desteklenmektedir. Ancak *In vitro* ortamda iskelet kaslarının kapsaisin ile muamele edilmesinin glikoz metabolizmasını engelleyerek glikojen sentezini azalttığını¹⁹ bildiren çalışmanın sonuçlarından farklıdır.

Sonuç olarak; yumurtacı bir ırk olan Isobrown civcivlerde 1. günden başlayarak, 5. aya kadar rasyona % 1 oranında Kahraman Maraş yöresi kırmızı acı biberi ilave edilmesinin M.

İliofibularis ve M. Pektoralisin yapısal özelliklerini ve PAS reaksiyonunu fazla etkilemediği, ancak lipid birikimi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu gözlemlendi.

Kaynaklar

1. Aberle E, Stewart T. Growth of Fiber Types and Apparent Fiber Number in Skeletal Muscle of Broiler and Layer Type Chickens, Growth 1983; 47 (2): 135-144.
2. Ante J., Srebrenka N., Ante H., Mladen Z., Karmen B. The Influence of the Addition of Enzymes in Feed on Histochemical Changes in White and Dark Chicken Meat, Veterinarski Arhiv 1998; 68 (3), 143-148.
3. Boyunağa H., Çelik, C. Bitkisel İlaç Kaynağı mı? Bilim Teknik – Tübitak, 1995; 331, 99-100.
4. Cormack, H. D. Essential Histology, Muscle Tissue, 1th. Ed. Philadelphia, J. B. Lippincott Company; 215-232, 1993.
5. Crossmonn, G. A Modification of Mallory's Connective Tissue stain with a Discussion of the Principles Involved, Anat. Rec. 1937; 69, 33-38.
6. Çörekçi, İ., Dağlıoğlu, S. Farklı Oranlarda Ham Protein İçeren Rasyonlarla Beslenen Broiler Civcivlerin Ergin Döneme Kadar M. Pectoralis Superficialis ve M. Biceps Femoris Kaslarının Gelişiminin Histomorfolojik ve Histokimyasal Yöntemlerle İncelenmesi, İstanbul Üniv. Fak. Derg. 1996; 22 (1) 157-176.
7. Dellman, H. D., Brown, M. E. Textbook of Veterinary Histology, Lea and Febiger, Philadelphia 1981.
8. Erdost H. Toksik ya da Toksik Olmayan Dozlarda Tüketilen Kırmızı Acı Biberi Bağlı Olarak Organizmada Meydana Gelen Değişiklikler, J. Fac. Vet. Med. 1996; 1,2,3 (15) 245-253.
9. Erdost, H., Özfiliz, N., Zık, B., Altunbaş, K., Yağcı, A. Karayaka Koyununda M. Semitendinosus ve M. Rhomboideus Cervicis'in Yapısal ve Histokimyasal Farklılıkları. J. Fac. Vet. Med. 2000, 19, 87-94.
10. Fowler, S. P., Campion, D. R., Marks, H. L., Reagan, J. D. An analysis of Skeletal Muscle Response to Selection for Rapid Growth, 1980; 44 (3): 235-52.
11. Furuse, M., Nakajima, S., Miyagama, S., Nakagawa, J., Okumura, J. Feeding Behaviour Abdominal Fat Laying Hens Given Diets Containing red Pepper, Japanese Poultry Science, 1994; 31: 1, 45-52.
12. George, J.G., Berger, A.J. Avian Myology. Academic Press, Newyork, London, 1996.

13. Guyton, A. C., Hall, J. E. Textbook of Medical Physiology, W. B. Saunders Company,
14. Herxheimer, G.W. Sudan Black B Method for Fat., Zbl. Allg. Path. Anat., 1903; 14,481.
15. Hodges, R. G. The Histology of the Fowl, Academic Press, London, 1974.
16. Julian, J. B. An Annotated Anatomical Dictionary of Birds, Academic Press, 214, 1979.
17. Kawada, T., Hagihara, K., Iwai, K. Effects of Capsaicin on Lipid Metabolism in Rats Fed a High Fat Diet., J. Nutr. (United States) 1986, 116 (7), 1272-8.
18. Lee, G. Manual of Histological Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Mc Graw Hill Book Company. Sydney. 163, 1968.
19. Leighton, B., Foot, E.: Effects of Capsaicin on Glucose Metabolism in Isolated Incubated Skeletal Muscle in Vitro. Biochem Soc. T. 1990; 476-477.
20. Matsuo, T., Yoshioka, M., Suzuki, M. Capsaicin in Diet does not affect Glycogen Contents in the Liver and Skeletal Muscle of rats Before and after Exercise, J. Nutr. Sci. And Vitaminol. 1996; 42 (3), 249-256.
21. Naponitaya, W. Long Term Effects of Capsaicin on Fat Absorption and the Growth of the Rat, Growth. 1973; 37, 910-912.
22. Oktay, E., Olgun, H. Kırmızı Acı Biberin New-Hampshire Tavuklarında Yumurta Verimi Yumurta Kalitesi ve Kuluçka Verimine Etkisi, IV. Bilim Kongresi, Ankara, Türkiye, 5-8, Kasım, 1973, Kongre Kitapçığı, 1-6.
23. Özer, A., Erdost, H., Zık, B. Tavuklarda Kırmızı Acı Biberli Rasyonla Beslemenin reproduktif Sistem Organları Üzerine Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi, Türk Veterinerlik ve hayvancılık Dergisi (Baskıda).
24. Sağlam, M. Genel Histoloji, Kas Dokusu, Ankara, Yorum basımevi 245-281, 2001..
25. Sams, A. R., Janky, D. M. Simultaneous Histochemical Determination of Three Fiber Types in Single Sections of Broiler Skeletal Muscles. Poul. Sci., 1990, 69: 1433-1436.
26. Shörmüller, J. Alkaloidhaltige Genussmittel, Gewürze, Kochsalz. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, 400, 1970.
27. Srinivasan, M. R., Satranayana, M. N. Effects of Capsaicin on Skeletal Muscle Lipoprotein Lipase in Rats Fed High Fat Diet, Indian Journal of Experimental Biology. 1989; 27, 910-912.
28. Srinivasan, M. R., Chandrasekhara, N. Comparative Influence of Vanillin and Capsaicin on Liver and Blood Lipids in the Rat, Indian, J. Med. Res. (India) 1992; 96, 133-5
29. Smith, D. P., Fletcher, D. L. Chicken Breast Muscle Fiber Type and Diameter as Influenced by Age and Intramuscular Location. Poul. Sci., 1988, 67 (6): 908-13.
30. Toskulkao, C., Tekittipona, S. Capsaicin Inhibits Exercise Induced Lipid Peroxidation in Cardiac and Skeletal Muscle of Rats., Asia Pacific Journal of Pharmacology 1996, 1 (1) 13-18.
31. Wada, N., Miyata, H., Tomita, R., Ozawa, S., Tokuriki, M. Histochemical Analysis of Fiber Composition Skeletal Muscles in Pigeons and Chickens., Ital. Biol. 1999; 137 (1): 75-82.
32. William, J. B.: Applied Veterinary Histology, Muscle Tissue., 2th ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 188-206, 1986.
33. Yoshioko, M., Lım, K., Kıkuzato, S., Kıyonaga, A., Tanaka, H., Shindo, M., Suzuki, M.: Effects of Red Pepper Diet on the Energy Metabolism in Men. J. Nutr. Sci. And Vitaminol 1995; 41 (6), 647-656.