



December - 2017



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yuzuncu Yil Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

ISSN: 2149-3359

E-ISSN: 2149-8644

Owner

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Dean)

Editor-in Chief

Prof. Dr. Nihat MERT
YYU, Veteriner Fak., Dergi Editorlugu
Kampus / Van - Turkey
Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27
e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Editorial Board

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Language Editor)
Prof. Dr. Handan MERT (Proof & Quality Editor)
Assoc. Prof. Dr. Ozgur ISLEYICI (Editor)
Assoc. Prof. Dr. Ismail Hakki EKIN (Electronic Journal Editor)
Assoc. Prof. Dr. Abdullah YESILOVA (Statistical Editor)
Assist. Prof. Dr. Leyla MIS (Technical Editor)
Res. Assist. Rabia Mehtap TUNCAY (Editor)

Publication Board

Prof. Dr. Abuzer TAS (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Ali CINAR (Univ. of Ataturk)
Prof. Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas, KYRGYZSTAN)
Prof. Dr. Axel WEHREND (Giessen, GERMANY)
Prof. Dr. Berrin SALMANOGLU (Univ. of Ankara)
Prof. Dr. Ehab Abu-Basha (Irbid, JORDAN)
Prof. Dr. Gert W NIEBAUER (Vienna, Austria)
Prof. Dr. Gursel SONMEZ (Univ. of Uludag)
Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN (Univ. of Mehmet Akif Ersoy)
Prof. Dr. Hasan Huseyin HADIMLI (Univ. of Selcuk)
Prof. Dr. James M. MAY (Nashville, TN, USA)
Prof. Dr. Kamil EKICI (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Kemal Ozdem OZTABAK (Univ. of Istanbul)
Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI (Univ. of Kirikkale)
Prof. Dr. Taylan AKSU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Tevhide SEL (Univ. of Ankara)
Prof. Dr. Volkan AKYOL (Univ. of Uludag)
Prof. Dr. Tugba BINGOL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Nalan OZDAL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Baris Atalay USLU (Univ. Of Cumhuriyet)
Assoc. Prof. Dr. Devrim S. AKSU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assoc. Prof. Dr. Hasan Huseyin ARI (Univ. of Cumhuriyet)
Assist. Prof. Dr. Bahattin CAK (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Yildiray BASBUGAN (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Bahat COMBA (Univ. of Hitit)
Assist. Prof. Dr. Zeynep KARAPINAR (Univ. of Balikesir)
Assist. Prof. Dr. Selim CINAROGLU (Univ. of Nigde Omer Halisdemir)
Assist. Prof. Dr. Kivanc IRAK (Univ. of Siirt)
Dr. Josip LOVRIC (Manchester, ENGLAND)

Scientific Board of This Issue

Assoc. Prof. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Fahrettin ALKAN (Univ. of Selcuk)
Prof. Dr. Muhammed Enes ALTUĞ (Univ. of Mustafa Kemal)
Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN (Univ. of Mehmet Akif ERSOY)
Assoc. Prof. Dr. Osman AYGÜN (Univ. of Fırat)
Prof. Dr. Ali BELGE (Univ. of Adnan Menderes)
Prof. Dr. Ferda BELGE (Univ. of Adnan Menderes)
Prof. Dr. Ebubekir CEYLAN (Univ. of Ankara)
Prof. Dr. Ömer ÇETİN (Univ. of İstanbul)
Prof. Dr. Dursun Ali ÇINAR (Univ. of Atatürk)
Prof. Dr. Yeter DEĞER (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Ayhan DÜZLER (Univ. of Erciyes)
Assoc. Prof. Dr. Ismail Hakki EKIN (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Kamil EKİCİ (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Ertuğrul ELMA (Univ. of Kirikkale)
Prof. Dr. Hasan ERDEN (Univ. of Adnan Menderes)
Assoc. Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. Nihat MERT (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. İsmail Hakki NUR (Univ. of Kirikkale)
Prof. Dr. Yakup Can SANCAK (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Hakan SANCAK (Univ. of Bitlis Eren)
Prof. Dr. Nihat ŞINDAK (Univ. of Siirt)
Prof. Dr. Abuzer TAS (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Prof. Dr. İsmail TÜRKMENÖĞLU (Univ. of Afyon Kocatepe)
Prof. Dr. Zabit YENER (Univ. of Van Yuzuncu Yil)
Assist. Prof. Dr. Serkan YILDIRIM (Univ. of Atatürk)

This journal is published three times a year

All articles in this journal are available free of charge from <http://vfdergi.yyu.edu.tr>

Published by Onder Ofset, Van, Türkiye

Year	Volume	Issue
2017	28	3

This journal indexed / abstracted in EBSCOhost, CAB Abstracts, DOAJ, Index Copernicus, TUBITAK-ULAKBIM, Türkiye Atif Dizini and Google Scholar



Macroscopic, Radiographic and Tomographic Comparison of Embryonic Development in Japanese Quail Eggs

Mustafa Barış AKGÜL¹ Nihat ŞINDAK¹ Zelal KARAKOÇ² Ali GÜLAYDIN¹

¹ Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Siirt, Turkey

² Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology & Embryology, Siirt, Turkey

Received: 24.02.2017

Accepted: 13.04.2017

SUMMARY

In this study, it was aimed to investigate the differences between the use of radiological and tomographic techniques and the macroscopy of the embryonic development of Japanese quail eggs (*Coturnix coturnix japonica*). 90 Japanese quail fertilized eggs were used as research materials. Every day 6 eggs were placed on incubator by 1 day to 15 days. On the 15th day, eggs were taken from the incubator and macroscopic, radiographic and tomographic examinations were performed all groups on the same day. 1. 3. 6. 9. 12. and 15. days results were evaluated. In radiological imaging, the contours surrounding the air sacs were clearly seen and It was observed that the size of the sacs increased during egg development. At the beginning, it was determined that the yolk sac, which is located in the dorsal part then approaches to the cranial part and shrinks to hyper dense contrasting structure. As a result, it was observed that embryonic development of the egg could be followed better by radiography than the CT technique. But, In both techniques it is thought that the embryo and other organelles are not adequately qualified to clearly distinguish the changes up to the 15th day

Key Words: *Computed Tomography, Japanese Quail, Radiography*

ÖZET

Japon Bildircin Yumurtalarında Embriyonal Gelişimin Makroskobik, Radyografik ve Tomografik Karşılaştırılması

Bu çalışmada japon bildircini (*Coturnix coturnix japonica*) yumurtalarının embriyonik gelişiminin izlenmesinde radyolojik ve tomografik tekniklerin kullanılması ve makroskobisiyle aralarındaki farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada 90 adet japon bildircini ırkına ait döllenmiş yumurta kullanıldı. 1. günden 15. güne kadar her gün 6 adet olmak üzere kuluçka makinesine yerleştirildi. 15. gün de yumurtalar kuluçka makinesinden alındı ve aynı gün tüm grupların makroskobik, radyografik ve tomografik tetkikleri gerçekleştirildi. 1, 3, 6, 9, 12 ve 15'inci günlere ait bulgular değerlendirmeye alındı. Radyolojik görüntülemeye hava keselerini saran konturlar net olarak görülmüş ve yumurta gelişimi esnasında kese boyutlarının arttığı görülmüştür. Başlangıçta dorsal kısımda bulunan daha sonra kranial kısma doğru yaklaşıp küçülen hiperdens kontrast veren yapının vitellus kesesi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak BT tekniği ile yumurta içerisindeki embriyonik gelişimin radyografiye nazaran daha iyi şekilde takip edilebileceği görülmüştür. Ancak her iki tekniğinde tam anlamıyla embriyonun ve diğer organellerinin 15. güne kadar olan değişimlerini net olarak ayırtılmasında kullanılacak yeterlilikte olmadığı düşünülmektedir

Anahtar Kelimeler: *Bilgisayarlı Tomografi, Japon Bildircini, Radyografi*

GİRİŞ

Kuş yumurtaları embriyo gelişimi için gerekli olan bütün besin maddelerini içerisinde barındırmaktadır (Balkan ve Karakaş 2007). Yumurta akı hem immün sistem gelişinceye kadar embriyoyu mikroorganizmalara karşı korur hem de besin kaynağını oluşturur (Altan ve ark. 1998). Yumurta sarısının ise ilk günlerde civcivler için besin kaynağını oluşturduğu bildirilmiştir (Altan ve ark. 1998). Yapılan bir çalışmada küçük bildircinlerde görülen

yüksek ölüm oranının sebebinin, sarı kesesinin küçük olması gösterilmiştir (Skewes ve ark. 1988). Embriyonun gelişimi sırasında oluşan bütün fizyolojik süreçler, kesin sınırlarla çevrili bir sistem durumundaki yumurta içinde gerçekleşmektedir (Balkan ve Karakaş 2007).

Kabuk, embriyonun dış çevre ile bağlantısını sağlar. Bu nedenle kabuk kalitesi; çıkış gücü, embriyo gelişimi ve civciv kalitesi için hayati önem taşır (Altan ve ark. 1995; Altan ve ark. 1998). Yumurta rasyonlarına Magezyum ilavesi ile yumurta kabuk kalitesinin artması

beklenmektedir (Kaplan ve Avcı 2012). Sert bir kabukla çevrili olan yumurta, dışarıdan herhangi bir besin almadığı gibi, dış ortama hiçbir atık da vermez. Bu nedenle, embriyo gelişimi için gerekli enerjinin kaynağını oluşturan maddelerin, daha oluşum sırasında, yumurta içinde yer alması gerekmektedir (Balkan ve Karakaş 2007).

Metabolizma sonucu ortaya çıkan katı ve sıvı ürünler de yavrunun çıkışına dek yumurta içerisinde kalmak zorundadır. Yumurta kabuğu üzerinde yer alan mikroskobik gözenekler aracılığıyla sadece solunum için gerekli olan oksijen difüzyon yoluyla yumurta içine geçerken, oluşan karbondioksit ve su dışarı çıkar (Hoyt ve ark. 1979; Sotherland ve Rahn 1987).

Kuş yumurtalarının bütün bu özellikleri onları embriyonik gelişim çalışmaları için ideal bir materyal haline getirmektedir (Vlec ve Vleck 1987; Rashidi ve Sottile 2009; Würbach ve ark. 2012). Kanatlı yumurtaları taşıdıkları lecitus (vitellus) maddesinin miktarına göre ve bu maddenin yumurta içerisindeki yerleşimine göre sınıflandırılır. Bu sınıflandırmada kanatlı hayvan yumurtaları polylecithal yumurta grubunda yer almaktadır. Polylecithal tip yumurtalarda vitellus maddesi çok ve hücrenin büyük bir kısmına yayılmıştır. Bu yumurtalar anisolecithal özellik gösterir. Çok az bir sitoplazmaya sahip olan bu yumurtalarda çekirdek sitoplazma ile birlikte animal kutupta yer alır (Hassa ve Aştı 1997). Yapılan çalışmalarda embriyo gelişiminin vitellus maddesinin miktarı ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmada; kuluçka dönemi boyunca bildircin yumurtalarında embriyonel gelişimin makroskobik, radyografik ve tomografik bulgularının karşılaştırılması olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyali

Çalışmada 90 adet japon bildircinına (*Coturnix coturnix japonica*) ırkına ait döllenmiş yumurta kullanıldı. 1. günden 15. güne kadar her gün 6 adet bildircin yumurtası kuluçka makinesine (CH180 SH, Çimuka) yerleştirildi. 15. gün de yumurtalar kuluçka makinesinden alınarak aynı gün içerisinde makroskobik, radyografik ve tomografik tetkikleri gerçekleştirildi. 1, 3, 6, 9, 12 ve 15'inci günlere ait bulgular değerlendirmeye alındı.

Radyolojik değerlendirme

Radyografik çekimler 20 cm film - fokus mesafesinde, 2 mAS ve 50 KW değerler ile (CR röntgen, Fuji) gerçekleştirildi. Her yumurta ayrı ayrı ventral kısmı kaset yüzeyine temas edecek şekilde yerleştirildi ve uygun boyutlarda kollimasyonu yapılarak çekim işlemi gerçekleştirildi. Çalışmada radyolojik ve tomografik görüntüler üzerinde yapılan yön tayini için kullanılan terimler Şekil 1'de verildi.

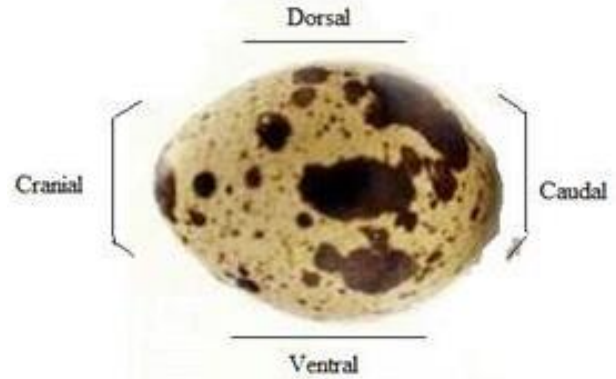
Tomografik değerlendirme

Tomografik çekimler için yumurtalar 1. günden 15. güne kadar 6'şarlı sıra halinde 2 cm kalınlığında dikdörtgen bir strafor üzerine lateral pozisyonda sabitlendi. İlk olarak tüm yumurtaların topogramı alındı. Daha sonra çekimler 120 KW ve 100 mA dozda (Pronto, Hitachi), 5mm kalınlığında sagittal kesitler alınarak gerçekleştirildi.

Makroskobik değerlendirme

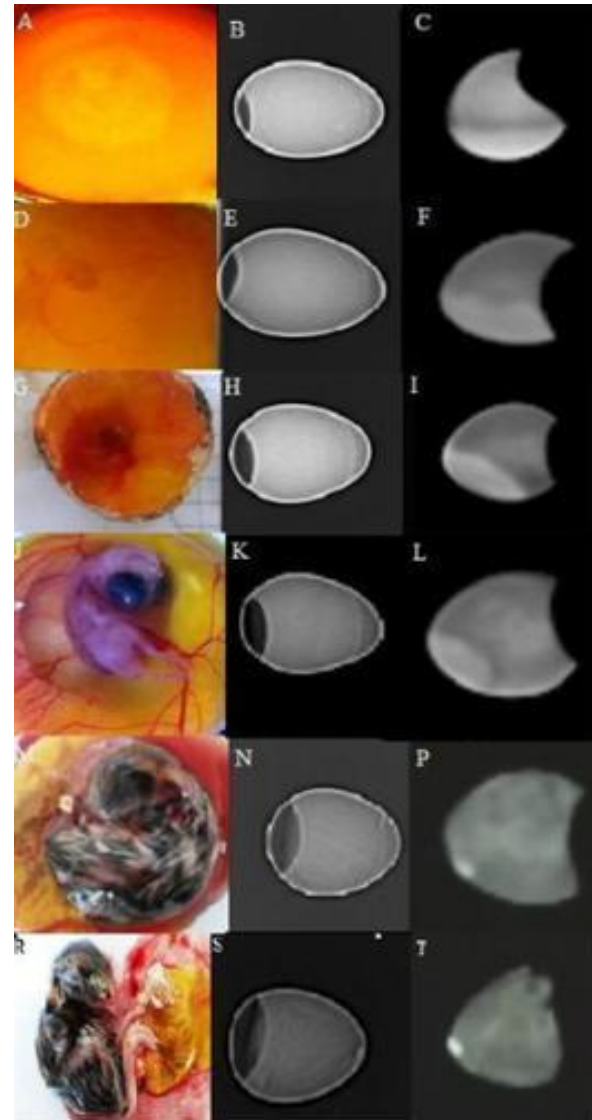
Radyolojik ve tomografik tetkikler sonrasında tüm çalışma materyalinin makroskobik görüntüsünün alınabilmesini sağlamak için yumurtanın sivri olan tepe noktasından geniş olan taban noktasına doğru longitudinal düzlemde

median hattan bisturi ucu kullanılarak embriyoya zarar vermeyecek şekilde kabuk ensize edildi. Embriyonun ve çevre dokuların incelemesi yapıldı. Ardından dijital fotoğraf makinesi ile fotoğraflanarak kayıt altına alındı.



Şekil 1. Yumurtanın radyolojik ve tomografik görüntülerinde yön tayini için kullanılan terimler

Figure 1. Terms used for orientation in the radiological and tomographic images of the egg



Şekil 2. Yumurtalara ait sırasıyla makroskobik, radyolojik ve tomografik görüntüler

Figure 2. Macroscopic, radiological and tomographic images of the eggs, respectively

BULGULAR

Çalışmada 1, 3, 6, 9, 12 ve 15'inci günlerde yumurtalara ait makroskobik, radyografik ve tomografik bulgular Tablo 1'de ve fotoğraflar Şekil 2'de verilmiştir. Radyolojik görüntüleme hava keselerini saran konturlar net olarak görülmüş ve yumurta gelişimi esnasında kese boyutlarının arttığı saptanmıştır. 1. günden itibaren yumurtanın kranial

kısımında takip edilen ve sınırları belirgin olan radyolüsent yapının allantoik kese olduğu saptanmıştır. BT görüntüleme ile embriyonun tam olarak net ayrılmasını yapamamasına rağmen gelişim sürecinde yumurta içerisindeki alanı kaplayan bir dokunun geliştiği takip edilmiştir. Başlangıçta dorsal kısımda bulunan daha sonra kranial kısma doğru yaklaşıp küçülen hiperdens kontrast veren yapının vitellus kesesi olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Yumurtalara ait makroskobik, radyolojik ve tomografik bulgular**Table 1.** Macroscopic, radiological and tomographic findings of the eggs

Günler	Makroskobi	Radyografi	Tomografi
1	Blastomer safhasında olan germinal disk oluşumu makroskobik görüntüde izlendi (Şekil 2-A).	Kaudal kısımda hava kesesi tespit edildi. Bunun dışında belirleyici bir bulguya rastlanmadı (Şekil 2-B).	Hava kesesinin ventral köşe noktasından başlayarak kranial kısma kadar devam eden yarım ay şeklinde hafif hiperdens bir alan ve bu alanın üst kısmında kalan bölge ise hipodens olarak görüldü (Şekil 2-C).
3	Embriyonun sol tarafına yatmış şekilde olduğu görüldü. Kalp sisteminin oluştuğu, kalp atımı ve kan akımının başladığı belirlendi. Vitelline zarının yumurta sarısının yüzeyine dağıldığı gözlemlendi (Şekil 2-D).	Embriyonal dokuların kabuk ile arasında radyolüsent bir çizginin bulunduğu, embriyonun çevre yapılarından keskin sınırlarla ayrılmamış olduğu ve homojen radyopak bir görüntü şeklinde izlendi (Şekil 2-E).	1. günde yarım ay şeklinde olan alanın dalgalı bir şekilde ve artmış hiperdens bir görünümde olduğu, yumurtanın median düzleminde hava kesesine yakın düzensiz yapıda hafif hiperdens bir alanın oluştuğu görüldü (Şekil 2-F).
6	Ektremite ve gaga oluşumu görüldü (Şekil 2-G)	Hava kesesi ebatları artmış olduğu ve cranial kısımda merkezde bulunan kısma göre daha radyolüsent sınırları belirgin allantoik kese olduğu düşünülen bir alan saptandı (Şekil 2-H).	Hiperdens olarak görülen alanın hava kesesinden uzaklaşarak ventral orta hattan kranial uç kısma doğru eliptik bir şekilde olduğu, orta hatta bulunan düzensiz yapının 2. güne göre daha yaygın ve daha yoğun hiperdens görünüme sahip olmaya başladığı görüldü (Şekil 2-I).
9	İlk tüy foliküllerinin oluştuğu, tırnakların şekillendiği, yumurta sarısındaki damarlaşmanın arttığı görüldü (Şekil 2-J).	Orta hatta heterojen yapıda içerisinde çeşitli dokuların net olmayan radyolüsent ve opak görüntülerini ihtiva eden bölge saptandı (Şekil 2-K).	Hiperdens olan eliptik yapının küçülmeye başladığı ve yumurtanın median hattında düzensiz şekilli çevre dokularından daha hiperdens bir yapı saptandı (Şekil 2-L).
12	Embriyonun tamamının tüylerle kaplı olduğu ve diğer günlere oranla çok hızlı büyüdüğü görüldü (Şekil 2-M).	Orta hatta radyopak görüntü veren embriyoya ait ekstremiteleri andıran opak çizgi tarzında düzensiz görüntüler tespit edildi (Şekil 2-N).	Kranial kenarda hafif eliptik hiperdens bir alan ve yumurtanın tamamını kapsayan embriyoya ait olduğu düşünülen hipodens alan içinde hiperdens düzensiz görüntüler saptandı (Şekil 2-P).
15	Embriyonun yumurtayı tamamen kapladığı, başın kanat altına yerleştiği görüldü (Şekil 2-R).	Radyolüsent görüntü veren hava kesesinin kranialinde bulunan alan içerisinde düzensiz opak çizgi tarzında alanların belirginleştiği, büyüyen embriyonun allantoik kese üzerine bası yaparak alanını daralttığı izlendi (Şekil 2-S).	Tam kranial uç kısımda toplanan nokta şeklinde hiperdens bir alan ve tüm yumurtayı kapsayan düzensiz yapıda embriyoyu andıran uç kısımdaki alana göre daha hipodens bir yapı görüldü (Şekil 2-T).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kuş yumurtaları embriyo gelişimi için gerekli olan bütün besin maddelerini içerisinde barındırmaktadır. Embriyonun gelişimi sırasında oluşan bütün fizyolojik süreçler, kesin sınırlarla çevrili bir sistem durumundaki yumurta içinde gerçekleşmektedir. Yumurta kabuğu üzerinde yer alan mikroskobik gözenekler aracılığıyla sadece solunum için gerekli olan oksijen difüzyon yoluyla yumurta içine geçerken, oluşan karbondioksit ve su dışarı

çıkartılır (Hoyt ve ark. 1979; Sotherland ve Rahn 1987; Balkan ve Karakaş 2007). Kuş yumurtalarının bütün bu özellikleri onları embriyonik gelişim çalışmaları için ideal bir materyal haline getirmektedir (Vlec ve Vleck 1987; Rashidi ve Sottile 2009; Würbach ve ark. 2012). Çalışmada embriyonik gelişiminin izlenmesinde ideal bir materyal olan bildircin yumurtalarının radyolojik, tomografik tekniklerin kullanılması ve makroskobisiyle farklılıklarının araştırılması amaçlanmıştır.

Röntgen ve BT, veteriner hekimliğinde sıklıkla kullanılan görüntü tanı yöntemlerinden olmasına rağmen BT

tekniki kanatlı hayvanlar üzerinde yeni kullanılmaya başlanmıştır. Bu nedenle, görüntülerin değerlendirilmesi ve yorumlanması, yalnızca bölgenin makro-anatomisi ve kesitsel anatominin iyi düzeyde aşına olmasıyla mümkündür (Arencibia ve ark. 2006; Banzato ve ark. 2012; Duymuş ve ark. 2013). Özellikle her iki görüntüleme tekniğinde de hava keseleri net bir şekilde saptanmıştır. Radyografide yumurtalardaki hava keselerinin 15. güne ulaşmaya kadarki süre içerisinde hacimsel bir artış yakaladığı görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada Japon bıldırcınlarında ilerleyen yaşla beraber yumurta ağırlığı ve kabuk ağırlığının önemli düzeyde arttığını, kabuk kalınlığının azaldığını bildirmişlerdir (Yannakopoulos ve Tserveni-Gousi 1986). Sunulan çalışmada kullanılan yumurtaların 42 ila 60 gün arasındaki yaş grubuna ait bıldırcınlardan seçilmiş olması yumurta kalınlığının fazla olmasına neden olmuştur. Özellikle radyolojik görüntüleme kabuk kalınlığı ve yumurta içerisindeki yapıların süperpozisyonu nedeniyle istenilen görüntüler elde edilememiştir. Toplam 60 yumurtanın BT ile ölçüldüğü ve yumurta sarısı oranının tahmini için iki farklı değerlendirme metodunun test edildiği bir çalışmada, yumurta sarısı ve albüminin X-ışını yoğunluk değerlerinin örtüşmesi nedeniyle, X-ışını emilimasyonuna dayalı değerlendirmede yumurta sarısı oranının in vivo tahmini için yararlı görünmediği bildirilmiştir (Milisits ve ark. 2009). Bir oranlama yapılamamasına rağmen BT görüntüleme başlangıçta dorsal kısımda bulunan daha sonra kranial kısma doğru yaklaşarak küçülen hiperdens kontrast veren yapının vitellus kesesi olduğu saptanmıştır.

Yumurta içeriğinin yoğunluğu, genel olarak kuşlarda 1.031 g/ml olarak bilinmektedir (Rahn ve Paganelli 1989). İçerik yoğunluğu bıldırcın için 1.179 g/ml olarak ölçülmüş, bu değer in ortalamadan daha yoğun bir içeriği gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle yumurta sarısı su içeriğinin (yaklaşık %50) diğer dokularından düşük olmasına bağlı olarak, yumurtanın içerdiği su oranı bakımından da, prekosal (%67 - %75) ve altrisiyal (%83 - %84) kuş türleri arasında farklılık olduğu belirtilmektedir (Ar ve Rahn 1980, Carey ve ark. 1980). Yapılan çalışmada radyolojik görüntüleme tekniğinde yumurtanın içerik yoğunluğunun fazla olması nedeniyle istenilen düzeyde bir embriyonel gelişim düzeyi takip edilememiştir. BT'de ise röntgene göre daha fazla yumurta içerisinde detay yakalama şansı olmuştur. Özellikle vitellus kesesinin su içeriğinin düşük olması BT tekniğinde görüntülenmesini arttırmış olup 15. güne kadar olan değişimlerinin saptanmasına yardımcı olmuştur.

Sonuç olarak BT tekniği ile yumurta içerisindeki embriyonel gelişimin ve yapıların radyografiye nazaran daha iyi şekilde takip edilebileceği görülmüştür. Ancak her iki tekniğinde tam anlamıyla embriyonun ve diğer organellerinin 15. güne kadar olan değişimlerini net olarak ayırtılmasında kullanılacak yeterlilikte olmadığı düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Çalışmamıza katkılarından dolayı Özel Asema Hospital yönetimine ve personeline teşekkür ederiz

KAYNAKLAR

- Altan Ö, Oguz İ, Akbas Y (1998).** Japon bıldırcınlarında (*Coturnix coturnix japonica*) canlı ağırlık yönünde yapılan seleksiyonun ve yaşın yumurta özelliklerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci*, 22, 467-473.
- Altan Ö, Oguz İ, Settar P (1995).** Japon bıldırcınlarında yumurta ağırlığı ile özgül ağırlığının kuluçka özelliklerine etkileri. *Turk J Agric For*, 19, 219-222.
- Ar A, Rahn H (1980).** Water in the avian egg. Overall budget of incubation. *Amer Zool*, 20, 373-384.
- Arencibia A, Rivero MA, Miguel De I, Contreras S, Cabrero A, Oros J (2006).** Computed tomographic anatomy of the head of the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Res Vet Sci*, 81, 165-169.
- Balkan M, Karakaş R (2007).** Bıldırcın (*Coturnix coturnix japonica*) yumurtalarına ilişkin bazı özellikler. *DÜ Ziya Gökalp Eğt Fak Derg*, 8, 112-119.
- Banzato T, Salleri P, Veladiano IA, Martin A, Zanetti E, Zotti A (2012).** Comparative evaluation of the cadaveric, radiographic and computed tomographic anatomy of the heads of green iguana (*Iguana iguana*), common tegu (*Tupinambis merianae*) and bearded dragon (*Pogona vitticeps*). *BMC Vet Res*, 8, 53.
- Carey C, Rahn H, Parisi P (1980).** Calories, water, lipid and yolk in avian eggs. *Condor*, 82, 335-343.
- Duymuş M, Demiraslan Y, Akbulut Y, Orman G, Aslan K, Özcan S (2013).** The statistical analysis of some volumetric measurements in the japanese quails' head with different feather color: a computed tomography study. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 681-686.
- Hassa O, Aşti RN (1997).** Embriyoloji. Yorum basım yayın sanayi LTD şti, Ankara.
- Hoyt DF, Board RG, Rahn H, Paganelli CV (1979).** The eggs of the anatidae: conductance, pore structure and metabolism. *Physiol Zool*, 52, 438-450.
- Kaplan O, Avcı M (2002).** Bıldırcın karma yemlerine katılan organik ve inorganik magnezyum katkılarının yumurta verimi ve kalitesi üzerine etkisi. *YYU Vet Fak Derg*, 23, 77-81.
- Milisits G, Donkó T, Sütő Z, Bogner P, Repa I (2009).** Applicability of computer tomography in the prediction of egg yolk ratio in hen's eggs. *IJAS*, 8, 234-236.
- Rahn H, Paganelli CV (1989).** The initial density of avian eggs derived from the tables of schönwetter. *J Orn*, 130, 207-216.
- Rashidi H, Sottile V (2009).** The chick embryo: hatching a model for contemporary biomedical research. *Bioessays*, 31,459-465.
- Skewes PA, Wilson HR, Mather FB (1988).** Correlations among egg weight, chick weight and yolk sac weight in bobwhite quail (*Calinus virginianus*). *Florida Sci*, 51, 159-162.
- Sotherland PR, Rahn H (1987).** On the composition of bird eggs. *Condor*, 89, 48-65.
- Vlec CM, Vleck D (1987).** Metabolism and energetics of avian embryos. *J Exp Zool Suppl*, 1, 111-125.
- Würbach L, Heidrich A, Opfermann T, Gebhardt P, Saluz HP (2012).** Insights into bone metabolism of avian embryos in ovo via 3d and 4d 18f-fluoride positron emission tomography. *Mol Imaging Biol*, 14, 688-698.
- Yannakopoulos AL, Tserveni-Gousi AS (1986).** Quality characteristics of quail eggs. *Bri Poultry Sci*, 27, 171-176.



The Effect of Different Doses of Ellagic Acid on the Serum Lipid Profile and Total Antioxidant of Rat*

Songül AKKUŞ Yeter DEĞER

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Van, Turkey

Received: 17.02.2017

Accepted: 06.07.2017

SUMMARY

This study was planned to determine in which dose of ellagic acid it shows the optimum effect on lipid, lipoprotein and total antioxidant capacity. For this purpose, 40 male rats (Wistar-albino) weighing 200- 250 g were used. Control, group 1 (EA 3 mg/kg), group 2 (EA 10 mg/kg), group 3 (EA 12 mg/kg) and group 4 (EA 20 mg /kg) were designated, each containing 8 rats. Following orally application of ellagic acid (EA) every other day for eight weeks, from the blood samples taken; the measurement of triglyceride, cholesterol, LDL and HDL were determined by modular auto-analyzer using commercial kit. VLDL levels were calculated by formula. The total antioxidant capacity (TAS) was measured through spectrophotometer using the commercial kit. When compared with the control group, it was found that while TAS, triglyceride, HDL and VLDL levels were increased, LDL and cholesterol levels were decreased in the all EA applied groups. These changes weren't important statistically ($P>0.05$). Consequently, with regard to the data acquired in this study, it is recommended that in further research, the protective dose of ellagic acid is higher than 20 mg/kg/day and prolonged use

Key Words: Ellagic acid, Rat, HDL, LDL, Triglyceride, Cholesterol, TAS

ÖZET

Farklı Doz Ellajik Asitin Rat Serum Lipit Profili ve Total Antioksidan Üzerine Etkisi

Bu çalışma, ellajik asitin, lipit, lipoprotein ve total antioksidan kapasite üzerine optimum etkiyi hangi dozda gösterdiğini tespit etmek amacıyla planlandı. Bu amaçla 40 adet, 200-250 gr ağırlığında erkek rat (Wistar-albino) kullanıldı. Kontrol, 1. grup (EA 3 mg/kg), 2. grup (EA 10 mg/kg), 3. grup (EA 12 mg/kg) ve 4. grup (EA 20 mg/kg) olmak üzere her biri 8 rattan oluşan 5 grup oluşturuldu. Sekiz hafta boyunca, gün aşırı olarak ellajik asitin (EA) oral olarak uygulanmasını takiben, alınan kan örneklerinde, trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL ölçümleri ticari kit kullanılarak modüler oto-analizör cihazında yapıldı. VLDL düzeyleri formülle hesaplandı. TAS ölçümü ticari kit kullanılarak spektrofotometrede gerçekleştirildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, EA verilen tüm gruplarda, TAS, HDL, VLDL ve trigliserit seviyelerinin artarken, LDL ve kolesterol seviyelerinin azaldığı tespit edildi. Bu değişiklikler istatistik olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen verilere dayanarak, yapılacak çalışmalarda, ellajik asitin koruyucu dozunun 20 mg/kg/gün düzeyinden yüksek olması ve uzun süre kullanılması önerilir.

Anahtar Kelimeler: Ellajik asit, Rat, HDL, LDL, Trigliserid, Kolesterol, TAS

GİRİŞ

Ellajik asit (2,3,7,8-tetrahidroksil [1] benzapiranol[5,4,3cde][1] benzopiran-5, 10-dione), nar, ahududu, çilek, üzüm gibi pek çok taneli meyvelerde (Clifford ve Scalbert 2000) ve cevizde (Lee ve Talcott 2002) bulunan bitkisel polifenol türü bir maddedir. Ellajik asit, ellagitaninlerin bazı kimyasal işlemler geçirmesi sonucunda oluşur (Chung ve ark. 1998). Ellajik asit, antioksidan, anti-inflamatuar, immünomodülatör, antimikotik, anti-kanserojenik (Solon ve ark. 2000; Festa ve ark. 2001) ve antihiperlipidemik (Devipriya ve ark. 2007) aktivitesi olan bir maddedir. Ayrıca yaşlanmayı

geciktirici etkisi de vardır (Stoner ve Mukhtar 1995). Ellajik asit, yıkıcı serbest oksijen radikallerini temizler veya bağlar, böylece antioksidan görevi yapar (Lino ve ark. 2001).

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden karışık bir antioksidan savunma sistemine sahiptir (Erel 2004). Total antioksidan kapasite (TAS), biyolojik sıvılarda mevcut antioksidanların membranları ve diğer hücrel komponentleri oksidatif hasara karşı koruma kapasitesinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (MacKinnon ve ark. 1999). Antioksidan sistemlerin ayrı

ayrı gösterilmesi, bu sistemler arasında sinerjik etkileşim olduğu için tercih edilmemektedir. Total antioksidan seviyenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verir. Bu nedenle, kanın antioksidan durumunu saptamada, TAS ölçümü yaygınlaşmıştır. Plazma antioksidan kapasite ölçümü, redoks durumu, fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin değerlendirilmesinde yardımcı olur. Antioksidan yönünden zengin besinlerin uygulanmasından sonra kan antioksidan kapasitesindeki değişiklikler hakkında bilgi verir (Ghiselli ve ark. 2000; Erel 2004).

Lipidler biyolojik yaşamın her alanında kritik rol oynarlar. Hücrelerin yapısal unsurları oldukları gibi metabolik ve hormonal yollarla da yakından ilişkilidirler. Plazma lipidlerinin dört ana formu trigliserid, kolesterol, kolesterol ester ve fosfolipidlerdir. Bu lipid kompleksleri lipoproteinlere bağlı olarak taşınırlar. Plazma lipoproteinleri yoğunluklarına göre şilomikronlar, VLDL, LDL, HDL olarak beş gruba ayrılır (Gündüz ve Mert 1997; Karagül ve ark. 2000).

Lipid profilindeki bozukluklar klinik olarak başta aterosklerozis olmak üzere koroner kalp hastalıkları ile yakından ilişkilidir (Çelik ve Ökkeş 1996). Plazma LDL-kolesterol artışı iskemik kalp rahatsızlıklarına risk olarak değerlendirilir. Yüksek dansiteli lipoproteinler ile koroner hastalıklar arasında ters bir orantı vardır (Karagül ve ark. 2000). İnsan vücudunda kanda yüksek trigliserid seviyesi ile koroner kalp hastalıkları arasındaki ilişki, LDL/HDL-kolesterol oranının olumsuz etkisi kadar yüksek değildir. HDL-kolesterol düzeyleri ile trigliserid düzeyleri arasındaki ters ilişki, yüksek trigliseridin taşıdığı riski kısmen açıklamaktadır (Brinton ve ark. 1991; Chapman ve ark. 2011).

Bu çalışma, çeşitli hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde kullanılan ellajik asitin, farklı dozlarda verilerek serum lipit, lipoprotein ve total antioksidan kapasite üzerine etkilerinin araştırılması amacıyla planlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden alınan 200-250 gr ağırlığındaki 40 adet erkek rat (Wistar-albino) kullanıldı. Ratlar, deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlık uygulanmış, sıcaklığı $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı. Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 03/10/2013 tarih ve 2013/10 sayılı onayı ile gerçekleştirildi.

Ratlar rastgele seçilerek, her birinde sekiz tane olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Kontrol, 1. grup (EA 3 mg/kg), 2. grup (EA 10 mg/kg), 3. grup (EA 12 mg/kg), 4. grup (EA 20 mg/kg). Sekiz haftalık çalışma süresi boyunca, mısır özü yağında çözündürülen ellajik asit (EA), yukarıda belirtilen dozlarda, gün aşırı olarak ağızdan gavaj ile uygulandı. Kontrol grubuna, mısır özü yağı gavaj ile verildi.

Deneme süresinden sonra, 75 mg/kg ketamin HCL **intraperitoneal** enjekte edildi ve hayvanların kalplerinin sol ventrikülünden punksiyon ile kan örnekleri alındı. Bu kanlar 3000 devirde $+4^{\circ}\text{C}$ de 10 dk santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serum örneklerinde, trigliserit, kolesterol, HDL ve LDL ölçümleri ticari kit kullanılarak modüler oto-analizör cihazında yapıldı. VLDL düzeyleri formülle hesaplandı. TAS ölçümü, ticari olarak üretilmiş ölçüm kiti (Randox, United Kingdom) kullanılarak spektrofotometre cihazında yapıldı. Ölçüm işlemleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

İstatistik analiz

Araştırmada elde edilen veriler ortalama \pm standart hata değerleri olarak gösterildi. İstatistiksel analizler SPSS 20.0 paket programıyla yapıldı. Kontrol ve deneme gruplarından elde edilen veriler Tek Yönlü Varyans Analizi ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalar için Duncan testinden yararlanıldı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi $P<0.05$ olarak alındı.

BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar **Tablo 1.** de özetlendi.

Tablo 1. Kontrol ve ellajik asit gruplarında serum lipit, lipoprotein ve TAS düzeyleri

Table 1. Serum lipid, lipoprotein and TAS levels in control and ellagic acid groups

Parametreler	K	1. grup	2. grup	3. grup	4. grup
	X \pm St. Hata	X \pm St. Hata	X \pm St. Hata	X \pm St. Hata	X \pm St. Hata
Trigliserit (mg/L)	82.30 \pm 0.919	82.67 \pm 0.919	89.53 \pm 0.919	90.69 \pm 0.919	93.57 \pm 0.919
Kolesterol (mg/dL)	56.00 \pm 0.941	54.71 \pm 0.941	53.86 \pm 0.841	53.71 \pm 0.941	52.00 \pm 0.941
HDL (mg/dL)	37.43 \pm 0.471	38.14 \pm 0.471	38.43 \pm 0.471	39.29 \pm 0.471	43.86 \pm 0.471
LDL (mg/dL)	16.14 \pm 0.106	15.71 \pm 0.106	14.43 \pm 0.106	14.29 \pm 0.106	13.43 \pm 0.106
VLDL (mg/dL)	15.14 \pm 0.890	15.29 \pm 0.890	16.29 \pm 0.890	16.57 \pm 0.890	16.86 \pm 0.890
TAS (mmol/L)	2.1885 \pm 1.000	2.1964 \pm 1.000	2.1979 \pm 1.000	2.2054 \pm 1.000	2.2068 \pm 1.000

Grup ortalamaları arasında istatistik olarak fark bulunmadığından, harflendirme yapılmamıştır ($P>0.05$).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ellajik asitin farklı dozlarının uygulandığı gruplarda, uygulanan dozun artışına paralel olarak, TAS, trigliserit, HDL ve VLDL düzeylerinde artma, kolesterol ve LDL düzeylerinde azalma tespit edilmesine rağmen, istatistik olarak fark bulunamadı ($P>0.05$). Ayrıca, bu değişikliklerin deneme gruplarının kendi arasında da istatistik olarak fark göstermediği belirlendi ($P>0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kalp damar rahatsızlığının ortaya çıkışında bazı lipid fraksiyonlarının rol oynadığı uzun zamandan beri bilinmektedir. Plazmada LDL-kolesterol artışı iskemik kalp hastalıklarında risk olarak değerlendirilir. LDL-kolesterol değerindeki artışın hiperkolesterolemiye neden olduğu ve bununla kalp hastalıkları, karaciğer, böbreklerde

bozukluğa neden olduğu bildirilmektedir. Plazmada LDL-kolesterolün artmasıyla subendotelial bölgede depolanma ve inflamatuvar hücre yanıtının başladığı kabul edilir. Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, insanlarda total ve LDL-kolesterol düzeyleri yükseldikçe koroner kalp hastalıkları riskinin arttığı bildirilmektedir. LDL'nin oksidatif değişiminin, ateroskleroz patojeni üzerinde önemli etkisi olduğu belirtilmiştir (Meyer ve ark. 1998; Özkaya 2007). HDL ile kroner hastalıklar arasında ters bir orantı vardır. HDL- kolesterol artışı, iskemi kalp hastalıklarında düşük risk ya da koruyucu faktör olarak değerlendirilir (Karagül ve ark. 2000).

Antioksidanlar, atherojenesis olayında, LDL oksidasyonunu inhibe eder. Günümüzde flavonoidler ve fenolik asitlerle yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, LDL oksidasyonunun azaldığı belirtilmiştir. Ellajik asit ve aynı tür polifenoller, LDL oksidasyonuna karşı en etkili olan antioksidanlardır (Meyer ve ark. 1998).

Polifenol türevi maddeler olan ellajik asit ve hesperetin'in oksidatif strese karşı etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, kontrol grubuna göre, ellajik asit ve hesperetin gruplarında, serumda LDL ve kolesterol düzeyleri düşük, HDL düzeyleri ise yüksek bulunarak, bu maddelerin serum lipid kaynaklı hastalıklara karşı kullanımının olumlu sonuç vereceği belirtilmiştir (Özkaya 2007).

Deneyssel diyabette, serum HDL seviyesinin azalırken, total kolesterol, TG, LDL ve VLDL seviyelerinin arttığı, EA ile tedavinin ardından serum lipid profilinin normal değerlere yaklaştığı görülmüştür (Kanchana ve ark. 2011). Deneyssel nefrotoksikozda artan serum LDL seviyesinin, EA'nın kullanılması ile önemli şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Rehman ve ark. 2012).

Aterojen diyet katılan fındık ve cevizin, sıçanların serumunda lipid ve lipid peroksit düzeylerini olumlu biçimde, farklı oranlarda etkilediği gösterilmiştir (Dönmez 2006). Diyete bağlı olarak gelişen metabolik sendromda, yükselen plazma trigliserid ve total kolesterol seviyelerinin, ellajik asitin verilmesi ile birlikte düştüğü tespit edilmiştir (Panchal ve ark. 2013).

Yoshimura ve ark. (2013), yüksek yağlı diyet uygulanması ile serum trigliserit ve kolesterol seviyelerinin arttığı, HDL seviyesinin düştüğü, uzun dönem EA içeren yüksek yağlı diyet verilmesi ile serum lipid kompozisyonunun düzeldiğini saptamışlardır. Alkol kullanılarak toksisite oluşturulan ratlarda, artan lipid düzeyleri, EA kullanımı ile azalmıştır (Devipriya ve ark. 2007)

Sunulan çalışmada, kontrol grubuna göre, ellajik asit gruplarında, uygulanan dozun artmasına paralel olarak trigliserit, HDL ve VLDL düzeylerinde artma, kolesterol ve LDL düzeylerinde azalma gözlemlendi, ancak istatistik olarak önemli düzeyde bulunmadı. Bu değişikliklerin, ellajik asit uygulanan gruplar arasında da önemli olmadığı tespit edildi (P>0.05). Sonuçlar, EA'nın kan lipidleri üzerinde etkisinin olduğunu desteklemektedir.

Total antioksidan kapasite (TAS), bilinen ve bilinmeyen antioksidanlar ve bunların sinerjik etkileşim kapasitesi hakkında fikir verir. Son zamanlarda, TAS; diyet antioksidanlar, oksidan/antioksidan denge ve hastalıklar arasındaki ilişkiyi anlamak için yeni bir araç olarak kullanılmaktadır (Serafini ve Del Rio 2004).

Birçok çalışmada, polifenollerin, glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve superoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidanları arttırdığı (Rodrigo ve ark. 2002; Molina ve ark. 2003) ve lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (Molina ve ark. 2003).

Ellajik asit ve hesperetin verilen sıçanlarda katalaz (CAT), GSH-Px aktivitelerinin ve GSH seviyesinin arttığı, bununla birlikte malondialdehit (MDA) düzeyinin azaldığı belirlenmiştir (Özkaya 2007). Khanduja ve ark. (1999), EA'nın GSH seviyesinin artışında etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Devipriya ve ark. (2007), alkolün neden olduğu oksidatif strese karşı, ellajik asitin enzimatik olan ve olmayan antioksidanları restore ederek koruyucu etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ellajik asit uygulamasının, serum TAS seviyesini artırırken, MDA seviyesini düşürdüğü, bu etkinin EA'nın antioksidan özelliğinden ileri geldiği bildirilmiştir (Böyük ve ark. 2011). EA'nın, renal iskemi-reperfüzyon sonrası meydana gelen oksidatif hasarı, TAS seviyesini artırarak engellediği tespit edilmiştir (Bozkurt ve ark. 2012).

Başka bir çalışmada ise, sekiz hafta boyunca gün aşırı EA'nın uygulanmasının, MDA ve GSH seviyeleri ile CAT ve SOD aktivitelerini etkilemediği saptanmıştır (Çeribaşı ve ark. 2010).

Çalışmamızda, kontrol grubuna göre, TAS düzeylerinin, EA uygulanan gruplarda arttığı, ancak bu artışın istatistik olarak önemli olmadığı belirlendi. Bu artışın, EA uygulanan gruplar arasında da önemli olmadığı tespit edildi (P>0.05). TAS, tüm antioksidanların mevcut kümülatif toplamını ifade eden bir parametredir. Yukarıda verilen çalışmalarda EA uygulanmasını takiben çeşitli enzimatik ve non-enzimatik antioksidanların arttığı ve/veya azaldığı durumlar bildirilmiştir. Sunulan bu çalışmada ise EA uygulamasının, TAS üzerinde, genel bir kapasite artışına neden olduğu belirlendi. Bu durum, EA'nın vücudun antioksidan savunma gücünü arttırmasından kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen verilere dayanarak, yapılacak çalışmalarda, ellajik asitin koruyucu dozunun 20 mg/kg/gün düzeyinden yüksek olması ve uzun süre kullanılması önerilir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2012-SBE-YL019 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Bozkurt Y, Fırat U, Atar M et al. (2012).** The protective effect of ellagic acid against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Kafkas Uni Vet Fak Derg*, 18, 823-828.
- Böyük A, Önder A, Kapan M, Gümüş M, Fırat U, Başaralıtı MK, Alp H (2011).** Ellagic acid ameliorates lung injury after intestinal ischemia-reperfusion. *Pharmacogn Mag*, 27, 224-228.
- Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL (1991).** Increased Apo A-I and Apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*, 87, 536-544.
- Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P et al. (2011).** Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur Heart*, 32, 1345-1361.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW, Lin Y (1998).** Tannins and human health: a Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38, 421-464.
- Clifford MN, Scalbert A (2000).** Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric*, 80, 1118-1125.
- Çelik S, Ökkeş Y (1996).** The effects of dietary vitamin E on serum lipids and lipid peroxidation in diabetic rats. *Turk J Biol*, 23, 39-46.
- Çeribaşı AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ateşşahin A (2010).** Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 107, 730-736.

- Devipriya N, Sudheer AR, Menon VP (2007).** Dose-response effect of ellagic acid on circulatory antioxidants and lipids during alcohol-induced toxicity in experimental rats. *Fun Clin Pharmacol*, 21, 621-630.
- Dönmez T (2006).** Fındık ve Cevizin Sıçanlarda Serum Lipitleri, Aterosklerotik Lezyonlar ve Prooksidan-Antioksidan Denge Üzerine Etkisi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Erel O (2004).** A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 37, 112-119.
- Festa F, Aglitti T, Duranti G, Ricordy R, Perticone P, Cozzi R (2001).** Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells *in vitro* revealed by the comet assay. *Anticancer Res*, 21, 3903-3908.
- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C (2000).** Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status, critical review and experimental data. *Free Radic Biol Med*, 29, 1106-1114.
- Gündüz H, Mert N (1997).** Farklı ırklardaki ithal etçi koyunlarda serum lipoprotein düzeyleri. *YYÜ Vet Fak Derg*, 8, 25-27.
- Kanchana G, Malini P, Shyni WJ (2011).** Membrane bound enzymes and lipid lowering effect of ellagic acid on normal and streptozotocin induced diabetic in albino wistar rats. *J Pharm Res*, 4, 1461-1463.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000).** Klinik Biyokimya. Medisan Yayınevi, Ankara.
- Khanduja KL, Gandhi RK, Pathania V, Syal N (1999).** Prevention of nitrosodiethylamine- induced lung tumorigenesis by ellagic acid and quercetin in mice. *Food Chem Toxicol*, 37, 313-318.
- Lee J, Talcott ST (2002).** Ellagic acid and ellagitannins affect on sedimentation in muscadine juice and wine. *J Agric Food Chem*, 50, 3971-3976.
- Lino T, Nakahara K, Miki W (2001).** Less damaging effect of whisky in rat stomachs in comparison with pure ethanol. Role of ellagic acid, the nonalcoholic component. *Digestion*, 64, 214-221.
- MacKinnon KL, Molnar Z, Lowe D, Watson ID, Shearer E (1999).** Measures of total free radical activity in critically ill patients. *Clin Biochem*, 32, 263-268.
- Meyer AS, Heinonen M, Edwin N (1998).** Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem*, 61, 71-75.
- Molina MF, Sanchez-Reus I, Iglesias I, Benedi J (2003).** Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevent and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharm Bull*, 26, 1398-1402.
- Özkaya A (2007).** Oksidatif Strese Maruz Kalan Ratların Bazı Biyokimyasal Parametrelerine Hesperetin ve Ellajik Asidin Etkisi. Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Panchal SK, Ward L, Brown L (2013).** Ellagic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *Eur J Nutr*, 52, 559-568.
- Rehman MU, Tahir M, Ali F, Qamar W, Lateef A, Khan R, Quaiyoom A, Oday-O- Hamiza, Sultana S (2012).** Cyclophosphamide-induced nephrotoxicity, genotoxicity, and damage in kidney genomic DNA of Swiss albino mice: the protective effect of ellagic acid. *Mol Cell Biochem*, 365, 119-127.
- Rodrigo R, Rivera G, Orellana M, Araya J, Bosco C (2002).** Rat kidney antioxidant response to long-term exposure to flavonol rich red wine. *Life Sci*, 71, 2881-2889.
- Serafini M, Del Rio D (2004).** Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox Rep*, 9, 145-152.
- Solon S, Lopes L, Teixeira de Sousa P Jr, Schmeda-Hirschmann G (2000).** Free radical scavenging activity of *Lafoesia pacari*. *J Ethnopharmacol*, 72, 173-178.
- Stoner G D, Mukhtar H (1995).** Polyphenols as cancer chemopreventive agent. *J Cell Biochem Suppl*, 22, 169-180.
- Yoshimura Y, Nishii S, Zaima N, Moriyama T, Kawamura Y (2013).** Ellagic acid improves hepatic steatosis and serum lipid composition through reduction of serum resistin levels and transcriptional activation of hepatic parpa in obese, diabetic KK-Ay mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 434, 486-491.



Radiological and Biochemical Diagnosis of Skeletal Developmental Disorders Due to Growth in Van Cats*

İbrahim YURDAKUL¹ Bahtiyar BAKIR²

¹ Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Sivas, Turkey

² Gazi University, Gölbaşı Vocational School, Ankara, Turkey

Received: 31.03.2017

Accepted: 13.07.2017

SUMMARY

In this study, fourty Van Cats, twenty cats from each gender, were used. Extremities and other parts of the animals' body were examined radiologically at three months intervals, starting from three months old. Besides, in every examination animals' blood test were done. In the conclusion of the clinical examination metabolic bone diseases in eight animals and hip dysplasia in another eight were diagnosed. The distribution of the diseases in animals were as following, rachitism in three cats, hyperthyrophic osteopathy in two and nutritional secondary hyperparathyroidism in three. In biological tests, average concentrations of Calcium (Ca), Phosphorus (P), Magnesium (Mg) and Alkaline Phosphatase (ALP) were 9.1 mg/dl, 3.6 mg/dl and 2.3 mg/dl, 200 U/L in rachitic animals, 10.9 mg/dl, 8.4 mg/dl and 2.3 mg/dl, 260 U/L in animals with hyperthyrophic osteopathy, 8.6 mg/dl, 8.2 mg/dl and 2.3 mg/dl, 206 U/L in animals with nutritional secondary hyperparathyroidism. The ratio of Ca and P was 2.6 mg/dl in rachitic animals, 1.3 mg/dl in animals with hyperthyrophic osteopathy and 1.1 mg/dl in animals with nutritional secondary hyperparathyroidism. As a result, metabolic bone diseases occur depending on nutrition in Van Cats. Radiological and biochemical results are essential in the accurate diagnosis of these diseases. Therefore, for the cats which are diagnosed with metabolic bone disease, clinical findings should be supported with radiological and biochemical examinations.

Key Words: Alkalinephosphatase, Phosphour, Developing defaults, Calcium, Magnesium, Van

ÖZET

Van Kedilerinde Büyümeye Bağlı İskelet Gelişim Bozukluklarının Radyolojik ve Biyokimyasal Tanısı

Bu çalışmada her iki cinsiyetten 20 adet erkek ve 20 adet dişi olmak üzere toplam 40 adet Van kedisi kullanılmıştır. Çalışmaya alınan hayvanların 3 aylıktan itibaren 3'er ay aralıklar ile ekstremit ve vücudun diğer kısımlarının radyolojik muayeneleri gerçekleştirilmiştir. Ayrıca her muayenede kanları alınmıştır. Klinik muayene sonucunda; 3 kedide raşitizma, 2 kedide hipertrofik osteopati, 3 kedide nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm olmak üzere toplam 8 Van Kedisinde metabolik kemik hastalıkları ve 8 adetinde de kalça eklemi displazisi tespit edilmiştir. Yapılan biyokimyasal testlerde ortalama Kalsiyum (Ca), Fosfor (P), Magnezyum (Mg) ve Alkelen fosfataz (ALP) konsantrasyonları raşitizmalı hayvanlarda 9.1 mg/dl, 3.6 mg/dl ve 2.3 mg/dl, 200 U/L, hipertrofik osteopatili hayvanlarda 10.9 mg/dl, 8.4 mg/dl ve 2.3 mg/dl, 260 U/L, Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm (NSH)'li hayvanlarda 8.6 mg/dl, 8.2 mg/dl ve 2.3 mg/dl, 206 U/L olarak tespit edildi. Ca, P oranı raşitizmalı hayvanlarda 2.6 mg/dl, hipertrofik osteopatili hayvanlarda 1.3 mg/dl, nutrisyonel sekonder hiperparatroidizimli hayvanlarda 1.1 mg/dl olarak belirlendi. Sonuç olarak Van Kedilerinde beslenmeye bağlı olarak metabolik kemik hastalıklarının oluştuğu, bu hastalıkların kesin teşhislerinin konulmasında radyolojik ve biyokimyasal sonuçların önem arzettiği, bu yüzden metabolik kemik hastalığı saptanan kedilerde klinik bulguların radyolojik ve biyokimyasal muayenelerle desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Alkalenfosfataz, Fosfor, Gelişim bozukluğu, Kalsiyum, Magnezyum, Van Kedisi

GİRİŞ

İskelet sisteminin hastalıkları, gelişim çağındaki genç hayvanlarda çeşitli sebeplerle ortaya çıkar. Metabolik

kemik hastalıklarının başında Raşitizma gelir. Özellikle D vitamini eksikliğine bağlı olarak kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) metabolizmasının bozulması sonucu yumuşak, esnek kemik oluşumu ile karakterizedir. Raşitizma kedilerde

sindirim sistemi bozukluklarına ilişkin olarak konstipasyon ve koprostatik olguları ile karakterizedir (Alkan 1999). Raşitizmde radius, ulna ve tibiada eğrilmelere bağlı olarak bacak kemikleri "X" ya da "O" şeklini alır (Büyükpamukçu ve Berkin 1985; Kul 1996). Nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm; şekillenen osteoklasti olgusunun kemik substansındaki eksik oluşumu ile karakterize olan bir kemik hastalığıdır (Samsar ve Akın 2000). Nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm düşük Ca, yüksek P içeren et ile beslenenlerde veya Ca normal veya düşük olan, D₃ vitamini yetersiz olan gıdalarla beslenen genç hayvanlarda görülür. Klinik olarak kedilerde ayakta durmakta ve yürümekte isteksizlik vardır. Kemiklerin palpasyonunda ağrı ve yaygın olarak femur proksimalinde ve vertebrada patolojik kırıklar olduğu görülür (Capen ve Rosol 1989; Whittick 1990; Wills ve Simpson 1994; Kealy ve McAllister 2000). Hipertrofik osteopati; kemiklerin subperiostal katında Ca tuzlarının birikmesi sonucu oluşan ve kemik özgül ağırlığının artışıyla karakterize bir kemik hastalığıdır (Samsar ve Akın 2000). Bu hastalığın etiolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte D hipervitaminozuna ilişkin olarak, Ca ve P fazlalığına bağlı olarak şekillendiği belirtilir. Hastalanan hayvanlarda yürüyüş çok güçtür, hayvanların görünüşleri atipiktir. Hasta hayvanlarda büyüme duraklar, iştahsızlık, durgunluk ve zayıflık gözlenir (Kul 1996; Samsar ve Akın 2000). Kalça eklemi displazisi ise genetik, çevre ve beslenme faktörlerinin etkisi altında meydana gelen multifaktöriyel, çoğunlukla orta ve iri cüsseli köpekleri etkileyen kalça eklemi dejeneratif ve ortopedik bir hastalığıdır (Coles 1986; Watson 1990; Whittick 1990; Wills ve Simpson 1994; Thrall 1998; Kealy ve McAllister 2000; McGavin 2001).

Kalça eklemi displazisine insan, kedi, at, sığır, domuz, tavşan, tilki, ayı, rat, tavuk gibi evcil ve yabani hayvanlarda da rastlanılmaktadır (Bakır ve ark. 1997). Displazik olgularda en önemli radyolojik bulgu olarak asetabulumun derinliği kaybolmuş ve yarım küre özelliğini kaybetmiş olmasıdır (Bakır ve ark. 1997; Thrall 1998).

Yapılan bu çalışmada Van Kedilerinde görülen büyümeyle ilgili metabolik kemik hastalıkları ve kalça displazisinde klinik bulguların radyolojik ve biyokimyasal muayenelerle teşhisi ve nasıl görüldüğü ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Çalışmanın materyalini, YYÜ. Van Kedisi Araştırma Merkezi'nde bulunan ve YYÜ Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Kliniğine getirilen 1-12 aylık 20 erkek ve 20 dişi olmak üzere toplam 40 adet yavru Van Kedisi oluşturdu. Çalışma süresince kedilerin düzenli olarak parazitler kontrolleri ve aşılamaları yapıldı.

Kan örneklerinin alınması

Kan örnekleri çalışma süresince 3'er ay aralıklarla 4 kez, ilk 3. aylıkken Vena jugularis externa'dan, 3 aylık yaş döneminden sonra ön bacaklarda Vena cephalica antibrachi'den alındı. Alınan kan serumlarında Ca, P ve magnezyum (Mg) konsantrasyonları ticari hazır kitlerle (Biyoclinica), ALP enzim aktiviteleri için Modüler Otoanalizator cihazında (Roche/Germany) P-Nitrofenilfosfat ALP ticari kit (ALP Kit Roche/USA) kullanılarak optimize kolorimetrik yöntemle belirlendi.

Radyolojik inceleme

Klinik muayene öncesi hırçın mizaçlı kedilere sakinleşmeleri için 1-2 mg/kg dozda Ksilazin Hydroclorid (23.32 mg/ml) kas içi (I.M.) uygulandı. Sakin mizaçlı

kedilerin ise sedasyon yapılmadan röntgen filmleri çekildi. Çalışmaya alınan hayvanların 3 aylıktan itibaren 3'er ay aralıklarla kontrol filmleri alındı. Kalça displazisinin radyolojik tanısı amacıyla Norberg-Olsson yöntemi kullanıldı.

İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın kan değerleri ortalama (\bar{x}) ve ortalamanın standart hatası ($s_{\bar{x}}$) olarak verildi. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar Tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile SPSS (Versiyon 8.0) kullanılarak belirlendi.

BULGULAR

İncelenen Van Kedilerinin 3'ünde raşitizma (%7.5), 2'sinde hipertrofik osteopati (%5) ve 3'ünde nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm (%7.5) olmak üzere toplam 8 hayvanda metabolik kemik hastalığı (%20) belirlendi. Ayrıca 8 hayvanda kalça eklemi displazisine (%20) rastlandı.

Raşitizma teşhis edilen hastaların %66.67'sini ve hipertrofik osteopati ile nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizmlili hastaların tamamının 3-6 aylık yaş dönemlerinde olduğu belirlendi. Dokuz aylık yaş döneminde herhangi bir metabolik kemik hastalığına rastlanmaz iken 12 aylık yaş döneminde bu grup hastalıkların görülme oranı %12.5 olarak belirlendi. Genel olarak metabolik kemik hastalıklarının %87.5 oranında 3-6 aylık yaş dönemlerinde görüldüğü tespit edildi.

Çalışmada raşitizma belirlenen hayvanların hepsi erkek iken, bu oran hipertrofik osteopatide %50 dişi, %50 erkek, nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizmde %66.67 dişi, %33.33 erkek, kalça displazisinde ise %37.5 dişi, %62.5 erkek olarak tespit edildi.

Çalışmada metabolik kemik hastalıklarının cinsiyete göre dağılım oranları erkek kedilerde %25 ve dişi kedilerde %15 olarak tespit edildi. Metabolik kemik hastalıkları belirlenen 5 adet erkek kedinin 3'ünde raşitizma (%60), 1'inde hipertrofik osteopati (%20) ve 1'inde nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm belirlendi. Üç adet dişi kedide tespit edilen metabolik kemik hastalıkları 1 kedide hipertrofik osteopati (%33.33) ve 2 kedide nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm (%66.67) olarak dağılım gösterdi. Çalışmada; dişi hayvanlarda raşitizmaya rastlanmadı.

Klinik Bulgular

Raşitizma, hipertrofik osteopati ve nutrisyonel sekonder hiperparatiroidizm belirlenen kedilerin klinik muayenelerinde elde edilen bulgulara ait veriler Tablo 1'de verilmiştir.

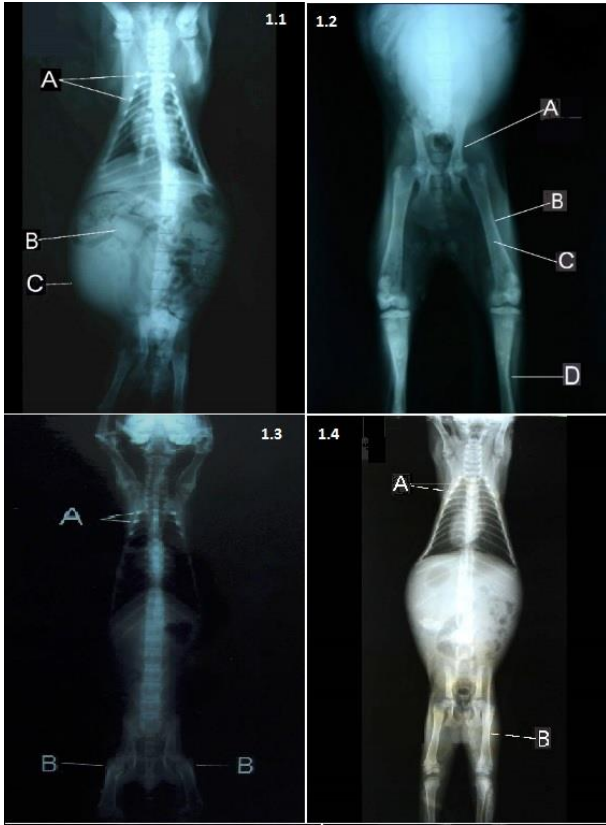
Radyolojik Bulgular

Metabolik kemik hastalıkları yönünden radyolojik olarak belirleyici olan bulgular Tablo 2 ve Şekil 1, 2, 3, 4, 5'te verilmiştir.

Kalça displazili kedilerin radyografilerinde ise asetabulumun sığlaşması ve kollum femorisin kalınlaşması dışında sekonder değişimlere rastlanmadı. Kalça displazili 8 kediden bir tanesinde tek taraflı, 7 tanesinde ise çift taraflı displazi belirlendi (Şekil 6). Kalça displazili kedilerin Norberg-Olsson skalasına göre değerlendirilmeleri Tablo 3'te verilmiştir.

Biyokimyasal Bulgular

Metabolik kemik hastalıklarında biyokimyasal açıdan önem arz eden Ca, P, Mg, ALP değerleri Tablo 4'te gösterilmiştir.



Şekil 1. Raşitizmalı bir kedide abdomenin ventro-dorsal radiografisi; A: kostakondral düğümçükler, B: konstipasyon, C: sarkık karın.

Figure 1. The ventro-dorsal radiography of the abdomen in Rickets cat; A: costochondral nodes, B: constipation, C: Drooping abdomen.

Şekil 2. Raşitizmalı bir kedinin ventro-dorsal radiografisi; A: pelviste daralma "X" formu, B: inceliş korteks, C: medullar kanal genişlemiş, D: tibiada angulasyon.

Figure 2. The ventro-dorsal radiography of a cat with rickets; A: narrowing in the pelvis "X" form, B: thinned cortex, C: medullar channel enlarged D: angulation in tibia.

Şekil 3. Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmli bir kedinin ventro-dorsal radiografisi; A: kostakondral düğümçükler B: femurda angulasyon.

Figure 3. The ventro-dorsal radiography of a cat with nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm; A: costochondral nodes, B: angulation in femur.

Şekil 4. Hipertrofik osteopatili bir kedinin ventro-dorsal radiografisi; A: kostakondral düğümçük, B: diyafizde radioopasite artışı.

Figure 4. The ventro-dorsal radiography of a cat with hypertrophic osteopathy; A: costochondral nodes, B: radioopacity increase in diaphysis.

Yapılan biyokimyasal muayeneler sonucu 32 adet sağlıklı Van Kedisinin 3, 6, 9 ve 12 aylık Ca, P, Mg ve ALP değerlerinin istatistiki olarak verileri Tablo 5'te gösterilmiştir.

Tablo 1. Metabolik kemik hastalıklarında klinik bulguların dağılımı

Table 1. Distribution of clinical findings in metabolic bone diseases

Klinik Bulgular	Raşitizma n:3	H. Osteopati n:2	N.S.H n:3	Toplam n:8
Durgunluk	3	2	3	8
İştahsızlık	3	2	3	8
Karın sarkık	2	-	-	3
Anüs bölgesinde katı dışkı	2	-	-	2
Yürüme güçlüğü	3	2	3	8
Topallık	3	2	3	8
Amudiyet bozukluğu	2	1	1	4
Konstipasyon	2	1	-	3
Tırnak kırılması	2	-	-	2
Kemiklerde yumuşaklık	2	1	2	5
Kemiklerde basınca duyarlılık	2	1	1	4
Skapulanın ceviz kabuğu yapısı	2	-	-	2
Kostakondral düğümçükler	2	1	1	2

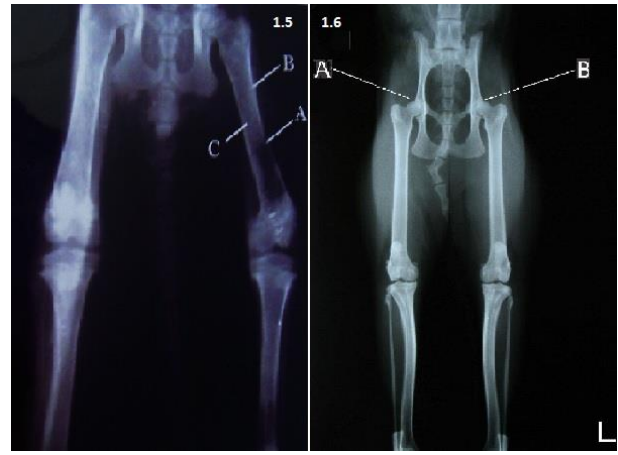
Tablo 2. Metabolik kemik hastalıklarında radyolojik bulguların dağılımı.

Table 2. Distribution of radiological findings in metabolic bone diseases.

Radyolojik Bulgular	Raşitizma n:3	H. Osteopati n:2	N.S.H n:2
Yetersiz ossifikasyon	2	1	-
Korteks kalınlığında azalma	3	2	3
Epifiz-metafiz aralığında artış	1	1	-
Metafizlerde çukurlaşma	1	-	-
Metafizde kalsifiye çizgiler	1	-	-
Diyafizde radioopasite azlığı	2	1	1
Medullar kanalda genişleme	3	2	3
Kostakondral düğümçükler	2	1	1
Skapulanın ceviz kabuğu görünümü	2	-	-
Pelviste daralma	2	-	-
Kemiklerde angulasyon	3	2	2
Patolojik kırık	2	-	1

Tablo 3. Kalça displazisi olgularının Norberg-Olsson skalasına göre değerlendirilmesi.**Table 3.** Evaluation of hip dysplasia according to Norberg-Olsson scale.

Olgu no	Yaş (ay)	Cinsiyet	Norberg açısı	
			Sol	Sağ
1	12	Erkek	94	100
2	12	Erkek	102	100
3	12	Erkek	102	100
4	12	Dişi	95	95
5	12	Erkek	100	95
6	12	Dişi	95	-
7	12	Dişi	90	95
8	12	Erkek	100	95

**Şekil 5.** Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmi bir kedinin ventro-dorsal radiografisi; A: yaş ağaç kırığı, B: incelmış korteks, C: medullar kanal genişlemiştir.**Figure 5.** The ventro-dorsal radiography of a cat with nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm; A: wet tree fracture, B: thinned cortex, C: the medullar channel is enlarged.**Şekil 6.** Kalça displazili bir kedide pelvisin ventro-dorsal radiografisi; A, B: femurun asetabulumla uyumu tam değil.**Figure 6.** Ventro-dorsal radiography of a pelvis with a hip dysplasia; A, B: Femur not compatible with acetabulum.**Tablo 4.** Metabolik kemik hastalıklarında biyokimyasal kan parametreleri.**Table 4.** Biochemical blood parameters in metabolic bone diseases.

Metabolik kemik Hastalıkları	n (adet)	Yaş (ay)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	Mg (mg/dl)	ALP (U/L)	Ca/P
	1	3	8.2	3.3	2.02	198	2.5
Raşitizma	1	6	8.6	3	2.54	216	2.9
	1	12	10.5	4.4	2.21	186	2.4
Hipertrofik Osteopati	1	3	10.4	8.4	2.01	349	1.2
	1	6	11.3	8.3	2.49	171	1.4
Nutrisyonel Sekonder Hiperparatroidizm	1	3	10.1	8.5	2.38	370	1.2
	1	3	5.9	7.5	2.11	111	0.8
	1	6	9.9	8.6	2.4	138	1.2

Tablo 5. Sağlıklı Van kedilerinin 3, 6, 9 ve 12 aylık dönemdeki biyokimyasal bulguları.**Table 5.** Biochemical findings of healthy Van cats at 3, 6, 9 and 12 months.

Kan parametreleri	n (adet)	$\bar{X} \pm S_x$				Sig.
		3. ay	6. ay	9. ay	12. ay	
Ca	32	10.57±0.16 ^b	9.99±0.11 ^a	10.10±0.19 ^a	9.78±0.13 ^a	**
P	32	6.39±0.31 ^a	6.73±0.26 ^a	6.08±0.22 ^{ab}	5.66±0.18 ^b	*
Mg	32	2.87±0.22 ^a	2.49±0.06 ^b	2.38±0.12 ^b	2.48±0.05 ^b	*
ALP	32	211.50±11.79 ^a	195.40±13.98 ^a	175.89±12.26 ^{ab}	157.17±10.70 ^b	*

Aynı satırda farklı harf (a, b) taşıyan aylar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir. (*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Metabolik kemik hastalıklarından raşitizma ve nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmde pelvis kemiğindeki deformasyonlar ve her iki femurdan gelen itmeler sonucu pelvis kanalının dorso-lumbal görünüşte "X" formu olarak daraldığı ve bu daralmanın konstipasyon, koprostaz ve özellikle dişi hayvanlarda güç doğumlara sebep olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (Arnbjerg 1997; Alkan 1999; Samsar ve Akın 2000). Küçüker (1969), raşitizmalı 45 kedinin 5'inde, Tomsa ve ark. (1999), nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmli 6 kedinin 2'sinde pelvis kanalının daralması belirgin bir "X" formu aldığını saptamışlardır. Sunulan bu çalışmada da raşitizmalı kedilerin 2, nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmli kedilerin 1'inde pelviste daralmaya rastlanırken, hipertrofik osteopatili kedilerde bu bulguya rastlanmamıştır.

Schreiner ve ark (2003), 4 aylık bir kedide tespit ettikleri raşitizma olgusunda Ca düzeyini normalden düşük, P düzeyini ise normal sınırlarda belirlemişlerdir. Sunulan bu çalışmada raşitizma tespit edilen kedilerde serum Ca düzeyleri 8.2-10.5 mg/dl (ortalama 9.1 mg/dl), serum P seviyeleri ise 3.0-4.4 mg/dl (ortalama 3.6 mg/dl) olarak belirlenmiştir. Raşitizma tespit edilen kedilerde Ca düzeyinin normal, P düzeyinin ise düşük olması Schreiner ve ark.'nın (2003) kedilerde yapmış oldukları çalışmalara paralellik arz etmemektedir.

Yapılan bu çalışmada nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm teşhis edilen kedilerin ortalama serum Ca seviyesi 8.6 mg/dl, P seviyesi ise 8.2 mg/dl olarak belirlenmiştir. Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm tespit edilen kedilerde serum Ca ve P seviyeleri Won ve ark.'nın (2004) çalışmalarına benzerlik göstermekte iken, Toyoda ve ark. (2004) çalışmalarına Ca seviyelerini düşük tespit etmeleri bakımından uyum göstermemektedir. Bu durumda kedi evinde ve halkın elinde bulunan kedilerin farklı tipte beslenme şartlarına bağlanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bu çalışmada hipertrofik osteopati teşhis edilen kedilerde serum Ca ve P seviyeleri sırası ile 10.9 mg/dl ve 8.4 mg/dl olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular ilgili araştırmacının (Kul 1996) çalışmasına serum Ca seviyeleri yönünden benzerlik göstermekte, serum fosfor düzeyleri yönünden ise farklılık göstermektedir. Bu durum buzağı ve kedilerin farklı beslenme alışkanlıklarına sahip olması ve çalışmada kullanılan kedilerin yüksek fosfor içeren et ürünleriyle beslenmeleri ile açıklanabilir.

Kalça displazisi köpek ırklarında yaygın olarak görülmekle birlikte Bakır ve ark. (1997), Keller ve ark. (1999) göre kedilerde %25'ler civarında seyreden önemli bir problem olarak rapor edilmektedir. Keller ve ark. (1999) yaptıkları bir çalışmada safkan kedilerin (Siamese, Persians, Himalayans) evde beslenen melez kedilere göre kalça displazisinden daha fazla etkilendiklerini bildirmişlerdir. Kalça displazisi olguları adı geçen araştırmacılar tarafından melez kedilerde %5.8, siyam kedilerinde %7, Persian kedilerinde %15.8 ve Himalayanlarda %25 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ise Van Kedilerinde kalça displazisi %20 oranında tespit edilmiştir.

Radyolojik olarak metabolik kemik hastalıklarında medullar kanalın genişlemesi ve kemik korteks kalınlığının azalması tüm hastalık gruplarında gözlenmiştir. Radyolojik olarak metabolik kemik hastalıklarından raşitizma ve nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmde kemiklerin

opasitesinin azaldığı (Thrall 1998; Alkan 1999), hipertrofik osteopatide ise opasitenin arttığı bildirilmektedir (Lenahan ve Fetter 1985). Bu çalışmada da raşitizma ve nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm belirlenen kedilerin radyolojik muayenesinde kemik opasitesinin azaldığı, hipertrofik osteopatili hayvanlarda ise opasitenin arttığı saptanmıştır.

Yapılan bu çalışmada raşitizma, hipertrofik osteopati ve nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm belirlenen hayvanlarda ortalama 2.3 mg/dl olarak bulunan serum magnezyum düzeyi sağlıklı kediler için belirtilen verilere (Coles 1986; Capen ve Rosol 1989) uygundur. Bu nedenle normal değerlerde bulunan magnezyum sonuçlarının hipokalsemi ve hipomagnezemi ile seyreden raşitizma haricinde metabolik kemik hastalıklarının teşhisinde önemli bir kriter olmayacağı düşünülmüştür.

Raşitik kedilerde serum ALP düzeyleri 3. ayda 198 U/L, 6. ayda 216 U/L, 12. ayda 186 U/L olarak belirlenmiştir. Hipertrofik osteopatili kedilerde 3. ayda serum ALP aktivitesi 349 U/L, 6. ayda ise 171 U/L, olarak belirlenmiştir. Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmli kedilerde ise ALP düzeyi 3. ayda 370 U/L ve 111 U/L olarak, bir kedide ise 6. ayda 138 U/L olarak belirlenmiştir. Bulunan bu sonuçlar raşitizma, hipertrofik osteopati ve nutrisyonel sekonder hiperparatroidizmli kedilerde serum ALP aktivitesinin yükseleceğini bildiren literatürlerle (Coles 1986; Capen ve Rosol 1989; Jones ve Hunt 2001) paralellik arz etmektedir.

Sonuç olarak; metabolik kemik hastalıklarında klinik bulguların birbirine benzerlik göstermeleri nedeniyle bu hastalıkların kesin teşhislerinin konulmasında radyolojik ve biyokimyasal sonuçların önem arz ettiği, bu yüzden metabolik kemik hastalığı gösteren kedilerde klinik bulguların radyolojik ve biyokimyasal muayenelerle desteklenmesi gerektiği, elde edilen bulgular ışığında metabolik kemik hastalıklarının büyük oranda 3-6 aylık dönemlerde görüldüğünden dolayı; büyüme dönemindeki yavru Van Kedilerinin sütten kesilme dönemine kadar yeterli miktarda anne sütü almaları, sütten kesilme döneminden sonra dengeli gıdalarla beslenmelerinin ve gerek görüldüğünde kalsiyum, fosfor ve vitamin D uygulamaları yapılmasının Van Kedilerinde görülebilecek farklı patojeniteye sahip; fakat benzer anamnez ve klinik bulgu gösteren metabolik kemik hastalıklarının önlenmesinde yarar sağlayacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Alkan Z (1999).** Veteriner Radyoloji. Mina Ltd. Ştd. Ankara
- Arnbjerg J (1997).** Bone problems of growing dogs. Dept. Of. Radiology. Royal Vet. University. Copenhagen. Denmark
- Bakır B, Yiğit MF, Belge A, Atasoy N, Alkan İ (1997).** Van kedilerinde kalça eklemi displazisi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 8(1-2): 102-106
- Büyükpamukçu M, Berkin Ş (1985).** Kemik hastalıkları In: Veteriner Patoloji, IV. Cilt 3. Bölüm. A.Ü. Basımevi, Ankara.
- Capen CC, Rosol TJ (1989).** Calcium regulating hormones and diseases of abnormal mineral (Calcium, Phosphorus, Magnesium) metabolism. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Ed. J. J. Kaneko, 4th Ed, Academic Press, Inc, San Diego.
- Coles EH (1986).** Mineral balance and parathyroid function In: Veterinary Clinical Pathology, Chap. 13, 231-240, W.B. Saunders Comp, Philadelphia.
- Jones TC, Hunt RD (2001).** The musculoskeletal system In: Veterinary Pathology, Fifth Edition, Lea & Febiger, Philadelphia.
- Kealy JK, McAllister H (2000).** Bones and joints In: Diagnostik Radiology and Ultrasonography of the Dog and Cat, Third Edition Chapt. 4 W.B. Saunders Company, Philadelphia
- Keller GG, Reed AL, Lattimer JC, Corley EA (1999).** Hip dysplasia: A Feline Population Study. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 40, 4, 460 - 464.

- Kul M (1996).** Konya yöresindeki buzağılarda şekillenen metabolik kemik hastalıklarının teşhisindeBiyokimyasal ve radyolojik kriterlerin önemi, S.Ü. Sağlık Bilimler Enstitüsü Doktora Tezi, Konya.
- Küçükler N (1969).** Kedilerde raşitizmanın klinik-radyolojik teşhisi ve tedavisi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. 245, Ankara.
- Lenehan TM, Fetter AW (1985).** Hypertrophic osteopathy In: Textbook of Small Animal Orthopedics, Ed, C.H. Newton, D.M. Nunamaker, Part VI, Chapt. 51, J.B. Lippincott Comp, Philadelphia.
- McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF (2001).** Thomson's Special Veterinary Pathology 3 th Ed, Mosby Inc, London.
- Samsar E, Akın F (2000).** Genel Cerrahi. Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara.
- Schreiner CA, Nagode LA (2003).** Vitamin D dependent rickets type 2 in a four -month-old cat. *JAVMA*, Vol 222, No. 3, 337-339.
- Thrall DE (1998).** Textbook of Veterinary Diagnostik Radiology. Third Edition. Chap. 13,16. W.B. Saunder Company, Philadelphia.
- Tomsa K, Glaus T, Hauser B, Flückiger M, Arnold P, Wess G, Reusch C (1999).** Nutrisyonel sekonder hiperparatroidizm in six cats. *Journal of Small Animal Practice*, vol 40, (11), 533-539.
- Toyoda T, Ochiai K, Komatsu M, Kimura T and Umemura T (2004).** Nutritional secondary hyperparathyroidism and Osteodystrophia fibrosa in a Hodgson's hawk-eagle (*Spizaetus nipalensis*), *Avian Pathology*, 33 (1), 93/12.
- Watson ADJ (1990).** Diseases of Muscle and Bone In: Canine Orthopedics, Ed. Whittick, W.G. Second Edition. Section V, Chapter 22, Lea & Febiger, Philadelphia.
- Whittick WG (1990).** Canine Orthopedics. 42-47 Lea & Febiger, Philadelphia.
- Wills JM, Simpson KW (1994).** Skelatal disease In: The Waltham Book of Clinical Nutrition of the Dog and Cat, 405-420, Pergamon.
- Won DS, Park C, In YJ and Park HM (2004).** A case of nutritional secondary hyperparathyroidism in a siberian tiger cub, *J Vet Med Sci*, 66 (5), 551-553.



The Some Hematological and Biochemical Parameters In Karakul and Norduz Sheep

Bahat COMBA¹ Handan MERT² Arzu COMBA¹ Leyla MİS³ Nihat MERT²

¹ Hitit University, Alaca Avni Çelik Vocational High School, Department of Veterinary, Çorum, Turkey

² Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Van, Turkey

³ Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Van, Turkey

Received: 26.07.2017

Accepted: 24.10.2017

SUMMARY

In this study was aimed to compare the some hematological and biochemical parameters of Karakul and Norduz sheep breeds healthy, at the same age, care and feeding conditions. Fifteen sheep from each of group, totally 30, were included to the study. It determined the whole hematological parameters such as blood red blood cell count (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), mean red blood cell volume (MCV), mean red blood cell hemoglobin (MCH), mean red blood cell hemoglobin concentration (MCHC), red blood cell distribution density (RDWC), counts of lymphocyte (LYM), monocyte (MON), granulocyte (GRN), percents of lymphocyte (LY), monocyte (MO), granulocyte (GR), platelet count (PLT), platelet count (PCT) MPV, platelet distribution frequency (PDWC) by a blood count device; biochemical parameters such as albumin phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), total protein (TP) albumin (A), globulin (G) total bilirubin (TB) indirect bilirubin, creatine kinase (CK), creatine kinase MB (CK-MB), urea, uric acid (UA), blood urea nitrogen (BUN) and amylase by autoanalyser. HCT ($p<0.001$), MCV ($p<0.001$) and MCH ($p<0.001$), CK ($p<0.05$) and amylase ($p<0.001$) were higher in Karakul sheep, LYM ($p<0.05$), RDWC ($p<0.001$), PLT ($p<0.001$), PCT ($p<0.001$), TP ($p<0.05$) and IB ($p<0.001$) were higher in Norduz sheep. The changes in other parameters were no significant. As a result, differences in some haematological and biochemical parameters of Karakul and Norduz sheep breeds may be breed characteristic of them. We believe that these data may be a reference to the veterinarians in the early diagnosis and treatment, prognosis of diseases of this sheep breeds and to be carried out in the researches on these breeds.

Key Words: Biochemistry, Hematology, Karakul, Norduz, Sheep

ÖZET

Karagül ve Norduz Koyunlarında Bazı Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler

Bu çalışma da aynı yaş, bakım ve besleme şartlarında sağlıklı Karagül ve Norduz koyun ırklarının bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerinin karşılaştırılması amaçlandı. Her bir koyun ırkından 15 adet olmak üzere toplam 30 hayvan çalışmaya dahil edildi. Tam kan alyuvar sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH), ortalama alyuvar hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), alyuvarların dağılım sıklığı (RDWC), alyuvar (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MON), granülosit (GRN) sayıları, lenfosit (LY), monosit (MO), granülosit (GR) yüzdeleri, trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım sıklığı (PDWC) gibi hematolojik parametreleri kan sayım cihazında; serum alkalin fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), alkali fosfataz (ALP), gamma-glutamil transpeptidaz (GGT), total protein (TP) albümin (A), globulin (G) total bilirubin (TB) indirekt bilirubin (İB), kreatin, kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz MB (CK-MB), üre, ürik asit (UA), kan üre azotu (BUN) ve amilaz biyokimyasal parametreleri oto analizörde belirlendi. HCT ($p<0.001$), MCV ($p<0.001$) ve MCH ($p<0.001$), CK ($p<0.05$) ve amilaz ($p<0.001$) Karagül koyun ırkında; LYM ($p<0.05$), RDWC ($p<0.001$), PLT ($p<0.001$), PCT ($p<0.001$), TP ($p<0.05$) ve IB ($p<0.001$) ise Norduz koyun ırkında daha yüksekti. Diğer parametrelerdeki değişimler önemsizdi. Sonuç olarak, Karagül ve Norduz koyun ırklarına ait bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki farklılıklar ırklara ait bir özellik olabilir. Elde edilen verilerin özellikle Veteriner Hekimlere, bu koyun ırklarına ait hastalıkların erken tanısında ve tedavisinde, prognozunda ve de bu ırklar ile ilgili yapılacak araştırmalarda referans olabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Biyokimya, Hematoloji, Karagül, Koyun, Norduz

GİRİŞ

Koyun yetiştiriciliği, düşük kaliteli meraların değerlendirilmesi, gıda, giyim ve deri gibi hayvansal ürünleri işleyen sanayi dallarına hammadde sağlaması nedeni ile ülke ekonomisi açısından oldukça değerlidir. Türkiye’de en son yapılan genel küçükbaş hayvan sayımı sonuçlarına göre 2016 yılı itibarıyla 30.983.33 adet koyun bulunmaktadır. Türkiye’de yıllık et üretiminin % 6.35’i ve süt üretiminin % 13.10’u koyunlardan elde edilmektedir (Anonim, 2016).

Karagül koyunu adını Türkmenistan’daki Karakul ile Özbekistan’daki Karagöl şehirden alır, anavatanı Hazar Denizi boyunca uzanan Amuderya Irmağı Vadisidir (Akçapınar, 2000). Kurak bölge şartlarına uyum gösterir ve kıraç alanları değerlendirirler (Öncü, 1970). Baş orta büyüklükte, boyun kısa ve kalın, bacaklar ise normal uzunluktadır. Vücut yapısı küçük, sırt ve sağrı hemen hemen eşit yükseklikte olup düz bir hat oluşturur. Yapağısı karışık olmakla beraber genelde rengi siyahtır. Kahverengi, gri ve beyaz olanlarına da rastlanılır. Kuyruk yapısı iki bölümden oluşur. Üst kısım dolgun yağlı, alt kısım ise S yaparak uzar ve yağsızdır (Anonim, 2017).

Norduz koyunu adını Van’ ın Gürpınar İlçesi Norduz Bölgesi’ nden alır ve Akkaraman ırkının bir çeşididir (Bingöl, 1998; Kırk, 2002). Vücutları genel olarak beyaz, çoğunlukla kül rengi, az miktarda gri-beyaz ve kahverengi-beyaz renklerde olabilir. Yapağlarının muhtelif yerlerinde özellikle baş, göğüs ve ayak kısımlarındaki siyah lekeler karakteristiktir. Sürününün geneli yüksek bacaklı, koçların ise tamamı boynuzludur. Kuyrukları üç kısımdan oluşur, ortadaki parça en uzundur (Ocak ve ark., 2009).

Biyokimyasal ve hematolojik parametreler, rutin olarak kullanılan laboratuvar yöntemlerindedir. Bu parametreler, hayvanların genel durumu, bazı hastalıkların teşhisi, prognozu hakkında klinisyen hekimlere önemli faydalar sağlar.

Kan parametreleri hayvan türleri arasında farklılık gösterdiği gibi ırk, yaş, cinsiyet, yetiştirildikleri bölgeler arasında ve beslenme şekillerine göre de farklılık gösterir (Nisbet ve ark., 2006; Turgut, 2000). Bu nedenle, her hayvan türünde hematolojik ve biyokimyasal kan değerlerinin doğru yorumlanabilmesi için spesifik referans aralıklarının belirlenmesi gereklidir (Meyer ve Harvey, 2004). Bununla birlikte, koyunlarda, ırk özelliklerinin belirlenmesi çalışmalarında biyokimyasal ve hematolojik parametrelerden yararlanılır (Mert ve ark., 2003). Bu nedenlerden dolayı hayvan türleri ve ırklarına ait kan parametrelerinin referans değerlerinin bilinmesi, hayvan hastalıklarının teşhis ve tedavisinde büyük önem arz eder.

Yapılan literatür taramalarında, yavru ve erişkin koyun ırkları arasındaki hematolojik ve biyokimyasal farklılık birçok araştırmacı tarafından yapılmıştır (Yiğit ve ark., 2002; Şimşek ve ark., 2015). Fakat Van ilinde yetiştirilen, erişkin Karagül ve Norduz koyun ırklarına ait biyokimyasal ve hematolojik değerlerin ortaya konulduğu çalışma sayısı oldukça azdır.

Bu nedenle bu çalışma da sağlıklı erişkin Karagül ve Norduz koyun ırklarına ait alyuvar sayısı (RBC), hemoglobin (HGB), hematokrit (HCT), ortalama alyuvar hacmi (MCV), ortalama alyuvar hemoglobini (MCH), ortalama alyuvar hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), alyuvarların dağılım sıklığı (RDWC), akyuvar (WBC), lenfosit (LYM), monosit (MON), granülosit (GRN) sayıları, lenfosit (LY), monosit (MO), granülosit (GR) yüzdeleri, trombosit sayısı (PLT), trombosit yüzdesi (PCT), ortalama

trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım sıklığı (PDWC) gibi hematolojik parametreler ile alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), Alkali fosfataz (ALP), Gamma-Glutamil transpeptidaz (GGT), total protein (TP) albümin (A), Globulin (G) total bilirubin (TB) indirekt bilirubin (İB), Kreatin, kreatin kinaz (CK), kreatin kinaz MB (CK-MB), Üre, Ürik asit (UA), Kan üre azotu (BUN) ve Amilaz gibi biyokimyasal parametrelerin referans değerlerinin ortaya konulması, parametrelerindeki farklılıkların saptanması ve nedenlerinin belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan grupları

Bu çalışmanın materyalini; Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde yetiştirilen, aynı bakım ve besleme şartlarına sahip, erişkin, gebe olmayan, sağlıklı, Karagül ve Norduz koyun ırkları oluşturdu. Her bir koyun ırkından 15’er adet olmak üzere toplam 30 koyun çalışmada kullanıldı.

Kan örnekleri

Koyunlardan usulüne uygun olarak, vena jugularislerinden alınan kanlar EDTA’lı mor kapaklı hemogram tüplerine ve antikoagülsüz sarı kapaklı biyokimya tüplerine ve aktarıldı. Numunelerin soğuk zincir şartlarına uyularak laboratuvara ulaşması sağlandı. Hematolojik parametrelere aynı gün bakıldı. Biyokimya tüplerinde pıhtılaşma gerçekleşikten sonra, +4 °C, 3000 RPM’ de 10 dk. santrifüj edilip, serumları çıkarıldı. Çıkarılan serumlar eppendorf tüplerine koyuldu ve -20 °C’ de saklandı. En kısa sürede serumda biyokimyasal parametreler çalışıldı.

Analizler

Hematolojik parametrelerin analizinde Abacus junior Vet 5 (Avusturya) otomatik kan sayım cihazı kullanıldı ve hücrelerin sayımı koyun modunda gerçekleştirildi. Biyokimyasal parametreler, Modular PP (Roche) oto analizöründe Cobas marka kitler kullanılarak ölçüldü.

İstatistik analiz

Üzerinde çalışılan her bir parametre bakımından bağımsız iki grup ortalamaları arasındaki farkın önemliliğini test etmek için T-Testi kullanıldı. Veriler, aritmetik ortalama±standart sapma ($X \pm SX$), minimum ve maksimum değer olarak verildi. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi % 5 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanıldı

BULGULAR

Karagül ve Norduz koyun ırklarına ait hematolojik parametrelerin minimum, maksimum ve ortalama değerleri ve istatistiksel sonuçları Tablo 1’de verildi.

Karagül ve Norduz koyun ırklarına ait biyokimyasal parametrelerin minimum, maksimum ve ortalama değerleri ve istatistiksel sonuçları Tablo 2’de verildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Hekimlikte, klinik bulguları tamamlayan ve destekleyerek güçlendiren incelemeler arasında biyokimyasal ve hematolojik analizler vazgeçilmezdir. Laboratuvar metodları ile elde edilen sonuçlar, hastalığın erken tanısı, etiyojisi, patogenezi, uygulanan sağaltımın kontrolü hakkında hekime önemli bilgiler sağlar (Altıntaş ve Fidancı 1993). Ayrıca ırklara ait laboratuvar referans aralıklarının belirlenmediği için genellikle o tür hayvanların genel

referans aralıkları kullanılır. Hâlbuki ki, en faydalı uygulama, o ırkı temsil edecek referans değerlerinin bilinmesidir.

Tablo 1. Karagül ve Norduz koyun ırklarındaki RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDWC, WBC, LYM, MON, GRN, LY, MO, GR, PLT, PCT, MPV, PDWC parametrelerin ortalama, standart sapmaları, minimum ve maksimum değerleri

Table 1. The mean, standard deviations, minimum and maximum values of the RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDWC, WBC, LYM, MON, GRN, LY, MO, GR, PLT, PCT, MPV and PDWC parameters in Karakul and Norduz sheep breeds.

Parametreler	Karagül n=15	Norduz n=15	P
RBC (10 ¹² /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 10.11±0.77 Min. 9.39 Max. 11.53	$\bar{X} \pm Sx$ 10.52±1.22 8.78 12.44	>0.05
HGB (g/dl)	$\bar{X} \pm Sx$ 10.30±0.43 Min. 9.7 Max. 11	$\bar{X} \pm Sx$ 9.80±1.31 8 12.4	>0.05
HCT (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 28.30±1.06 Min. 26.65 Max. 29.88	$\bar{X} \pm Sx$ 26.40±2.78 22.73 32.08	<0.001
MCV (fl)	$\bar{X} \pm Sx$ 28.00±2.17 Min. 25 Max. 30	$\bar{X} \pm Sx$ 25.27±1.28 23 27	<0.001
MCH (pg)	$\bar{X} \pm Sx$ 10.20±0.37 Min. 9.5 Max. 10.5	$\bar{X} \pm Sx$ 9.26±0.36 8.8 10	<0.001
MCHC (g/dl)	$\bar{X} \pm Sx$ 36.42±1.97 Min. 34.5 Max. 38.9	$\bar{X} \pm Sx$ 37.01±1.42 35.3 39.1	>0.05
RDWC (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 21.88±1.00 Min. 20.7 Max. 23.2	$\bar{X} \pm Sx$ 23.44±1.34 22.2 25.6	<0.001
WBC (10 ⁹ /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 12.77±5.82 Min. 7.6 Max. 22.9	$\bar{X} \pm Sx$ 12.23±2.38 10.1 17.0	>0.05
LYM (10 ⁹ /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 5.46±0.98 Min. 4.08 Max. 6.71	$\bar{X} \pm Sx$ 7.18±1.87 5.65 11.32	<0.05
MON (10 ⁹ /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.06±0.02 Min. 0.04 Max. 0.11	$\bar{X} \pm Sx$ 0.06±0.02 0.05 0.13	>0.05
GRN (10 ⁹ /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 7.14±5.06 Min. 3.29 Max. 16.52	$\bar{X} \pm Sx$ 6.42±4.04 3.17 15.51	>0.05
LY (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 47.69±11.20 Min. 27.5 Max. 59.4	$\bar{X} \pm Sx$ 55.25±10.61 42 71	>0.05
MO (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.50±0.00 Min. 0.5 Max. 0.5	$\bar{X} \pm Sx$ 0.50±0.00 0.5 0.5	>0.05
GR (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 51.70±5.06 Min. 40.1 Max. 72	$\bar{X} \pm Sx$ 44.24±4.04 28.5 57.5	>0.05
PLT (10 ⁹ /l)	$\bar{X} \pm Sx$ 246.80±96.36 Min. 131 Max. 357	$\bar{X} \pm Sx$ 388.00±117.81 205 607	<0.001
PCT (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.12±0.06 Min. 0.04±0.01 Max. 0.18±0.05	$\bar{X} \pm Sx$ 0.20±0.06 0.10±0.03 0.32±0.09	<0.001
MPV (fl)	$\bar{X} \pm Sx$ 5.12±0.36 Min. 4.5 Max. 5.5	$\bar{X} \pm Sx$ 5.24±0.36 4.7 5.7	>0.05
PDWC (%)	$\bar{X} \pm Sx$ 28.72±2.93 Min. 24.3 Max. 32.2	$\bar{X} \pm Sx$ 29.97±3.69 22.3 32.2	>0.05

Tablo 2. Karagül ve Norduz koyun ırklarındaki ALP, AST, ALT, GGT, TP, A, G, TB, İB, kreatinin, CK, CK-MB, üre, UA, BUN ve amilaz ın ortalamaları, standart sapmaları, minimum ve maksimum değerleri

Table 2. ALP, ALT, GGT, TP, A, G, TB, IB, creatinine, CK, CK-MB, urea, UA, BUN and amylase in standard deviation, minimum and maximum values of Karakul and Norduz sheep breeds.

Parametreler	Karagül n=15	Norduz n=15	P
ALP (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 385.20±65.51 Min. 283 Max. 457	$\bar{X} \pm Sx$ 314.87±143.25 113 559	>0.05
AST (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 133.80±12.41 Min. 120 Max. 155	$\bar{X} \pm Sx$ 132.80±14.17 111 160	>0.05
ALT (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 23.60±5.09 Min. 15 Max. 30	$\bar{X} \pm Sx$ 24.00±4.56 14 30	>0.05
GGT (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 52.18±10.77 Min. 35.10 Max. 85.20	$\bar{X} \pm Sx$ 50.52±9.10 44.30 85.20	>0.05
TP (g/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 7.55±0.24 Min. 7.22 Max. 7.84	$\bar{X} \pm Sx$ 7.93±0.54 7.14 9.05	<0.05
G (g/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 4.04±0.12 Min. 3.90 Max. 4.20	$\bar{X} \pm Sx$ 4.26±0.53 3.50 5.30	>0.05
A (g/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 3.53±0.24 Min. 3.25 Max. 3.85	$\bar{X} \pm Sx$ 3.67±0.17 3.25 3.78	>0.05
TB (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.06±0.02 Min. 0.02 Max. 0.10	$\bar{X} \pm Sx$ 0.08±0.03 0.02 0.14	>0.05
İ.B. (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.04±0.03 Min. 0.01 Max. 0.07	$\bar{X} \pm Sx$ 0.06±0.02 0.00 0.11	<0.001
Kreatinin (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.59±0.10 Min. 0.46 Max. 0.74	$\bar{X} \pm Sx$ 0.66±0.19 0.52 1.13	>0.05
CK (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 245.60±105.37 Min. 169 Max. 444	$\bar{X} \pm Sx$ 163.13±24.63 125 202	<0.05
CK-MB (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 231.20±33.81 Min. 191 Max. 272	$\bar{X} \pm Sx$ 209.60±50.25 137 289	>0.05
Urea (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 32.04±4.81 Min. 24.00 Max. 37.20	$\bar{X} \pm Sx$ 34.58±6.33 24.70 47.00	>0.05
UA (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 0.05±0.02 Min. 0.02 Max. 0.10	$\bar{X} \pm Sx$ 0.05±0.04 0.00 0.26	>0.05
BUN (mg/dL)	$\bar{X} \pm Sx$ 14.80±2.30 Min. 11 Max. 17	$\bar{X} \pm Sx$ 16.13±2.90 12 22	>0.05
AMİLAZ (U/L)	$\bar{X} \pm Sx$ 51.60±18.79 Min. 18 Max. 89	$\bar{X} \pm Sx$ 19.57±11.96 8 47	<0.001

Kanın şekilli elemanlarının çoğunluğunu alyuvarlar oluşturur ve içlerinde buldukları HGB sayesinde kana kırmızı rengini verirler, kan gazlarının taşınmasında görev alırlar. HCT, kanın şekilli elemanlarının tam kana oranı olarak tanımlanır. MCV, MCH, MCHC değerleri; RBC, HCT ve HGB değerlerinin alt parametreleridir ve klinik olarak aneminin teşhisi ve sınıflandırılmasında belirleyici laboratuvar parametreleridir.

Gökçe ve Kızıltepe (2013) 1-3 yaşlarında sağlıklı Morkaraman ırkı koyunlarında yaptıkları çalışmadaki RBC değeri mevcut çalışmadakinden düşük, Hct değerleri yüksek, Hb değerleri yakın olarak bildirilmiştir. Karagül ırkı koyunlarında yapılan bir çalışmada (Belge ve ark., 1997) RBC ($9.20 \times 10^6 / \text{mm}^3$), HGB (10.64 g/dl), HCT (31.67 %) değerlerini mevcut çalışmadaki değerlere yakın olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca Baumgarthner Perthaner, (1994) ün çalışmaları mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. Yine, Avcı ve ark., (2008) erişkin Akkaraman ve Merinos koyunlarında HGB, HCT değerleri ile Şimşek ve Ark. (2015) erişkin Hasak ve Hasmer koyun ırklarında RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC parametrelerinin bildirilen referans değerlere yakın olduğu belirlendi. Ancak mevcut çalışmada Karagül ırkında HCT, MCV, MCH değerlerinin Norduz ırkından yüksek ($p < 0.001$) olduğu tespit edildi.

Akyuvarlar vücudun savunma sisteminde görev alan kan hücreleridir. Gökçe ve Kızıltepe (2013) WBC, Granülosit değerleri, mevcut çalışmadaki değerden düşük, Monosit değerleri yüksek, Lenfosit sayısı yakın bulundu. Belge ve ark., (1997)' nın WBC ($6.11 \times 10^3 / \text{mm}^3$), % nötrofil (34.40) % eozinofil (6.60) % bazofil (0.10) % lenfosit (54.40) % monosit (4.20) değerleri; Baumgarthner Perthaner, (1994) ve Şimşek ve ark., (2015) çalışmalarındaki WBC, LYM, MON, GR değerleri mevcut çalışmayı destekler niteliktedir. Ancak bu çalışmada Karagül ırkında LYM değerinin Norduz ırkından düşük ($P < 0,05$) olduğu tespit edildi. Yine LY, GR yüzdeleri literatürde bildirilen gebe olmayan dişi Akkaraman koyunlarındaki değerlere yakın seyrederken, % MO değerleri literatürdeki (Altınsoat, 2001) değerden 4 kat düşük bulundu.

Trombositler, kanın pıhtılaşmasında görev alan şekilli elemanlardır. Mevcut çalışmada Norduz koyunundaki PLT değeri Karagül koyunundakinden daha yüksek olarak bulundu ($p < 0.001$) ve Sağlıklı Erişkin Akkaraman koyunlarında bildirilen değerlere (Tufan ve Aslan, 2009) yakındı.

Karaciğerin fizyopatolojisinde, AST, ALT, ALP, GGT, CPK, bilirubin ve albümin, globülin protein testleri önemli parametrelerdir. Daha önce farklı koyun ırklarında yapılan çalışmalarda AST, ALT (Şimşek ve ark., 2015) ve ALP enzim aktivitelerinin ve albumin (Nisbet ve ark., 2006) in mevcut çalışmadaki koyun ırklarına göre düşük olduğu; total bilirubin düzeylerinin ise yüksek (Altınsoat 2001; Nisbet ve ark.' nın 2006) ve düşük (Özyurtlu ve ark., 2007) olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte; farklı koyun ırklarındaki TP, A, Globülin değerleri (Altınsoat 2001; Özyurtlu ve ark., 2007; Avcı ve ark., 2008; Gökçe ve Kızıltepe 2013; Şimşek ve ark, 2015) ve GGT düzeyi (Şimşek ve ark., 2015) literatür ile uyumludur.

Üre, ürik asit, BUN, kreatinin böbrek fonksiyonları hakkında hekime bilgi veren önemli belirteçlerdir. İlaveten amilaz, pankreas ve tükürük bezlerinden salınıp, esas olarak böbrekler aracılığı ile uzaklaştırılır. Koyunlardaki kreatinin değerlerini mevcut çalışmadan düşük (Nisbet ve ark. 2006), yüksek (Şimşek ve ark, 2015) ve yakın (Altınsoat, 2001) bildiren çalışmalar bulunmaktadır. CK enzim aktivitesinin bu çalışmada bildirilen değerlerden düşük; ürik asit ve amilaz düzeylerinin ise yüksek olduğu bildirilmiştir (Nisbet ve ark. 2006). Bununla birlikte üre (Altınsoat 2001; Şimşek ve ark, 2015) ve BUN değerleri (Nisbetve ark.' nın 2006) literatürde bildirilen değerler ile uyumludur.

Literatürler ışığında aynı tür ve farklı ırk hayvanlar arasında hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin

sonuçları farklılık göstermektedir. Bunun nedenleri arasında genotip kadar yaş, fizyolojik durum, beslenme, mevsimler gibi fenotipik etkiler ve analizlerde farklı laboratuvar yöntemlerinin kullanılması yer almaktadır.

Sunulan bu çalışma ile tam kan HCT, MCV ve MCH değerleri ile serum CK ve amilaz enzim aktivitelerinin Karagül koyun ırkında; tam kan LYM, RDWC, PLT ve PCT ile serum TP ve IB ise Norduz koyun ırkında istatistiksel önemde daha yüksek olduğu belirlendi. Bu parametrelerdeki farklılığın nedeninin ırklara ait bir özellik olabileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, mevcut çalışma ile erişkin Karagül ve Norduz koyun ırklarının biyokimyasal ve hematolojik parametreleri karşılaştırılarak bu parametrelerin min. ve max. ortalama referans değerleri verildi. Sunulan bu verilerin, bu koyun ırklarına ait hastalıkların erken tanısında ve tedavisinde, prognozunda ve de bu ırklar ile ilgili yapılacak araştırmalarda referans olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Anonim, (2016).** Genel Tarım Sayımı. T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara.
- Anonim, (2017).** <http://morfikirler.com/karagul-koyunu-ozellikleri-ve-karagul-koyunu-yetistirme>. Erişim tarihi:16.05.2017.
- Akçapınar H, (2000).** Koyun Yetiştiriciliği. Yenilenmiş 2. Baskı, İsmat Matbaacılık, Ankara.
- Altınsoat Ç, (2001).** Akkaraman koyunlarda B12 vitamini ve folik asit düzeyleri ile bazı hematolojik ve biyokimyasal değerler arasındaki ilişki. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 48, 141- 145.
- Altıntaş A, Fidancı UR, (1993).** Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 40, 173-186.
- Avcı G, Küçükkurt İ, Fidan F, Eryavuz A, Aslan R, Dündar Y, (2008).** Nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda vitamin C ve ksilazin uygulamasının kortizol ve lipid peroksidasyon ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi, *F.Ü. Sağ. Bil. Derg*, 22 (3), 147 152
- Baumgarthner W., Perthaner A (1994).** Influence of age, season and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep, *Small ruminant research* 13, 2147-151.
- Belge F, Yur F, Bildik A, Değer Y, Dede S, (1997).** Karagül koyunlarında bazı kan parametrelerinin araştırılması. *YYÜ Vet Fak Derg*. 8 (1-2) 43-46
- Bingöl M, (1998).** Norduz koyunlarının döl ve süt verimleri ile büyüme-gelişme ve dış yapı özellikleri. Yüzcüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van.
- Gökçe G, Kızıltepe Ş, (2013).** Alterations in haematological and biochemical parameters in morkaraman sheep with natural psoroptes ovis infestation . *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 19 (6): 975-978.
- Kırk K, (2002).** Van İli Hayvansal Üretim Raporu, TC. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı, 82-89, Ankara.
- Mert N, Gündüz H, Akgündüz V, Akgündüz M, (2003).** Merinos melezi koyunlarda bazı biyokimyasal kan parametreleri ile verim arasındaki ilişkiler. III- glikoz, alkali fosfataz, seruloplazmin. *Turk J Vet Anim Sci*, 27, 583-588.
- Meyer DJ, Harvey JW, (2004).** Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis, 3rd ed., 5. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Nisbet C, Yarım Gf, Çiftçi G, (2006).** Sağlıklı Karayaka ırkı koyunlara ait bazı serum biyokimyasal değerleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 53, 57-59.
- Ocak E, Bingöl M, Gökdal Ö (2009).** Van yöresinde yetiştirilen norduz koyunlarının süt bileşimi ve süt verim özellikleri. *YYÜ Tar Bil Derg*, 19 (2), 85-89.
- Öncü C, (1970).** Sovyet Sosyalist Cumhuriyetleri Birliğinde Karagül koyunu yetiştirilmesi ve Astragan imali. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları: 412, Yardımcı ders kitabı:139, Ankara Üniversitesi
- Özyurtlu N, Gürgöze S, Bademküran S, Şimşek A, Çelik R, (2007).** İvesi koyunlarda doğum öncesi ve sonrası dönemdeki bazı biyokimyasal parametreler ve mineral madde düzeylerinin araştırılması. *FÜ Sağ Bil Derg*, 21, 33-36
- Şimşek Ö, Karashaşın T, Güner B, Dursun Ş, (2015).** Hasak ve hasmer melezi koyun ırklarına ait bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler. *Ata Üni Vet. Bil. Derg*. 10 (1), 27-32.
- Tufan E, Aslan Ö (2009).** Doğal akut babesiosisli koyunlarda bazı kan parametrelerinin belirlenmesi. *Sağ Bil Derg*, 18(1) 33-37.
- Turgut K, (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Bahçıvan Basım, Konya.
- Yiğit AA, Kısa Ü, Arıkan Ş, Akçapınar H, Taşdemir U, (2002).** Sakız x Karayaka melezi G1 koyunlarının kan parametreleri üzerine cinsiyet ve yaşın etkisi. *SÜ Vet Fak Derg*, 17, 59-63.



An Investigation on the Presence of *Salmonella* spp. in Raw Cow Milk and Urfa Cheese Sample

Hisamettin DURMAZ¹ Mustafa ARDIÇ²

¹Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene & Technology, Şanlıurfa, Turkey

²Aksaray University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Aksaray, Turkey

Received: 26.07.2017

Accepted: 06.11.2017

SUMMARY

Urfa cheese, a traditional white-brined Turkish cheese, is a special product belonging to Şanlıurfa and consumed both Şanlıurfa and other provinces of Turkey. In this study, the presence of *Salmonella* spp. was investigated in a total of 250 raw cow milk and 250 Urfa cheese samples sold in Şanlıurfa (Turkey). The method recommended by the International Standard Office (ISO) was used in the isolation of *Salmonella* spp. As a result, it was concluded that Urfa cheese and raw milk samples were not contaminated with *Salmonella* spp. and all cheese and milk samples examined in this study are suitable to Turkish Food Codex.

Key Words: Urfa cheese, Raw cow milk, *Salmonella*

ÖZET

Çiğ İnek Sütlerinde ve Urfa Peynirlerinde *Salmonella* spp. Varlığının Araştırılması

Urfa peyniri, Şanlıurfa ve Türkiye'nin diğer illerinde tüketilen Şanlıurfa'ya özgü geleneksel bir salamura beyaz peynir çeşididir. Bu çalışmada, Şanlıurfa'da satışa sunulan 250 adet çiğ inek sütü örneği ile 250 adet urfa peynir örneğinde *Salmonella* spp. varlığı araştırılmıştır. *Salmonella* spp. izolasyonunda Uluslararası Standart Ofisi'nin (International Standart Office/ISO) önerdiği metot kullanılmıştır. Sonuç olarak, incelenen peynir ve çiğ süt örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* spp. tespit edilememiş olup, örneklerinin tamamının *Salmonella* spp. yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Urfa peyniri, Çiğ inek sütü, *Salmonella*

GİRİŞ

Türkiye'de beyaz, kaşar, tulum Mihaliç peyniri, Çerkez peyniri, Örgü peyniri, Dil peyniri, Abaza peyniri, Erzurum Civil peyniri, Van Otlı peyniri, Şavak peyniri ve Urfa peyniri gibi mandıra ve küçük aile işletmelerinde üretilen birçok yöresel peynir çeşidi bulunmaktadır (DPT 1995; Tekinşen 2000; DPT 2001). Bu peynirlerin her biri kendine ait mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal niteliklere sahiptir.

Urfa peyniri, Şanlıurfa ve çevresinde üretilmekte olup çoğunlukla koyun ve keçi sütü kullanılmaktadır. Bu peynir çeşidi genellikle hijyenik olmayan koşullarda ve çiğ süt kullanılarak üretilmekte olup olgunlaşma periyodu tamamlanmadan tüketime sunulmaktadır. Bölgede hayvan hastalıklarının yaygın olması, yaz mevsiminin sıcak geçmesi, hijyenik olmayan ahır ve sağım şartları nedeniyle peynir üretiminde kullanılacak sütlerin mikrobiyolojik kalitesi olumsuz etkilenmektedir. Ayrıca peynir üretiminde çiğ süt kullanılması, hijyen kurallarına uyulmaması ve peynirlerin olgunlaştırılmadan taze olarak satışa sunulması insan sağlığını olumsuz etkilemektedir (Akin ve Şahan 1998; Şahan ve ark. 1998).

Urfa peynirinin standardizasyonuna yönelik olarak bu

peynirin kimyasal, duyuşal ve mikrobiyolojik durumunu tespit etmek amacıyla çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (Şahan ve ark. 1998; Atasoy 1999; Özer ve ark. 2000; Ardiç 2003; Yetişmeyen ve Yıldız 2003). Ancak Urfa peynirinde insan sağlığı açısından risk oluşturabilecek patojen mikroorganizmaların varlığı ve dağılımı üzerine yapılan çalışmalar oldukça azdır (Bingöl ve Toğay 2017).

İnsanlarda kontamine hayvansal gıda tüketimine bağlı olarak meydana gelen *Salmonella* infeksiyonlarının önemli sağlık problemlerine, tedavi masraflarına ve işgücü kaybına neden olduğu rapor edilmiştir (Gareis 1995). Bu bağlamda kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sonucunda Salmonellozis salgınlarına yol açtığı (Knox ve ark. 1963; Price ve Carter 1967) ve bu patojenin peynirlerin olgunlaşma periyodu boyunca gelişme göstererek *Salmonella* gıda zehirlenmelerine neden olabileceği belirtilmiştir (Medina ve ark. 1982). Bu bakteri ile ilgili sağlık problemlerinin ortadan kaldırılması amacıyla gelişmiş ülkeler, özellikle hayvansal gıdalarda *Salmonella*'ların varlığını düzenli olarak belirlemede, epidemiyolojik çalışmalara ışık tutacak veri tabanı oluşturmakta ve *Salmonella* kontaminasyonunun ve

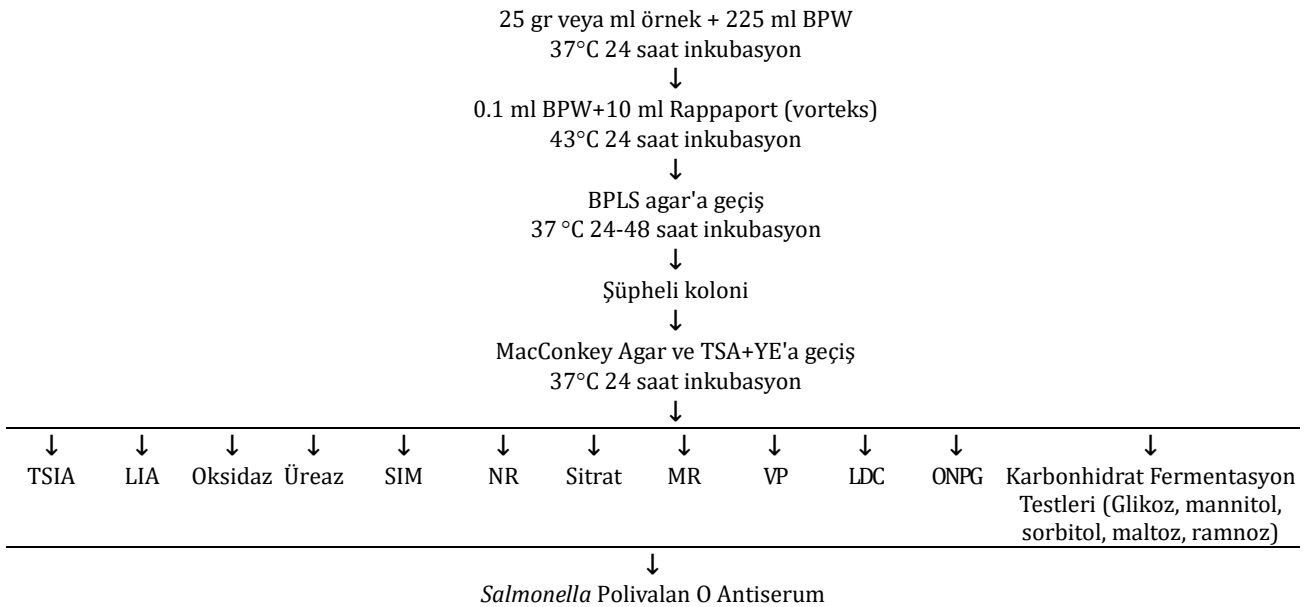
infeksiyonunun kontrol altına alınması yönünde önlemleri sıklaştırmaktadırlar.

Türkiye’de yapılan birçok çalışmada, çiğ süt ve peynirlerin hijyenik kalitesinin iyi olmadığı, fekal bulaşmanın bulunduğu ve patojen bakteriler açısından da risk oluşturabileceği tespit edilmiştir (Yalçın 1987; Nizamlioğlu ve ark. 1989; Patır ve ark. 1995; Gülmez ve ark. 2001; Gülmez ve Güven 2001; Diler ve Baran 2014). Yapılan literatür taramasında Türkiye’de, özellikle Şanlıurfa’da yaygın olarak üretilen ve tüketilen Urfa peynirinde *Salmonella* varlığı üzerinde yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu araştırma, *Salmonella* spp.’nin Urfa peynirlerindeki kontaminasyonu ve halk sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığını tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada, Şanlıurfa’da satışa sunulan toplam 250 adet çiğ inek sütü ve 250 adet peynir örneği materyal olarak kullanıldı. Örnekler aseptik şartlarda özel termoslu kaplara alınıp, soğuk zincir altında laboratuvara getirildikten hemen sonra *Salmonella* yönünden analiz edildi.

Salmonella izolasyonu: Her bir süt örneğinden 25 ml, peynir örneklerinden ise 25 gr stomacher torbalarına alınarak 225 ml Tamponlanmış Peptonlu su (BPW, Oxoid CM509) ile stomacherde 1 dakika süre ile homojenize edildikten sonra ön zenginleştirme amacıyla 37°C’de 24 saat inkube edildi. İnkubasyon sonunda ön zenginleştirme sıvısından 0.1 ml alınarak 10 ml Rappaport-Vasiliadis Broth’a (RapV, Oxoid CM866) ekim yapıldı ve 43°C’de 24 saat inkube edilmek suretiyle selektif zenginleştirme yapıldı. Selektif zenginleştirme buyyonlarından Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose Agar’a (BPLS, Merck 7237) öze ile ekim yapılarak plaklar 37°C’de 24-48 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrası BPLS agar’da üreyen laktoz negatif pembe, pembe-kırmızı renkli, kenarları düzgün ve opak kolonilerden 5 tipik koloni alınıp MacConkey Agar’da (Oxoid, CM7) ve daha sonrada Tryptone Soya Agar (TSA, Oxoid CM131)+Yeast Extract (YE, Oxoid L21)’da saflaştırılıp üretildikten sonra biyokimyasal testlere geçildi (Şekil 1). Biyokimyasal reaksiyonu pozitif veya şüpheli olan örnekler *Salmonella* polivalan O antiserumu ile test edildi (Anonim, 2002).



Şekil 1. *Salmonella* spp. izolasyon şeması

BULGULAR

İncelenen çiğ inek süt örneklerinin hiçbirinde *Salmonella* spp.’ye rastlanmamıştır. Analizi yapılan 250 adet peynir örneklerinde de *Salmonella* türleri belirlenememiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Süt ve peynir örneklerinde *Salmonella* spp. analiz sonuçları

Table 1. *Salmonella* spp. analysis results in milk and cheese samples

Örnekler	Analize alınan örnek sayısı	Rap-V’de üreyen örnek sayısı	BPLS agar’da şüpheli koloni sayısı	İdentifikasyon sonuçları	Antiserumda aglütinasyon	Sonuç
Çiğ süt	250	247	27	Negatif	Negatif	Negatif
Peynir	250	235	19	Negatif	Negatif	Negatif

TARTIŞMA ve SONUÇ

Türkiye’de mikrobiyolojik açıdan düşük kalitede sütün kullanılması, standart bir üretim teknolojisinin olmaması, süt ve süt ürünlerinin uygun olmayan şartlarda depolanması ve pazarlanması büyük ekonomik kayıplara neden olmakta ve insan sağlığı yönünden potansiyel bir tehlike arz etmektedir (Tekinşen ve Çelik 1983). İnsanlarda görülen hastalıkların çoğunun kontamine gıdalardan kaynaklandığı ve bu hastalıkların özellikle bebek ve yaşlılarda ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (Dirksen ve Flagg 1988; Scallan ve ark. 2011; Ito ve ark. 2015). Birçok ülkede yapılan araştırma sonuçları gıda kaynaklı zehirlenme ve hastalıkların %90-99’unun mikroorganizmalar tarafından oluşturulduğunu göstermektedir (Topal 1996; Tuçel 1998; Ayhan 2000). *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* spp., *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* gibi bakteri türleri gıda kaynaklı zehirlenme ve hastalıklara yol açan başlıca mikroorganizmalardır (Kalafatoğlu 1995). *Salmonella* cinsinin 2000’den fazla serotipi tespit edilmiş olup Türkiye’de şimdye kadar 19 serogruptan 71 serotipin bulunduğu bildirilmiştir. Bunlardan 36 serotipin 20 tanesi yalnız insandan, 16’sı ise insandan başka diğer kaynaklardan izole edilmiştir (Aksoycan 1972; Batı 1990; Ustaçelebi 1999). Amerika Birleşik Devletleri’nde 1994 yılında *Salmonella* türlerinin neden olduğu hastalıkların, en sık rapor edilen 10 mikroorganizma kaynaklı hastalık arasında yer aldığı bildirilmiştir (Levinson ve Jawetz 1997).

Peynirlerden kaynaklanan *Salmonella* enfeksiyonlarının oldukça yaygın olduğu yapılan birçok araştırma ile ortaya konulmuştur (Maguire ve ark. 1992; Ellis ve ark. 1998; Cody ve ark. 1999). Türkiye’de *Salmonella* spp. varlığı üzerine yapılan araştırmalarda; Gülmez ve Güven (2001) Beyaz peynir ve Çeçil peynirlerinde, Uğur (2001) ev yapımı peynirlerinde, Aygün ve ark. (2005) Carra peynirinde, Keskin ve ark. (2006) Beyaz peynirde *Salmonella* spp. varlığını tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların bulguları ile bu çalışmada Urfa peynir örneklerinden elde ettiğimiz *Salmonella* spp. sonuçları uyumluluk göstermektedir. Buna karşın, Kahraman ve ark. (2010) Beyaz peynir örneklerinde *Salmonella* spp. oranını %1.9, Tekinşen ve Özdemir (2006) Otlu peynirde %6, Hayaloglu ve Kirbag (2007) küflü peynirde %23.3 ve Önganer ve Kırbag (2009) Çökelek peynirinde %100 olarak tespit etmişlerdir. Peynirlerdeki kontaminasyon oranlarındaki farklılıklar birçok araştırmacının (Akkaya ve Alisharli 2006; Ceylan ve Demirkaya 2007; Öksüztepe ve ark. 2009) bildirdiği gibi satış yerlerindeki sekonder ve çapraz kontaminasyon ile bulaşmış olmalarını akla getirmektedir. Nitekim örneklerin satın alma aşamasında, çoğu yerde farklı peynirlerin aynı aletle alınarak tartıldığı, dolayısıyla çapraz kontaminasyon riskinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yine satışa sunum aşamasında peynirlerin muhafazasına ilişkin herhangi bir önlem (soğutma, üzerini kapama, uygun saklama kaplarında muhafaza etme veya uygun materyallerle ambalajlama gibi) alınmadığı da vurgulanması gereken bir diğer noktadır. Ayrıca çalışma sonuçlarının diğer çalışmalarla arasındaki farklılığın temelinde üretimde kullanılan çiğ yada pastörize süt, üretim koşulları, üretimi yapan personelin hijyenik durumu, muhafaza koşulları, peynir örneklerinin farklı kaynaklardan sağlanması ve üretim tekniklerinin farklı olmasının rol oynayabileceği düşünülmektedir. *Salmonella* spp.’nin gıdalarda bulunma sıklığı açısından mevsimsel

farklılıklarının da önemi büyüktür. Bu çalışmada Urfa peynirlerinde *Salmonella* spp.’nin tespit edilememesinde en önemli faktörün mevsim olduğu düşünülmektedir. Konuyla ilgili olarak ABD’de yaz sezonunda, özellikle ağustos ayında Salmonellozis olgu sayısının en yüksek seviyeye ulaştığını, en düşük olgu sayısının ise şubat ayında görüldüğü bildirilmiştir. Yine Ankara’da etler ile ilgili yapılan bir çalışmada, kıyma örneklerindeki *Salmonella* insidansının Haziran-Eylül aylarında yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Erol ve ark. 1999). Bu bilgiler doğrultusunda, araştırmamızda kullanılan peynir örnekleri, insidansın en düşük olduğu mevsim olan kış aylarında toplanıp incelenmesinden dolayı *Salmonella* türleri tespit edilmemiş olabilir.

Sonuç olarak, *Salmonella* türleri yönünden Şanlıurfa yöresinde satışa sunulan çiğ inek sütü ve Urfa peynir örneklerinin halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı sunucuna varılmıştır. Bununla birlikte peynir, yenmeye hazır bir gıda olduğundan düşük kontaminasyon seviyesi bile tüketici sağlığını riske atabilir. Bu nedenle hijyenik açıdan kaliteli çiğ süt kullanımı, etkili pastörizasyon, hijyenik üretim ve muhafaza şartları gibi yüksek güvenlik standartlarını sağlamak gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Harran Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 650 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Akın MS, Şahan N (1998). Şanlıurfa’da üretilen taze Urfa peynirlerinin kimyasal ve duyuşal özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 282-296, Ankara.
- Akkaya L, Alisharli M (2006). Afyonkarahisar’da tüketime sunulan peynirlerde *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella* spp. varlığının belirlenmesi. *YYU Vet Fak Derg*, 17, 87-91.
- Aksoycan N (1972). Memleketimizde 1972 yılı başlarına kadar tespit edilen *Salmonella* serotipleri ve buldukları yerler. *Mikrobiol Bülte*, 6 (1), 49.
- Anonim (2002). Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Standard, ISO (International Standardization Organization) 6579, Switzerland.
- Ardıç M (2003). Pastörizasyon ve Farklı Haşlama Sıcaklıklarının Urfa Peynirinin Kalitesine Etkisi. Selçuk Üniv Sağlık Bilimleri Enst Doktora Tezi, Konya.
- Atasoy AF (1999). Şanlıurfa İlinde Satışa Sunulan Urfa Peynirlerinin Bazı Kimyasal Özellikleri ve Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Harran Üniv Fen Bil Enst Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa.
- Aygün O, Aslantaş O, Öner S (2005). A survey on the microbiological quality of carra, a traditional Turkish cheese. *J Food Eng*, 66, 401-404.
- Ayhan K (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. 2. Baskı. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara.
- Batı S (1990). Tavuk Yumurtalarının *Salmonella* Yönünden Araştırılması. RSHM Uzmanlık Tezi, Ankara.
- Bingöl KK, Toğay SÖ (2017). Urfa peynirlerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarında enterotoksin üretim potansiyeli ve metisilin dirençliliği. *Akademik Gıda*, 15 (1), 29-35.
- Ceylan ZG, Demirkaya AK (2007). Erzurum piyasasından temin edilen salamura beyaz peynirlerde *Listeria monocytogenes* varlığı ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg*, 3 (2), 137-141.
- Cody SH, Abbott SL, Marfin A, Schulz B, Wagner P, Robbins K, Vugia DJ (1999). Two outbreaks of multidrug-resistant *Salmonella* Serotype Typhimurium DT104 Infections Linked to Raw-Milk Cheese in Northern California. *JAMA*, 281, 1805-1810.
- Diler A, Baran A (2014). Erzurum’un Hınıs ilçesi çevresindeki küçük ölçekli işletme tank sütlerinden alınan çiğ süt örneklerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Alnteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 26 (1), 18-24.
- Dirksen J, Flagg P (1988). Pathogenic organisms in dairy products; cause, effects and control. *Food Science and Technology Today*, 2, 41-43.
- DPT (1995). Süt ve mamulleri, VII. Beş Yıllık Kalkınma Planı Özel İhtisas Komisyonu Raporu. Yayın No DPT 2398- ÖİK 459, Ankara.

- DPT (2001).** Süt ve süt ürünleri. VIII. Beş Yıllık Kalkınma Planı Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu. Yay No DPT 2636-ÖİK 644, Ankara.
- Ellis A, Preston M, Borczyk A, Miller B, Stone P, Hatton B, Chagla A, Hockin J (1998).** A community outbreak of *Salmonella* berta associated with a soft cheese product. *Epidemiol Infect*, 120 (1), 29-35.
- Erol I, Hildebrand G, Kleer J, Yurtyeri A (1999).** Kopplung von immunomagnetischer separation und polymerase-kettenreaktion zum schnellachweis von *Salmonellen* in hackfleisch und geflügelinnereien. *Berl Münch Tierärztl Wschr*, 112 (3), 100-103.
- Gareis M (1995).** Salmonellen-ein überblick. *Fleischwirtsch*, 75, 954-957.
- Gülmez M, Güven A (2001).** Kars ilinde satışa sunulan çeçil (civil) peynirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 7, 63-70.
- Gülmez M, Güven A, Çetinkaya A (2001).** Kars'ta tüketime sunulan taze ve salamura beyaz peynirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 7, 55-62.
- Hayaloglu A, Kirbag S (2007).** Microbial quality and presence of moulds in kuflu cheese. *Int J Food Microbiol*, 115, 376-380.
- Ito M, Shiozaki A, Shimizu M, Saito S (2015).** Hemolytic- uremic syndrome with acute encephalopathy in a pregnant woman infected with epidemic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: characteristic brain images and cytokine profiles. *Int J Infect Dis*, 34, 119-121.
- Kahraman T, Özmen G, Özınan B, Göksoy EO (2010).** Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in different cheese types produced in Turkey. *Brit Food J*, 112 (11), 1230-1236.
- Kalafatoğlu H (1995).** Gıda endüstrisinde mikrobiyal kaynaklı kontaminasyonlar ve önlemleri. *Gıda*, 20 (3), 137-141.
- Keskin Y, Özyaral O, Başkaya R, Susur M (2006).** Semt pazarlarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36, 9-19.
- Knox WA, Calbraith NS, Lewis MJ, Hickie GC, Johnston HH (1963).** A milk-born outbreak of food poisoning due to *Salmonella* Heidelberg. *J Hyg*, 61, 175.
- Levinson W, Jawetz E (1997).** Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmunoloji. Prentice- Hall. Güneş Kitabevi, Ankara.
- Maguire H., Cowden J, Jacob M, Rowe B, Roberts D, Bruce J, Mitchell E (1992).** An outbreak of *Salmonella* Dublin infection in England and Wales associated with a soft unpasteurized cows' milk cheese. *Epidemiol Infect*, 109, 389-396.
- Medina MY, Gaya P, Nunez M (1982).** Behaviour of *Salmonella* during manufacturing and ripening of Manchego cheese. *J Food Prot*, 45 (12), 1091-1095.
- Nizamlioğlu MS, Yalçın S, Tekinşen OC (1989).** Konya ve yöresindeki salamura beyaz peynirin kalitesi. *Tr Vet ve Hay Derg* 13, 136-142.
- Öksüztepe G, Patır B, Dikici A, İlhak Oİ (2009).** Elazığ'da tüketime sunulan vakum paketli taze kaşar peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg*, 23 (2), 89-94.
- Önganer AN, Kırbag S (2009).** Diyarbakır'da taze olarak tüketilen çökelek peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Erciyes Üniv Fen Bil Enst Dergisi*, 25 (1-2), 24-33.
- Özer HB, Atasoy AF, Akın MS (2000).** Pastörizasyon ve haşlama işlemlerinin geleneksel Urfa peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal nitelikleri üzerine etkileri. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Tekirdağ, 517-523.
- Patır B, Arslan A, Güven A (1995).** Şavak salamura beyaz peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Üniv Vet Bil Derg*, 11 (1), 51-56.
- Price J, Carter HR (1967).** An outbreak of gastroenteritis caused by *Salmonella* Indiana. *Public Health Rep*, 82, 551.
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM (2011).** Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. *Emerg Infect Dis*, 17 (1), 7-15.
- Şahan N, Işıl V, Akın MS (1998).** Olgunlaştırılmış Urfa peynirlerinde mikrobiyolojik bir çalışma. Gıda Mühendisliği Kongre ve Sergisi, Gaziantep, 337-346.
- Tekinşen KK, Özdemir Z (2006).** Prevalence of foodborne pathogens in Turkish Van otlı (herb) cheese. *Food Control*, 17, 707-711.
- Tekinşen OC (2000).** Süt Ürünleri Teknolojisi. III. Baskı, Selçuk Üniv Vet Fak Yayın Ünitesi, Konya.
- Tekinşen OC, Çelik C (1983).** Türkiye'de salamura beyaz peynir üretim teknolojisinin başlıca sorunları. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 30 (1), 54-62.
- Topal Ş (1996).** Gıda Güvenliği ve Kalite Yönetim Sistemleri. Tübitak Yayınları, Gebze Kocaeli.
- Tunçel G (1998).** Mikrobiyal Bulaşma Kaynakları In: Gıda Mikrobiyolojisi, Ünlütürk A, Turantaş F (Eds), 1. Baskı. Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Uğur A (2001).** Muğla halk pazarında satışa sunulan ev yapımı peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 10 (40), 3-8.
- Ustaçelebi Ş (1999).** Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, Ankara.
- Yalçın S (1987).** Ankara ve yöresinde tüketime sunulan beyaz peynirlerin mikrobiyal ve kimyasal içerikleri ile duyuşal nitelikleri arasındaki ilişki. *Tr Vet ve Hay Derg*, 11, 189-198.
- Yetişmeyen A, Yıldız F (2003).** Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal niteliklerinin saptanması. *Gıda*, 28 (3), 287-294.



Relationship Between Blood Iron Levels and Some Liver Enzymes and Histology in Hairy Goat Crossbred

Kıvanç IRAK¹ Zelal KARAKOÇ² Handan MERT³ Özgür Yaşar ÇELİK⁴ Gülşah AKGÜL⁴ Nihat MERT³

¹ Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Siirt, Turkey

² Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Siirt, Turkey

³ Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Van, Turkey

⁴ Siirt University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Diseases, Siirt, Turkey

Received: 31.10.2017

Accepted: 29.11.2017

SUMMARY

Iron and protein deficiency in food may be a reason for hyposideremia as well as lack of vitamin C and steatore, due to iron absorption mechanism disorders. Hyposideremia may be detected in hepatic failure, nephrotic syndrome, uremia, exudative enteropathy, congenital atransferrinemia and malignant hypocidemia. In the present study, it was aimed to investigate the effects of blood iron level on some biochemical and haematological parameters and liver histology in Hairy goat crossbred fed with standard feed. On the basis of serum iron levels before slaughtering, blood samples were taken from normal iron level of 10 and low iron level of 17 male hairy goat crossbred from vena jugularis and iron (Fe), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), red blood cells, hemoglobin and hematocrit were analyzed. For histological examination, liver tissue samples were kept in 10% formalin solution from control and experimental group animals during slaughtering. In liver sections; to determine overall status the Crossman's triple, to identify glycogen PAS, to determine ferritin presence the Perl's technique were used. With of the blood analyzes in control and experimental groups Fe levels 210.24 ± 5.13 and 127 ± 4.16 $\mu\text{g/dL}$, ALT activity 31.17 ± 0.38 and 20.71 ± 0.54 U/L, GGT activity 54.03 ± 0.87 and 49.59 ± 2.23 U/L, AST activity was 63.46 ± 2.67 and 69.29 ± 2.04 U/L, red blood cell numbers 8.06 ± 0.64 and 6.50 ± 1.13 ($\times 10^6/\mu\text{l}$), hemoglobin levels 10.95 ± 0.43 and 7.15 ± 0.80 g/dl and hematocrit levels 32.57 ± 3.02 and 30.43 ± 2.04 were found, respectively. On histological investigation in liver tissue in group with iron deficiency; it has been revealed that hepatocytes lost glycogen, ferritin storages decreases, and the structure of remark cords deteriorate. It was concluded that the low level of Fe in Hairy goat crossbred may be due to a possible nutritional insufficiency.

Key Words: Hairy goat, Iron, Serum biochemistry, Hematology, Nutrition

ÖZET

Kıl Keçisi Melezlerinde Kan Demir Düzeyinin Bazı Karaciğer Enzimleri ve Histolojisi İle İlişkisi

Besinlerdeki demir ve protein yetersizliği, steatore ve vitamin C eksikliğinde olduğu gibi demir emilim mekanizmasındaki bozukluklar da hiposideremiye neden olabilir. Karaciğer yetmezliği, nefrotik sendrom, üremi, eksudatif enteropati, doğumsal atransferrinemi ve malignitelerde hiposideremi saptanabilir. Sunulan çalışmada standart yem ile beslenen Kıl Keçisi melezlerinde kan demir düzeyinin bazı biyokimyasal ve hematolojik parametreler ile karaciğer histolojisi üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlandı. Kesim öncesi yapılan serum demir analizlerine göre demir düzeyi normal 10, düşük 17 adet erkek Kıl Keçisi melezlerinin kesim sırasında vena jugularislerinden usulüne uygun olarak kan örnekleri alınıp demir (Fe), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), aspartat aminotransferaz (AST), alyuvar ve hematokrit analizleri yapıldı. Histolojik inceleme için yine kesim sırasında kontrol ve deneme grubu hayvanlardan karaciğer doku örnekleri alınarak %10 formalin solüsyonunda bekletildi. Karaciğere yapılan kesitlerde genel durumu belirlemek için Crossman's triple, glikojeni belirlemek için PAS, ferritin varlığını belirlemek için ise Perl's Tekniği uygulandı. Kan analizlerinin sonuçları kontrol ve deneme grubunda sırasıyla; Fe düzeyi 210.24 ± 5.13 - 127 ± 4.16 $\mu\text{g/dL}$, ALT aktivitesi 31.17 ± 0.38 - 20.71 ± 0.54 U/L, GGT aktivitesi 54.03 ± 0.87 - 49.59 ± 2.23 U/L, AST aktivitesi 63.46 ± 2.67 - 69.29 ± 2.04 U/L, alyuvar sayısı 8.06 ± 0.64 - 6.50 ± 1.13 ($\times 10^6/\mu\text{l}$), hemoglobin düzeyi 10.95 ± 0.43 - 7.15 ± 0.80 g/dl, hematokrit $\%32.57 \pm 3.02$ - 30.43 ± 2.04 olarak tespit edildi. Yapılan histolojik incelemelerde demir eksikliği görülen grupta karaciğerde hepatositlerin glikojeni kaybettiği, depo ferritin azaldığı ve remark kordonlarının yapısının bozulduğu belirlendi. Sonuç olarak, demir düzeyi düşük olan Kıl Keçisi melezlerinde karaciğerin histolojik yapısında önemli değişiklikler olduğu gözlemlendi. Bu grupta görülen demir eksikliğinin olası bir beslenme yetersizliğine bağlı olabileceği kanısına varıldı. Sonuç olarak, Kıl Keçisi melezlerinde Fe düzeyinin düşüklüğünün olası bir beslenme yetersizliğine bağlı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kıl keçisi, Demir, Serum biyokimyası, Biyokimyasal parametre, Hematoloji, Beslenme

GİRİŞ

Esansiyel iz elementlerin en önemlisi olan ve eritrositlerde bol miktarda bulunan demir, yaşamsal önemi olan birçok olayda yer almaktadır. Demir, ferritin ve transferrin yapısının önemli bir bileşeni olmakla birlikte oksijen taşıyan kromoproteinler (miyogloblin ve hemogloblin), sitokrom oksidaz, ksantin oksidaz, peroksidaz ve katalaz gibi önemli enzimlerin de yapısında bulunmaktadır (Belce 2002). Vücuttaki total demir miktarı ortalama 4-5 gramdır ve bunun yaklaşık %65'i hemoglobinde, %4 kadarı miyoglobinde, %1'i de intrasellüler oksidasyonu kolaylaştıran çeşitli hem bileşiklerinde bulunmaktadır. Toplam demir miktarının %0.1'i de kan plazmasında transferrin proteini ile birleşmektedir. Ferritin halinde retikuloendotelial sistem ve karaciğer parankim hücrelerinde depolanan demir miktarı %15 ile %30 kadardır (Guyton ve Hall 2001). Depolanmış haldeki demirin daha küçük miktarı hemosiderin adlı çözünmeyen formdadır. Plazmadaki demir miktarı çok düşük düzeylere indiğinde ferritinden demir oldukça kolay ayrılırken, hemosiderinden ayrılması daha zordur (Özgüner ve ark. 2003).

Eritrositlerde hipokromi ve mikrositoz, serum demirinin ve serum ferritin düzeyinin azalması ve total demir bağlama kapasitesinin artması ile karakterize olan demir eksikliği anemisi durumlarında, intrasellüler demir taşıyıcı molekülün kapasitesi genişler ve eğer diyetinde varsa daha fazla demir emilir; hücre içinde ferritin oluşmaz ve demirin çoğu plazmada artmış olan apotransferrine aktarılır (Ali 2005).

Serum demir düzeyinin normalden düşük olması hiposideremi olarak tanımlanır. Besinlerdeki demir ve protein yetersizliği, steatore ve vitamin C eksikliğinde olduğu gibi demir emilim mekanizmasında ki bozuklukta hiposideremiye neden olabilir. Gebelik, kan kaybının olduğu durumlar, karaciğer yetmezliği, nefrotik sendrom, üremi, eksudatif enteropati, doğumsal atransferrinemi ve malignitelere de hiposideremi tespit edilebilir (Anonim 2016).

Bu çalışmada kıl keçileri için hazırlanmış ticari rasyon ile beslenen Kıl Keçisi melezi keçilerde serum demir düzeyinin bazı kan parametreleri (ALT, GGT, AST, alyuvar, hemoglobin, hematokrit) ve karaciğer histolojisi ile ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışmanın materyalini, Siirt ili merkezine bağlı Kezer bölgesindeki bir küçükbaş hayvan işletmesinde kuru madde de %15.14 ham protein, 2.55 Mcal/kg metabolik enerji, %0.50 fosfor ve %0.97 kalsiyum içerikli ticari rasyon ile beslenmiş Kıl Keçisi melezleri oluşturdu. Besiye alınıp kesime gidecek olan hayvanlardan kesim öncesinde muayene amaçlı vena jugularislerinden usulüne uygun olarak hem antikoagulanlı hem de antikoagulanlı tüplere kan örnekleri alındı. Antikoagulanlı tüplere alınan kan örnekleri pıhtılaştıktan sonra çizilerek 3000 rpm de 10 dak. santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Yapılan analizler sonucunda serum demir düzeyi referans değerlerden (İmik ve ark. 1998; Demir ve ark. 2011; Aşkın 2013) düşük 17 ve serum demir düzeyi referans değerlerde olan 10 adet erkek olmak üzere toplam 27 adet Kıl Keçisi melezinden antikoagulanlı tüplere alınan kan numunelerinde ALT, GGT, AST aktiviteleri, antikoagulanlı tüplere alınan kan örneklerinde ise alyuvar, hemoglobin, hematokrit düzeyleri analiz edildi. Karaciğer dokuları ise histolojik olarak incelendi. Fe, ALT, GGT, AST analizleri

otoanalizörde (SIEMENS ADVIA 1800 Chemistry System) ve hematolojik parametrelerin (alyuvar, hemoglobin, hematokrit) analizi ise tam otomatik kan sayım cihazında (Mindray BC 2800 Vet) gerçekleştirildi.

Histolojik inceleme için kesim sırasında bu hayvanlardan alınan karaciğer dokuları %10 formalin solüsyonunda bekletildi. Yıkama işleminin ardından %70'lik alkol serisinden başlamak suretiyle rutin histolojik tespitleri yapıldı. Parafin bloklara alınan dokulardan Rotary mikrotomunda (Leica RM 2125 RT) 5 mikrometre çapında seri kesitler alındı. Her bir bloktan 3 adet preparat hazırlandı. 1 numaralı preparat genel yapı ve patolojik bir durumun bulunup bulunmadığını belirlemek için Crossman's triple ile boyanarak değerlendirildi. Diğer preparatlara glikojeni belirlemek için PAS, ferritin varlığını belirlemek için ise Perl's boyama tekniği uygulandı. Boyama sonrası preparatlar dijital fotoğraf makinesi ataçmanlı (NIS Element Imaging Software Version 3.0) araştırma mikroskopunda (Nicon-Eclipse 400 DSRI) incelenerek fotoğraflandı (Bancroft ve Cook 1984).

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen hematolojik ve biyokimyasal verilerin istatistiksel analizi, SPSS 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, USA) paket programı ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılık Student's T-Testi kullanılarak karşılaştırıldı. Veriler, aritmetik ortalama±standart hata ($\bar{X} \pm S_x$) olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmede P<0.05 düzeyi önemli olarak kabul edildi.

BULGULAR

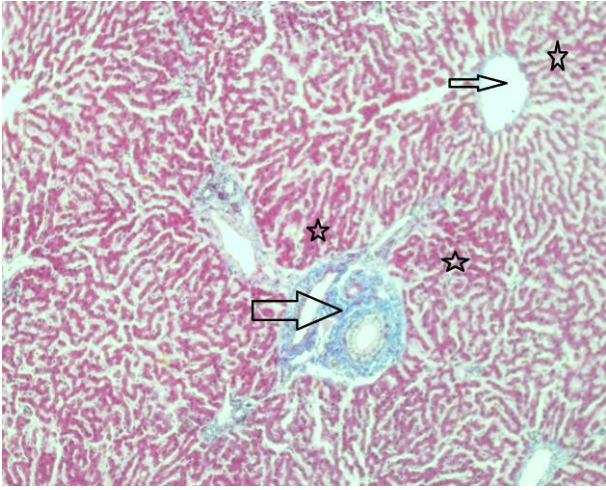
Kıl Keçisi melezlerinden alınan kan örneklerinde Fe seviyesi, ALT, GGT, AST aktiviteleri ile alyuvar, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri Tablo 1'de verildi. Kan analizlerinin sonuçları kontrol ve deneme grubunda sırasıyla; Fe düzeyi 210.24±5.13-127±4.16 µg/dL, ALT aktivitesi 31.17±0.38-20.71±0.54 U/L, GGT aktivitesi 54.03±0.87-49.59±2.23 U/L, AST aktivitesi 63.46±2.67-69.29±2.04 U/L, alyuvar sayısı 8.06±0.64-6.50±1.13 (x10⁶/µl), hemoglobin düzeyi 10.95±0.43-7.15±0.80 g/dl, hematokrit % 32.57±3.02-30.43±2.04 olarak tespit edildi.

Tablo 1. Kıl Keçisi melezlerine ait bazı biyokimyasal parametreler

Table 1. Some biochemical parameters of hairy goat crossbred

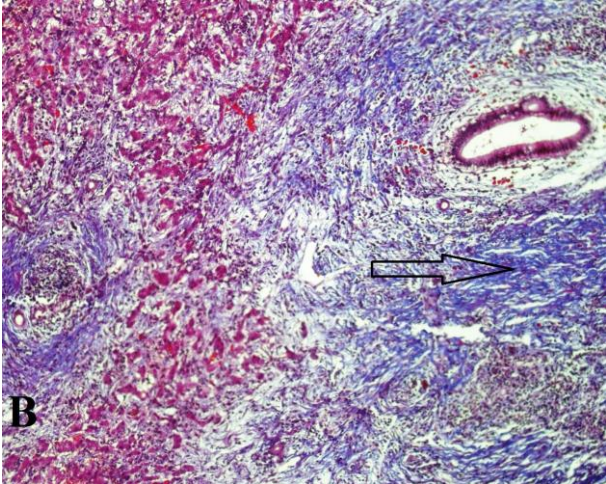
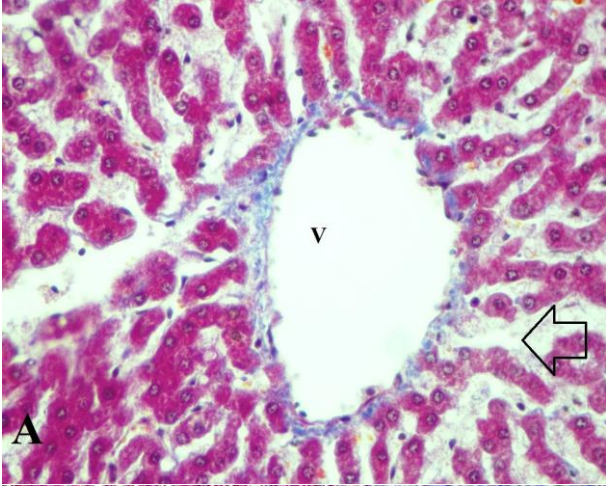
Parametreler	Kontrol (n=10) $\bar{X} \pm S_x$	Deneme (n=17) $\bar{X} \pm S_x$	P
Fe (µg/dL)	210.24±5.13	127±4.16	0.01
ALT (U/L)	31.17±0.38	20.71±0.54	0.05
GGT (U/L)	54.03±0.87	49.59±2.23	0.47
AST (U/L)	63.46±2.67	69.29±2.04	0.09
Alyuvar (X10 ⁶ / µl)	8.06±0.64	6.50±1.13	0.01
Hemoglobin (g/dl)	10.95±0.43	7.15±0.80	0.01
Hematokrit (%)	32.57±3.02	25.43±2.04	0.01

Normal karaciğer dokusu, portal alan, vena centralis ve hepatositler Şekil 1'de gösterildi. Karaciğerin genel yapısı değerlendirildiğinde Remark kordonlarının yapısının bozulduğu, kordonlar arasında ayrılmalar olduğu, bazı bölgelerde bağ doku artışının olduğu, vaskulizasyonda artış olduğu gözlemlendi (Şekil 2).



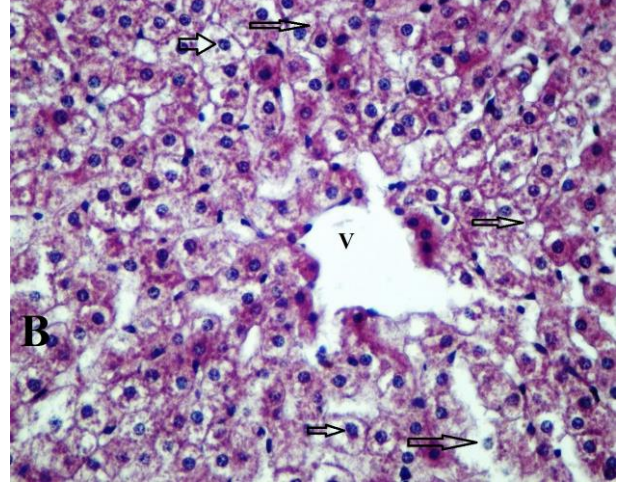
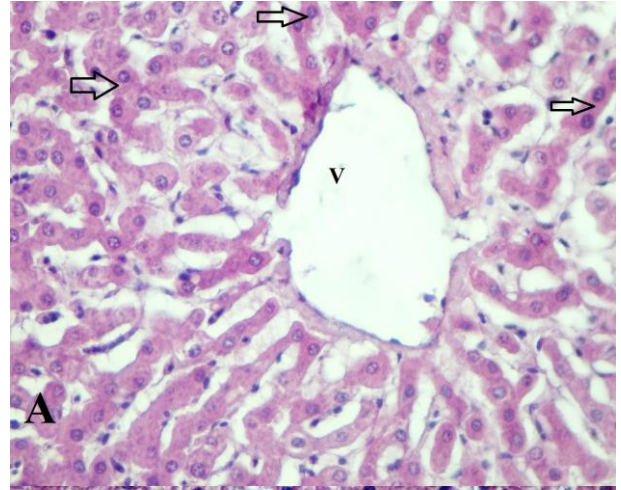
Şekil 1. Normal karaciğer dokusu, portal alan (kalın ok), vena centralis (ince ok), hepatositler (yıldız), (Crossman's triple boyama 10X)

Figure 1. Normal liver tissue, portal area (thick arrow), vena centralis (thin arrow), hepatocytes (star), (Crossman's triple staining 10X)



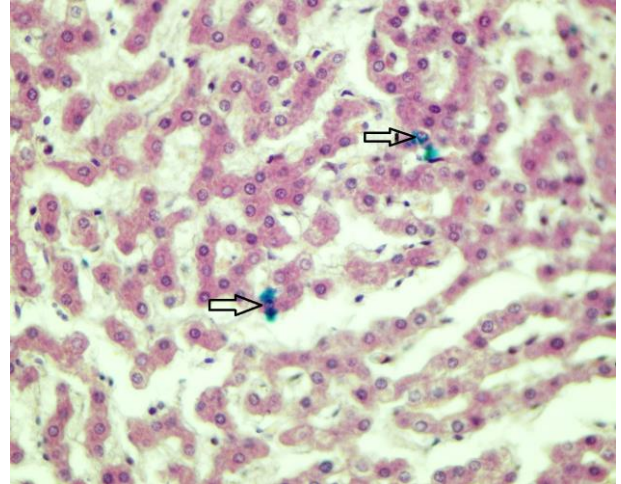
Şekil 2. A: Vena porta (v), kordonlar arasındaki açıklık (ok). **B:** Bağ doku artışı (ok). (Crossman's triple boyama, 40X, 20X).

Figure 2. A: Vena porta (v), opening between the cords (arrow). **B:** Connective tissue growth (arrow). (Crossman's triple staining, 40X, 20X)



Şekil 3. A: vena porta (v), hepatositlerdeki glikojen depoları (oklar), **B:** vena porta (v), glikojenini kaybetmiş hepatositler (PAS boyama, 40X).

Figure 3. A: vena porta (v), glycogen stores (arrows) in hepatocytes, **B:** vena porta (v), hepatocytes that have lost glycogen (PAS staining, 40X).



Şekil 4. Oklar: hepatositlerdeki ferritin (Perl's tekniği, 40X)

Figure 4. Arrows: ferritin in hepatocytes (Perl's technique, 40X)

Karaciğerdeki glikojenin varlığını tespit etmek için uygulanan PAS boyamada, hepatositlerde PAS pozitif reaksiyon olmasına rağmen, tüm doku örneklerinde

glikojenini kaybetmiş hepatositlerin de varlığı dikkati çektir (Şekil 3).

Karaciğerin ferritini kaybettiği, hepatositlerde ferritinin yok denecek kadar az düzeyde olduğu belirlendi (Şekil 4).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Evcil hayvanların sağlık durumunun hekimler tarafından değerlendirilmesinde, klinik bulguları tamamlayan ve onları destekleyen incelemeler arasında hematolojik ve biyokimyasal kan analizleri önemli role sahip olup, hastalığın erken teşhisi, etiyolojisi ve uygulanan tedavinin etkinliği yönünden önemli bilgiler vermektedir (Mert 1996, Karagül ve ark. 2000). Beslenme, stres, ısı, iklim şartları, hastalıklar, kas aktivitesindeki azalma, yaş, cinsiyet ve ırk gibi faktörler kan parametrelerinin değişmesinde etkin rol oynamaktadır (Awah ve Nottidge 1998; Gündüz 2000).

Keçilerde yapılan çalışmalarda Fe düzeyinin araştırıldığı çok az kaynağa rastlanmıştır. Demir ve ark. (2011) tarafından farklı işletme koşullarında yetiştirilen Ankara keçilerinde tiftik kalitesi ve kan serumlarındaki bazı mineral madde düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada farklı üç köyde yetiştirilen keçilerde serum Fe seviyesi sırasıyla 199.82±0.57, 226.5±0.24, 213.26±0.35 µg/dl, sağlıklı Ankara keçilerinin hematolojik ve biyokimyasal parametrelerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada (Aşkın 2013) ise Fe düzeyi 129.87±3.63 µg/dl, Ankara keçilerinde Mart ve Haziran aylarında Fe konsantrasyonunun araştırıldığı başka bir çalışmada ise (İmik ve ark. 1998) ise sırasıyla 2.75±0.26, 1.95±0.19 µg/ml olmak üzere, bu çalışmada tespit edilen Fe düzeyinden (127±4.16 µg/dl) daha yüksek düzeyler saptanmıştır. AL-Dujaily ve AL-Hadithy (2014) tarafından klinik olarak sağlıklı (n=130) ve demir eksikliği anemisi olan (n=72) keçilerde bazı biyokimyasal parametrelerin belirlendiği bir çalışmada enfekte gruptaki hayvanlarda serum Fe, tranferrin saturasyonu ve bakır düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde düşük olarak tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada Kıl Keçisi melezlerinde kontrol ve deneme grubunun serum demir düzeyleri 210.24 ve 127±4.16 µg/dL (P≤ 0.01) olarak tesbit edilmiştir. Demir miktarındaki bu düşüklüğün hepatositlerde ferritin deposunun azalması veya beslenme yetersizliğine bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

Karaciğer, hematopoietik sistem için gerekli olan vitamin ve elementlerin hem metabolizmasında hem de depolanmasında önemli rol oynar. Bu bakımdan bunların eksikliğine bağlı olarak çeşitli anemi tipleriyle karşılaşılabilir. Bu çalışmada karaciğer için spesifik olan enzimlerden ALT ve GGT aktiviteleri kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 31.17±0.38-20.71±0.54 ve 54.087-49.59±2.23 U/L olarak saptanmıştır. ALT değerleri Karagül ve ark. (2000) tarafından belirtilen referans değerler (24-83 U/L) arasındadır. Yapılan histolojik değerlendirmede, hepatositlerde dejenerasyon gibi herhangi bir yapısal bozukluğun tespit edilmemesi de ALT değerinin normal sınırlar içerisinde olduğunu desteklemektedir. Ancak grupların ortalama ALT aktiviteleri karşılaştırıldığında (P≤0.05) düzeyinde önem bulunmuştur. Mevcut çalışmada GGT aktivitesi Kaneko ve ark. (1997) tarafından bildirilen referans aralığında (20-56 IU/L) bulunurken, Aşkın (2003) tarafından belirtilen düzeylere (61.06±2.67 U/L) yakın olarak saptanmıştır. Grupların GGT aktiviteleri arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır (P≥0.05).

Mert (1996) tarafından keçilerde AST düzeyi için referans aralığı 167-513 IU/L olarak bildirilmiştir. AST aktivitesi değerlendirildiğinde sunulan çalışmada elde edilen bulgular (63.46±2.67- 69.29±2.04 U/L) istatistiksel anlamlı bulunmazken (P≥0.05), Mert (1996) ve Aşkın (2013) tarafından bildirilen değerlerden düşük, Njidda ve ark. (2013)'nin bulduğu değerden ise yüksek olarak belirlenmiştir. AST aktivitesindeki artış karaciğerdeki hücre harabiyeti sonucu ortaya çıkmaktadır.

Demir eksikliği anemisinin tanısında klinik bulgulara ek olarak serum demir, alyuvar, akyuvar sayısı, hematokrit yüzdesi, hemoglobin konsantrasyonu, toplam demir bağlama kapasitesi, gibi laboratuvar parametrelerinin değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır (Kaneko 1989). Klinik hekimlikte en çok ihtiyaç duyulan kan muayenelerinden biri de hematokrit değeridir. Hematokrit, alyuvar ve hemoglobin konsantrasyonları genellikle birbirleriyle paralel düzeylerde olsa da klinik olarak hematokrit tercih edilir. Bu muayene sayesinde, kanın korpusküler element/plazma oranı yani kanın sulu veya koyu oluşu, plazmanın rengi normal, ikterik, hemoglobinemik, çöken eritrosit hacmi ve takribi eritrosit sayısı öğrenilmiş olur. Hemoglobin konsantrasyonu, kabaca hematokrit değerinin ortalama 1/3'ü kadardır.

Mide-bağırsak parazitleriyle enfekte gebe Akkaraman ırkı koyunlarda serum demir parametreleri, bakır ve demir eksikliği anemisinin araştırıldığı bir çalışmada enfekte gruptaki hayvanlara ait alyuvar, hemoglobin ve hematokrit düzeyleri sırasıyla 9457±496 (10³ mm³), 7.58±0.41 (g/dl) ve 23.80±0.77 (%), enfekte olmayan grupta ise sırasıyla 12021±693 (10³mm³), 12.27±0.58 (g/dl) ve 28.60±1.4 (%) olarak bildirilmiştir (Kozat ve ark. 2006). Yapılan bu çalışmada Kıl Keçileri'nin deneme grubuna ait kan örneklerinde alyuvar, hemoglobin ve hematokrit seviyeleri sırasıyla 6.50±1.13 (X10⁶/µl), 7.15±0.80 (g/dL) ve 25.43±2.04 (%) olmak üzere düşük olarak tespit edilmesi literatür bulgularınca da desteklenmektedir. Yapılan araştırmada, bu üç parametrede gruplar arası farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p≤ 0.01).

Anumol ve ark. (2012) tarafından koksidiyoz ile enfekte keçilerde bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırıldığı bir çalışmada enfekte gruptaki hayvanlarda hemoglobin ve eritrosit sayılarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu, Fe düzeyi değerlendirildiğinde ise gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı bildirilmiştir.

Goklaney ve ark. (2012) tarafından Hindistan'daki Rajasthan kurak bölgesindeki anemik keçilerde mineral takviyesinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, anemili keçilerin kan hemoglobin, hematokrit, toplam eritrosit, kobalt, demir ve bakır düzeylerinin kontrol grubuna göre düştüğü bildirilmiştir. Aynı çalışmada bakır sülfat, kobalt sülfat, demir sülfat ve mangan sülfat içerikli mineral takviyesi kullanımının keçilerde beslenme anemisinin tedavisinde olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir.

Yetersiz demir alımı (diyetteki fibrillerin az kullanılır olması, fitatlar fosfatlar vb), emilim bozuklukları (bağırsak sindirim bozukluğu, abdominal ameliyatlar) ve kanamalara bağlı kayıplar, demir yetersizliğinin sebeplerindedir. Demir yetersizliği bulunan bireylerde; plazma ferritin düzeyi düşer, plazma transferrin ve toplam demir bağlama kapasitesi yükselir, plazma demir seviyesi düşer ve sonunda buna bağlı olarak anemi gelişir (Karagül, 2000). Mevcut çalışmada demir düzeyinin referans değerlerden düşük olarak belirlenmesi beslenmeye bağlı bir Fe yetersizliği tablosunu akla getirmektedir.

Serum ferritini, vücudun depolanmış demir miktarını yansıtmaktadır. Ferritin, hücre içinde başlıca demir depolayan proteindir. Ferritin analizi ile kanda dolaşan bu proteinin miktarını ölçerek canlının demir depoları hakkında fikir sahibi olunur (Bolaman 2004).

Yapılan histolojik değerlendirmede karaciğerin bazı bölgelerinde bağ doku artışının gözlenmesi, bu bölgedeki hepatositlerin harabiyeti sonucu gerçekleştiğinden karaciğer enzimleri çok belirgin olarak değişmeye de hematolojik bulgulara saptanan değişimler keçilerdeki bir anemik probleme işaret etmektedir.

Demir eksikliği farklı düzeylerde oluşur. En hafif derecesinde demir stoğunun tükenmesi şekillenir. Burada organizmada yeterli miktarda fonksiyonel demir vardır ama fazladan demir deposu bulunmamaktadır. Bu evrede serum demir düzeyi normal ama ferritin düzeyi düşüktür. Demir eksikliği arttıkça demir stoğunun tümü kullanılmış, vücut demir naklini hızlandırmak için daha fazla transferrin üretilmeye başlanmıştır. Serum demiri düzeyi düşerken transferrin ve total demir bağlama kapasitesi miktarı artar. Bu dönemde daha az eritrosit yapılır. Demir eksikliği anemisinde kırmızı kan hücrelerinin sayısı azalır. Hücreler normalden daha soluk ve küçük görünebilirler (Mert 1996).

Vücuda dışardan alınan demir miktarı ile kaybedilen demir miktarı arasında denge vardır. Normal olarak her gün farklı şekillerde ve az miktarda demir kaybolmaktadır. Yani çok düşük miktarlarda demir alındığında bir zaman sonra demir eksikliği gelişecektir. Beslenme yetersizliği bulunmayan sağlıklı canlılarda demir eksikliği ve/veya demir eksikliği anemisinin oluşmasını engelleyecek kadar demir deposu vardır. Belli bazı durumlarda demire gereksinme artmaktadır (Mert 1996; Goklenay ve ark. 2012).

Canlıların demiri uygun biçimde kullanmadığı bazı durumlarda serum demir düzeyleri düşer. Özellikle kronik hastalıklarda, kanserlerde demir uygun biçimde kullanılmadığı için daha fazla eritrosit üretilmemektedir. Sonuçta transferrin üretimi azalması ve bağırsaklardan yeterli miktarda demir emilemediği için serum demiri miktarı azalmakta ferritin düzeyleri ise artmaktadır (Guyton ve Hall 2001).

Sonuç olarak, Kıl Keçisi melezlerinde Fe, hemoglobin ve hematokrit düzeyi düşüklüğünün olası bir beslenme yetersizliğine bağlı olabileceği ve bu durumu karaciğerdeki ferritin deposunun azaldığının belirlenmesinin desteklediği görülmüştür. Ayrıca keçilerde Fe ve Fe düzeyine etki eden parametrelerle ilgili çalışmaların yetersiz olduğu ve konu ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmadaki değerli katkılarından dolayı Dicle Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- AL-Dujaily AH, AL-Hadithy HAH (2014).** Determination of some biochemical parameters in clinically healthy and anemic goats. *Kufa J Vet Med Sci*, 5(2), 168-178.
- Ali R (2005).** Demir Eksikliği Anemisi In: İç hastalıkları, Dolar E (Ed), Nobel Tıp Kitapevleri, 553- 557, İstanbul.
- Anonim (2016).** <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-24.pdf>/Erişim tarihi: 29.11.2016
- Anumol J, Tresamol PV, Vinodkumar K, Saseendranath MR (2012).** Haemato biochemical alterations in goats infected with coccidiosis. *Tamilnadu J Vet & Anim Sci*, 8(3), 63-165.
- Aşkın İ (2013).** Sağlıklı Ankara Keçilerinin Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerinin Değerlendirilmesi. Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale.
- Awah JN, Nottidge HO (1998).** Serum biochemical parameters in clinically healthy dogs in Ibadan. *Tropical Veterinarian*, 16: 123-129.
- Bancroft JD, Cook HC (1984).** Manual of histological techniques. Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York.
- Belce A (2002).** Mineraller In: İnsan Biyokimyası, Onat T, Emerk K, Sözmen EY (Ed), Palme Yayıncılık, 529-531, Ankara.
- Bolaman Z (2004).** Demir Eksikliği Anemisi. VI. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi. 14-18 Eylül, Antalya.
- Demir AÖ, Mert N, Karakuş F, Bingöl M, Kor A (2011).** Farklı işletme koşullarında yetiştirilen Ankara keçilerinde tiftik kalitesi ve kan serumlarındaki bazı mineral madde düzeylerinin araştırılması. 7. Ulusal Zooteknik Bilim Kongresi Bildiri Özetleri, 14-16 Eylül.
- Goklaney D, Singh AP, Dhuria RK, Ahuja A (2012).** Therapeutic evaluation of mineral preparation for amelioration of anaemia in goats of arid zone of Rajasthan. *Iranian J Appl Anim Sci*, 2 (2), 137-141.
- Guyton AC, Hall JE (2001).** Tıbbi Fizyoloji, (Türkçe çev. Ed. Çavuşoğlu H), Nobel Tıp Kitabevi, 387-388, Ankara.
- Gündüz H (2000).** Holştayn ineklerinde bazı biyokimyasal parametrelerin mevsimsel değişimleri. *YYU Vet Fak Derg*, 11, 50-53.
- İmrik H, Gücüs Aİ, Çetinkaya N (1998).** Ankara keçisi rasyonuna mineral madde ve vitamin eklenmesinin canlı ağırlık artışına, tiftiğin verimi, kalitesi ve mineral içeriği ile kan mineral konsantrasyonu üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 83-95.
- Kaneko JJ (1989).** Iron Metabolism and its Disease In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4th ed., Academic Press, 256-273, New York.
- Kaneko J, Harvey JW, Brus ML (1997).** Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Academic Press, P: 932.
- Karagül H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T (2000).** Klinik Biyokimya, 1. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Kozat S, Yüksek N, Göz Y, Keleş İ (2006).** Serum iron, total iron-binding capacity, unbound iron-binding capacity, transferrin saturation, serum copper, and hematological parameters in pregnant akkaraman ewes infected with gastro-intestinal parasites. *Turk J Vet Anim Sci*, 30, 601-604.
- Mert N (1996).** Veteriner Klinik Biyokimya. Ceylan Matbaacılık Ltd., Bursa.
- Njidda AA, Hassan IT and Olatunji EA (2013).** Haematological and biochemical parameters of goats of semi arid environment fed on natural grazing rangeland of northern Nigeria. *J Agric Vet Sci*, 3, 1-8.
- Özgüner M, Akdoğan M, Sulak O, Üngör B, Gökçimen A (2003).** Sıçanlarda demir sorbitol enjeksiyonunun karaciğer histolojisi üzerine etkilerinin biyokimyasal parametrelerle ilişkisi. *SDÜ Tıp Fak Derg*, 10(3), 44-49.





Determination of Mineral Substance and Heavy Metal Levels in Divle Tulum Cheese

Özgür İŞLEYİCİ¹ Yakup Can SANCAK¹ Rabia Mehtap TUNCAY¹ Ufuk Mercan YÜCEL²

¹ Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Van, Turkey

² Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology, Van, Turkey

Received: 24.10.2017

Accepted: 01.12.2017

SUMMARY

This study was carried out in order to determine some mineral substances and heavy metal levels in Divle tulum cheese which is one of the traditional Turkish cheeses. A total of 20 mature cheese samples, which are presented for sale after being produced in the Divle village (Ayrancı-Karaman), were brought to the laboratory in the cold chain with their original packages. Samples were prepared in the microwave sample preparation system (CEM, Mars-5, USA). When Zeeman Atomic Absorption Device (Varian/Spektra AA280Z/Graphite Tube Atomizer, Holland) was used in the determination of lead (Pb), cadmium (Cd) and phosphorus (P), Flame Atomic Absorption Device (Varian/Spektra AA280FS, Holland) was used to detect arsenic (As), mercury (Hg), copper (Cu), iron (Fe), zinc (Zn), calcium (Ca), magnesium (Mg), aluminium (Al), potassium (K), tin (Sn) and nickel (Ni) levels. The mean levels of lead (Pb), cadmium (Cd), arsenic (As), mercury (Hg), copper (Cu), iron (Fe), zinc (Zn), calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg), aluminium (Al), potassium (K), tin (Sn) and nickel (Ni) were 0.026 ± 0.019 (n:11), 0.020 ± 0.013 (n:7), 0.068 ± 0.039 (n:16), 0.009 ± 0.007 (n:8), 0.201 ± 0.129 (n:2), 10.892 ± 3.835 (n:14), 21.699 ± 8.697 (n:16), 6333.96 ± 748.829 (n:20), 4802.260 ± 552.841 (n:20), 203.762 ± 68.485 (n:20), 0.513 ± 0.358 (n:3), 1153.230 ± 176.638 (n:20), 0.061 ± 0.010 (n:10) and 0.167 ± 0.149 (n:7) mg/kg respectively. Mineral substance levels of the samples showed that this cheese was an important dairy product in terms of nutrition. The heavy metal levels in the samples examined did not exceed the limits defined by national and international standards. It is thought that the low level of heavy metal pollution in cheese samples may be due to the low level of heavy metal contamination in the production area. As a result, it has been concluded that the consumption of Divle tulum cheese does not pose a significant risk to public health due to heavy metal pollution and may contribute significantly to human nutrition with mineral substances in its composition.

Key Words: Cheese, Mineral substance, Heavy metals, Spectrophotometer

ÖZET

Divle Tulum Peynirinde Mineral Madde ve Ağır Metal Düzeylerinin Belirlenmesi

Bu çalışma, geleneksel Türk peynirlerinden Divle tulum peynirinde bazı mineral madde ve ağır metal düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Divle köyünde (Ayrancı-Karaman) üretildikten sonra satışa sunulan olgunlaşmış toplam 20 adet örnek orijinal ambalajlarıyla soğuk zincirde laboratuvara getirilmiştir. Örnekler mikrodalga örnek hazırlama sisteminde (CEM, Mars-5, USA) analize hazırlanmıştır. Örneklerde kurşun (Pb), kadmiyum (Cd) ve fosfor (P) düzeylerinin tespitinde Zeeman Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (Varian/Spektra AA280Z/Graphite Tube Atomizer, Holland) kullanılırken, arsenik (As), civa (Hg), bakır (Cu), demir (Fe), çinko (Zn), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), alüminyum (Al), potasyum (K), kalay (Sn) ve nikel (Ni) düzeylerinin tespitinde ise Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre (Varian/Spektra AA280FS, Holland) kullanılmıştır. Yapılan analizlerde tespit limitlerinin üzerinde element içeren örneklerden elde edilen ortalama kurşun (Pb), kadmiyum (Cd), arsenik (As), civa (Hg), bakır (Cu), demir (Fe), çinko (Zn), kalsiyum (Ca), fosfor (P), magnezyum (Mg), alüminyum (Al), potasyum (K), kalay (Sn) ve nikel (Ni) düzeyleri sırasıyla 0.026 ± 0.019 (n:11), 0.020 ± 0.013 (n:7), 0.068 ± 0.039 (n:16), 0.009 ± 0.007 (n:8), 0.201 ± 0.129 (n:2), 10.892 ± 3.835 (n:14), 21.699 ± 8.697 (n:16), 6333.96 ± 748.829 (n:20), 4802.260 ± 552.841 (n:20), 203.762 ± 68.485 (n:20), 0.513 ± 0.358 (n:3), 1153.230 ± 176.638 (n:20), 0.061 ± 0.010 (n:10) ve 0.167 ± 0.149 (n:7) mg/kg olarak belirlenmiştir. Örneklerin mineral madde düzeyleri, bu peynir çeşidinin beslenme açısından önemli bir süt ürünü olduğunu göstermiştir. İncelenen örneklerdeki ağır metal düzeylerinin ulusal ve uluslararası standartlarda verilen limitleri aşmadığı görülmüştür. Peynir örneklerindeki ağır metal kirliliğinin düşük düzeyde olmasının, bu peynirin üretildiği bölgede ağır metal kirliliğinin düşük düzeyde olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak, Divle tulum peynirinin tüketilmesinin ağır metal kirliliği yönünden halk sağlığı için önemli bir tehlike oluşturmadığı ve bileşimindeki mineral maddeler ile beslenmeye önemli katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Peynir, Mineral madde, Ağır metal, Spektrofotometre

GİRİŞ

Divle tulum peyniri Türkiye'nin geleneksel peynir çeşitlerinden birisidir. Üstün aroma ve lezzeti ile son yıllarda ilgi çekmeye başlayan bu peynir çeşidi, üretimi sırasında telemesinin yıkanması ve Divle obruğu adı verilen özel bir mağarada olgunlaştırılmasıyla diğer tulum peynirlerinden ayrılmaktadır. Genellikle koyun ve keçi sütünden üretilen yarısert bir peynir çeşididir (Gönc 1974; Keleş ve Atasever 1996; Morul ve İşleyici 2012).

Koyun ve keçi sütünden elde edilen ürünler; lezzetleri ve doğal görünümleri nedeniyle inek sütü ürünlerine kıyasla daha cazip bir üretim alternatifi oluşturmaktadırlar. Ancak tüketiciler bu ürünlerin hijyenik kalitesi ve besleyici bileşimleri ile ilgili daha fazla bilgiye ihtiyaç duymaktadırlar. Koyun ve keçi sütlerinin kurumadde miktarları ile mineral madde içerikleri, inek sütlerinden daha fazladır. Ağır metal içerikleri göz önüne alındığında; ürünlerin ağır metal konsantrasyonları örneklerin üretiminde kullanılan sütün niteliğine (süt hayvanının türü, beslenme şartları ve yetiştirildiği coğrafi alan, sütün kirlenme düzeyi) ve üretim şekline (üretimde kullanılan ekipman, katkı maddeleri, üretim metodu) göre değişkenlik göstermektedir (Holt ve Jennes 1984; Raynal-Ljutovac ve ark. 2008). Endüstriyel kirlenmeden etkilenen bölgelerde, ağır metaller kolaylıkla bu ürünlere geçerek halk sağlığını tehdit edebilmektedir. İnsan vücudunun normal fonksiyonları için gerekli olan bakır, çinko ve selenyum, güvenli seviyelerin üstünde alındıklarında sağlığa zararlı olabilmektedir. Bu elementlerin hayvanlar tarafından yemlerle alınması, et ve sütlerde birikime neden olmaktadır. Kirlenmiş topraklarda otlatma ve biyolojik birikme sonucu hayvansal kökenli gıdalar yüksek düzeylerde ağır metal içerebilmektedir. Gıda üretiminde kullanılan yeni teknolojiler, ağır metaller ile bulaşma riskini daha da arttırmaktadır (Saei-Dehkordi ve Fallah 2011; Licata ve ark. 2012; Shahbazi ve ark. 2016).

Bu çalışmada Divle tulum peynirinde mineral madde ve ağır metal düzeylerinin belirlenmesi ve belirlenen mineral madde düzeyleri ile besleyici özellikleri ortaya konulurken, içerdiği ağır metal düzeylerinin de halk sağlığını tehdit edici boyutlarda olup olmadığının açığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal: Bu çalışmada olgunlaşmış olarak tüketime sunulan 20 adet Divle tulum peyniri materyal olarak kullanılmıştır. Alınan örnekler laboratuvara getirildikten sonra peynir tulumları açılmış ve dışarı çıkarılan peynir homojen olarak karıştırıldıktan sonra yaklaşık 300 g örnek alınarak nitrik asit ile yıkanmış polietilen kaplara konulmuş ve bu peynirler çalışma örneği olarak kullanılmıştır. Hemen analize alınmayan peynir örnekleri ise -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Metot: Örneklerdeki organik bileşikler yok etmek ve inorganik elementleri çözünür faza geçirmek için teflon kaplara 2 g örnek tartılarak alınmış, alınan örnekler mikrodalga örnek hazırlama sisteminde (CEM, Mars-5, USA) 5 ml HNO₃ ve 2 ml H₂O₂ ile yakılmıştır. Örneklerin yakılmasında 2 dk 400 w, 2 dk 400 w, 6 dk 400 w, 5 dk 400 w, 8 dk 800 w ve 8 dk havalandırma şeklinde bir program uygulanmıştır. Elde edilen içerikler soğutularak deiyonize distile su ile 10 ml'ye seyreltilmiştir (Öztürk ve ark. 2012). Örneklerdeki kurşun, kadmiyum ve fosfor düzeyleri Zeeman Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (Varian/Spektra AA280Z/Graphite Tube Atomizer, Holland) kullanılarak sırasıyla 283.3 nm, 228.8 ve 213.6

nm dalga boyunda ölçülmüştür (Anonymous, 2012). Örneklerdeki arsenik, civa, bakır, demir, çinko, kalsiyum, magnezyum, alüminyum, potasyum, kalay ve nikel düzeylerinin tespiti ise Alevli Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (Varian/Spektra AA280FS, Holland) kullanılarak sırasıyla 193.7, 253.7, 327.4, 372.0, 213.9, 422.7, 285.2, 396.1, 766.5, 284.0 ve 341.5 nm dalga boyunda yapılmıştır (Anonymous 2017). Sulandırma katsayıları göz önünde bulundurularak örneklerdeki mineral madde ve ağır metal düzeyleri hesaplanmıştır.

BULGULAR

Yapılan analizlerde tespit limitlerinin üzerinde element içeren örneklerden elde edilen ortalama Pb, Cd, As, Hg, Cu, Fe, Zn, Ca, P, Mg, Al, K, Sn ve Ni değerleri sırasıyla 0.026±0.019 (n:11), 0.020±0.013 (n:7), 0.068±0.039 (n:16), 0.009±0.007 (n:8), 0.201±0.129 (n:2), 10.892±3.835 (n:14), 21.699±8.697 (n:16), 6333.96±748.83 (n:20), 4802.26±552.84 (n:20), 203.762±68.440 (n:20), 0.513±0.358 (n:3), 1153.230±176.644 (n:20), 0.061±0.010 (n:10) ve 0.167±0.149 (n:7) mg/kg olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Süt ve süt ürünleri insan beslenmesi yönünden önemli olan mineralleri bünyelerinde bulundururken, aynı zamanda içerebilecekleri yüksek toksik metal düzeyleri ile insan sağlığı için önemli riskler oluşturabilirler. Süt ve süt ürünlerinin toksik metal içeriği, çevre koşulları, üretim süreci ve üretim aşamalarında oluşabilecek bulaşmalar gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Anastasio ve ark. 2006; Gul Kazi ve ark. 2009).

Gıda işleme, ambalajlama ve gıdanın elde edilmesinden tüketiciye ulaşmasına kadar olan aşamalarda uygulanan teknolojik işlemler, kurşun ve kadmiyum konsantrasyonlarında önemli artışlara neden olur. Süt ve süt ürünleri genellikle çok düşük miktarlarda Pb ve Cd içerirler. Ancak düşük miktarlarda bile Pb ve Cd içeren süt ürünleri ile sürekli beslenme, bu metallerin insan vücudunda birikmesine ve zararlı olmasına neden olabilir (Cabrera ve ark., 1995).

Bu çalışmada örneklerde belirlenen ortalama kurşun içeriği (0.026±0.019 mg/kg); Mendil (2006) tarafından Erzincan Tulum peynirlerinde (0.63±0.05 µg/g), Anastasio ve ark. (2006) tarafından İtalya'da koyun sütünden yapılmış İtalyan peyniri, taze peynir ve olgun peynirlerde (0.391±0.212, 0.47±0.365 ve 0.58±0.271), Ayar ve ark. (2009) tarafından Orta Anadolu'da tüketilen tulum peynirlerinde (0.610±0.11 mg/kg) ve Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde (0.08±0.01 mg/kg) bulunan değerlerden düşük olarak tespit edilmiştir. Örneklerin 9 tanesinde Pb seviyesi tespit edilebilir miktarın altında bulunmuştur. Öksüztepe ve ark. (2013)'da inceledikleri tulum peyniri örneklerinin tamamında Pb miktarını tespit edilebilir limitlerin altında bulmuşlardır. Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011) tarafından gıda ve gıda takviyelerinde bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı Pb düzeyi 0.02 mg/kg ile 3.0 mg/kg arasında değişmektedir. Örneklerin 5 tanesi 0.02 mg/kg düzeyinin üstünde Pb içerirken, tamamının Pb düzeyi 3.0 mg/kg'ın altındadır. Peynirlerdeki kurşun miktarını; peynir kazeininin kurşuna bağlanma özelliği, kalaylanmış kaplar gibi ambalajlar ve üretimde kullanılan ağır metallerle kirlenmiş tuz gibi katkı maddeleri etkilemektedir. Topraktaki kurşun düzeyi de yem ve sütlerdeki kurşun

içeriğini yükseltebilmektedir (Cabrera ve ark. 1995; Ayar ve ark. 2009). İncelenen örneklerde kurşun miktarının diğer çalışmalarda belirlenen değerlerden düşük çıkması, bu çalışmada analize alınan örneklerin üretildiği bölgede sanayi kuruluşu olmamasına ve taşıt trafiği gibi kurşun

kirliliğine yol açan faktörlerin son derece az olmasına bağlanabilir. Nitekim Karaman ilinde üretilen buğdaylarda da kurşun tespit edilememiş ve bu durum bölgede ağır sanayi kuruluşlarının olmamasına bağlanmıştır (Armutlu 2013).

Tablo 1. Örneklerde tespit edilen ortalama mineral madde ve ağır metal içerikleri (mg/kg)

Table 1. The average mineral content and heavy metal content determined in the samples (mg/kg)

NO	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Fe	Zn	Ca	P	Mg	Al	K	Sn	Ni
1	0.008	0.006	0.018	0.003	0.292	8.230	36.510	6091.54	4505.99	231.855	0.415	669.205	0.040	TEDB
2	0.012	0.011	0.053	TEDB	0.110	8.080	20.950	6635.19	5908.86	275.055	0.910	977.535	0.050	TEDB
3	0.049	0.019	0.066	0.005	TEDB	6.485	24.965	6292.69	4781.00	356.335	0.215	1166.665	0.058	TEDB
4	0.040	0.045	0.063	0.009	TEDB	10.210	9.170	7779.31	3989.57	317.765	TEDB	1238.120	0.060	TEDB
5	0.046	0.012	0.030	0.004	TEDB	14.740	30.370	5962.77	4040.34	204.590	TEDB	1235.925	0.063	TEDB
6	0.060	0.029	0.024	TEDB	TEDB	9.490	21.045	5985.34	4902.08	125.200	TEDB	1273.705	0.068	TEDB
7	0.015	0.022	TEDB	0.008	TEDB	18.075	25.950	5570.17	5205.11	104.495	TEDB	1066.615	0.069	TEDB
8	0.008	TEDB	0.090	0.021	TEDB	11.975	31.410	7618.03	4521.94	185.570	TEDB	1367.220	0.071	TEDB
9	0.012	TEDB	0.048	0.005	TEDB	11.185	14.000	5392.03	5098.20	280.275	TEDB	1276.000	0.065	0.435
10	0.014	TEDB	0.026	TEDB	TEDB	14.110	33.970	5729.15	4117.06	200.360	TEDB	1319.740	0.069	0.180
11	0.024	TEDB	TEDB	0.020	TEDB	12.750	26.805	6334.96	5017.92	122.475	TEDB	962.265	TEDB	0.243
12	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	18.785	5340.19	4963.16	193.110	TEDB	1018.890	TEDB	TEDB
13	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	18.270	7418.28	4522.77	177.490	TEDB	1287.590	TEDB	0.006
14	TEDB	TEDB	0.095	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	5535.81	4270.60	114.680	TEDB	1233.105	TEDB	TEDB
15	TEDB	TEDB	0.131	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	6839.86	4037.35	278.255	TEDB	1321.550	TEDB	0.015
16	TEDB	TEDB	0.052	TEDB	TEDB	TEDB	TEDB	6137.23	4983.62	181.380	TEDB	1288.070	TEDB	0.089
17	TEDB	TEDB	0.156	TEDB	TEDB	4.090	11.665	6617.06	5046.11	209.095	TEDB	1261.425	TEDB	0.204
18	TEDB	TEDB	0.080	TEDB	TEDB	7.945	TEDB	7439.44	5298.61	162.625	TEDB	968.210	TEDB	TEDB
19	TEDB	TEDB	0.057	TEDB	TEDB	15.120	11.190	5876.00	5824.52	177.190	TEDB	1156.910	TEDB	TEDB
20	TEDB	TEDB	0.101	TEDB	TEDB	TEDB	12.125	6084.23	5010.44	175.430	TEDB	975.855	TEDB	TEDB
Ort.	0.026	0.020	0.068	0.009	0.201	10.892	21.699	6333.96	4802.26	203.762	0.513	1153.230	0.061	0.167
St. Hata	0.019	0.013	0.039	0.007	0.129	3.835	8.697	748.83	552.84	68.440	0.358	176.644	0.010	0.149

TEDB: Tespit edilebilir düzeyde bulunmadı.

Örneklerde belirlenen ortalama kadmiyum içeriğinin (0.020 ± 0.013 mg/kg); Anastasio ve ark. (2006) tarafından İtalya'da koyun sütünden yapılmış İtalyan peyniri, taze peynir ve olgun peynirlerde (0.13 ± 0.212 , 0.19 ± 0.114 ve 0.008 ± 0.0005) belirlenen seviyelerle benzer, Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değerden (0.10 ± 0.002 mg/kg) yüksek, Ayar ve ark. (2009) tarafından aynı peynirlerde belirlenen değerden (0.051 ± 0.052 mg/kg) düşük olduğu görülmüştür. Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011)'nde peynirlerde Cd kalıntısı için bir limit verilmemiş ancak etlerde maksimum kalıntı limiti 0.050 mg/kg olarak belirtilmiştir. Örneklerin hiçbirisinde bu limitin üzerinde Cd tespit edilememiştir. Örneklerde belirlenen Cd miktarı ile diğer çalışmalarda belirlenen değerler arasındaki farklılıklar, örneklerin üretildiği bölgenin ve üretimde kullanılan tekniklerin farklılığına bağlanabilir.

Arsenik; kayalardan doğal bozunma, antropojenik aktiviteler, madencilik ve eritme süreçleri, pestisit kullanımı ve kömür yakma yolları ile çevreye yayılır. Yer altı ve yüzey sularının arsenikle kirlenmesi de önemli bir problemdir (Gautam ve ark. 2014). Örneklerde belirlenen ortalama As içeriğinin (0.068 ± 0.039 mg/kg); Ayar ve ark. (2009) tarafından tulum peynirlerinde bulunan değerle (0.070 ± 0.131 mg/kg) benzer, Rezaei ve ark. (2014) tarafından İran'da tüketilen peynirlerde bulunan değerden (4.3 ± 2.1 µg/kg) ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada belirlenen As düzeyinin Ayar ve ark. (2009) tarafından elde edilen sonuçlar ile benzer olması, Arienejad ve ark. (2015)'nin da bildirdikleri gibi arseniğin hava yoluyla, bir gaz olarak veya partikül süspansiyonu halinde taşınması ile ilişkilendirilebilir.

Antropojenik kaynaklar, endüstriyel uygulamalar, madencilik ve maden işleme, kaya, toprak ve hava gibi doğal kaynaklar, yaygın metal kullanımı ve volkanlar önemli civa kaynaklarıdır (Gautam ve ark. 2014). Arienejad ve ark. (2015) geleneksel çiftliklerden elde edilen sütlerde civa konsantrasyonunu endüstriyel bölgelerde bulunan çiftliklerden daha belirgin bir şekilde yüksek olarak tespit etmişlerdir. İncelenen örneklerde belirlenen ortalama Hg düzeyi (0.009 ± 0.007 mg/kg); Anastasio ve ark. (2006) tarafından İtalya'da koyun sütünden yapılmış İtalyan peyniri, taze peynir ve olgun peynirlerde belirlenen değerlerden (0.0017 ± 0.0008 , 0.008 ± 0.0005 ve 0.0014 ± 0.0001 µg/g) yüksek, İstanbulluoğlu ve ark. (2013) tarafından beyaz peynirlerde belirlenen değerden ise (1.4 µg/g, 8.2 µg/g) düşüktür. Çalışmalarda elde edilen değerler arasındaki bu farklılıklar örneklerin alındığı ve üretimin yapıldığı bölgeler ile civa kaynaklarının ve oluşturduğu kontaminasyon düzeylerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Türk Gıda Kodeksi'nde (Anonim 2011)'nde süt ve süt ürünlerinde Hg ile ilgili bir limit verilmemiş, çeşitli türde balık etlerinde Hg için izin verilen maksimum kalıntı limiti $0.50-1.0$ mg/kg olarak belirtilmiştir. Örneklerdeki Hg değerleri verilen bu limitlerin altındadır.

Esansiyel bir iz element olan bakır, fotosentez sırasında bazı enzimlerin aktivasyonu için biyolojik sistemlerde gereklidir. Ancak yüksek konsantrasyonları insan vücudunda tehlikeli etkiler göstermektedir (Gautam ve ark. 2014). Örneklerde belirlenen ortalama Cu içeriğinin (0.201 ± 0.129 mg/kg); Ayar ve ark. (2006) tarafından tulum peynirlerinde (0.33 mg/100 g), Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde (1.06 ± 0.05 mg/kg), Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde (0.33 ± 0.07 mg/kg) ve Kırdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum peynirlerinde belirlenen değerden (0.41 ± 0.21 µg/g) düşük olduğu, Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde belirlenen değerden (0.16 ± 0.01 µg/g) ise yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılıklar ürünlerin üretildiği bölgelerde ve işletmelerdeki bakır kontaminasyon kaynaklarının konsantrasyon farklılıklarına bağlı olabilir. Ayrıca, bu peynirin üretildiği bölgede otoyolların ve endüstriyel kuruluşların hemen hiç olmaması da önemli bir faktördür.

Örneklerde belirlenen ortalama demir içeriği (10.892 ± 3.835 mg/kg); Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değerden (14.18 ± 0.63 mg/kg) düşük, Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde (5.7 ± 0.5 µg/g), Ayar ve ark. (2006) tarafından tulum peynirlerinde (0.71 mg/100 g) ve Kırdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum peynirlerinde belirlenen değerlerden (0.58 ± 0.47 µg/g) yüksek, Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değere (10.46 ± 4.03 mg/kg) ise benzerdir. Peynirlerde demir miktarı için Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011)'nde bir limit verilmemiştir. Ancak Fe için peynirlerde bulunabilecek limit değer Hollanda'da 1 mg/kg ve İsviçre'de 6.50 mg/kg olarak bildirilmiştir (Temurci (Usta) ve Güner 2006). Bu çalışmada tespit edilen ortalama Fe düzeyi bu limitlerden fazladır. Bu durum Divle Tulum peynirinin üretim aşamalarında, özellikle de teleminin yıkanması aşamasında peynirin uzun süre demir kaplarda bekletilmesine bağlı olabilir (Yalçın ve Tekinşen 2010).

Çinko elementi insanların diyetlerindeki esansiyel elementlerden biridir. Çok fazla alındığında çocuklarda bulantı ve kusmaya neden olmakta, yüksek konsantrasyonları insanlarda anemi ve kolesterol problemlerine yol açmaktadır (Gautam ve ark. 2014).

Örneklerde belirlenen ortalama Zn içeriğinin (21.699 ± 8.697 mg/kg); Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde (15.96 ± 1.30 mg/kg), Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde (12.5 ± 1.1 µg/g), Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde (11.56 ± 1.68) ve Kırdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum peynirlerinde belirlenen değerlerden (0.34 ± 0.06 µg/g) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada belirlenen ortalama Zn düzeyinin Arslan ve ark. (1996) tarafından Şavak tulum peynirlerinde bulunduğu değerden (437.0 mg/kg) düşük olduğu görülmektedir. İncelenen örneklerde Zn düzeyinin diğer çalışmalarda araştırılan tulum peynirlerinde tespit edilen değerlerden biraz daha yüksek çıkması, Divle Tulum peynirinin üretimi ve ambalajlanması aşamalarında kullanılan materyallerden muhtemelen çinko bulaşmasının biraz daha fazla olabileceğini düşündürmektedir.

Örneklerde belirlenen ortalama kalsiyum içeriği (6333.96 ± 748.83 mg/kg); Demirci (1988) tarafından tulum peynirlerinde (833 ± 165 mg/100 g), Kılıç ve ark. (2002) tarafından tulum peynirlerinde (747.43 ± 134.06 mg/100 g), Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde bildirilen değerlerden (9920.25 ± 230.33 mg/kg) düşük, Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde (4416 ± 440 µg/g), Ayar ve ark. (2006) tarafından tulum peynirlerinde (918 mg/100 g) ve Kırdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum peynirlerinde belirlenen değerlerden (2499.1 ± 10.6 mg/kg) yüksektir. Maya ile pıhtılaştırılan peynirler, asitle pıhtılaştırılanlara göre daha yüksek kalsiyum içerirler. Peynirde bulunan kalsiyum ve fosfor oranı diğer gıdalardan farklı olarak 1'den fazladır ve bu durum vücudun kalsiyumdan yararlanımını arttırmaktadır (Demirci 1990). Peynirin olgunlaşması sırasında suda çözünen kalsiyum oranı artmaktadır. Bu çalışma sonuçlarına göre incelenen Divle Tulum peynirinin Ca içeriğinin oldukça yüksek olduğu ve buna bağlı olarak insanlar için iyi bir kalsiyum kaynağı olabileceği, ayrıca bu peynirin 100 g tüketilmesi ile günlük kalsiyum ihtiyacının ($400-500$ mg) karşılanabileceği görülmektedir.

Örneklerde belirlenen ortalama fosfor içeriği (4802.26 ± 552.84 mg/kg); Demirci (1988)'nin tulum peynirlerinde (4380.0 mg/kg), Kılıç ve ark. (2002)'nin tulum peynirlerinde (413.10 ± 42.29 mg/100 g), Ayar ve ark. (2006)'nin tulum peynirlerinde (955 mg/100 g) ve Kırdar ve ark. (2015)'nin Kargı tulum peynirlerinde belirledikleri değerlerden (210.1 ± 5.8 mg/kg) yüksek, Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değerden (5016.97 ± 160.68 mg/kg) ise düşüktür. Dıraman ve Demirci (1998)'nin bildirdikleri gibi üretimde kullanılan sütün fosfor miktarı yanında, özellikle sütün mayalanma durumu ve peynirlerin olgunluk dereceleri son ürünün fosfor içeriğini etkilemektedir. Bu çalışmada elde edilen bulgular Divle Tulum peynirinin beslenme açısından iyi bir fosfor kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Süt ve peynirdeki mineral madde içeriği; sütün çeşidine, sağım zamanına, depolama ve ambalajlama şartlarına, laktasyon dönemine, genetik faktörlere, çevresel şartlara ve toprağın içerdiği mineral madde yoğunluğuna göre değişmektedir (González-Martín ve ark. 2011). Örneklerde belirlenen ortalama magnezyum içeriğinin (203.762 ± 68.440 mg/kg); Öksüztepe ve ark. (2013) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değerden (3908.65 ± 520.08 mg/kg) düşük, Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde (101 ± 10 µg/g), Ayar ve ark. (2006) tarafından tulum peynirlerinde (40.11 mg/100 g) ve Kırdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum

peynirlerinde belirlenen değerlerden (88.9±2.2 mg/kg) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özbek ve Akman (2016)'ın; tulum peynirlerinde 0.14±0.02 ile 0.30±0.02 g/kg⁻¹ arasında bildirdikleri Mg düzeyi bu çalışmada elde edilen bulgularla benzerdir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar peynirin üretiminde kullanılan süte, üretimde kullanılan tekniklere, bölgenin çevresel şartlarına ve farklı toprak yapısına bağlanabilir.

Yakın zamana kadar insan sağlığı için tehlikeli olarak kabul edilmeyen alüminyumun yapılan araştırmalar sonucunda fazla miktarlarda alınmasının böbreklerde toksik etkiye sahip olduğu ve Alzheimer hastalığı ile bağlantılı olabileceği bildirilmiştir (Anonymous 2001). Örneklerde belirlenen ortalama Al içeriğinin (0.513±0.358 mg/kg); tulum peynirlerinde Ayar ve ark. (2009) (8.124±3.332 mg/kg) ile Yalçın ve Tekinşen (2010)'in bildirdikleri değerlerden (0.59±0.03 mg/kg) düşük, Öksüztepe ve ark. (2013)'nın bildirdikleri değerden (0.26±0.14 mg/kg) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar, Temurci (Usta) ve Güner (2006)'inde ifade ettikleri gibi çalışmaların yapıldığı bölgenin toprak yapısının Al miktarı ve bölgenin endüstriyel yoğunluğu ile analiz metotlarındaki değişikliklere bağlı olabilir. Ayar ve ark. (2009) inceledikleri tulum peynirlerindeki Al içeriklerini diğer peynir türlerinden daha fazla tespit ettiklerini, bu durumun özellikle Orta Anadolu'da aile işletmelerinde kontrolsüz yapılan üretimden ve peynirlerin alüminyum malzemeden yapılmış yüzeylere temas etmesinden kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Örneklerde belirlenen ortalama potasyum içeriğinin (1153.230±176.644 mg/kg); Kılıç ve ark. (2002) (129.91±23.31 mg/100 g) ile Öksüztepe ve ark. (2013)'nın tulum peynirlerinde belirledikleri değerlerden (1200.40±208.11 mg/kg) düşük olduğu, Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde (362±28 µg/g), Kirdar ve ark. (2015) tarafından Kargı tulum peynirlerinde (526.8±128.0 mg/kg) ve Özbek ve Akman (2016) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen potasyum düzeylerinden (0.12±0.01 ile 0.52±0.05 g/kg⁻¹ arasında) yüksek olduğu görülmüştür. Park (2000), peynirlerdeki potasyum miktarının diğer süt ürünlerinden önemli düzeyde düşük olduğunu ve bunun nedeninin peynir üretimi sırasında potasyumun önemli miktarlarda kayba uğramasından kaynaklandığını ifade etmiştir. Ancak bu araştırmada elde edilen bulgulara göre bütün örneklerde belirlenen potasyum düzeylerinin yüksek miktarlarda olduğu tespit edilmiş ve bu sonuç Divle Tulum peynirinin üretimi sırasında potasyum kaybının çok yüksek olmadığını göstermiştir.

Örneklerde ortalama kalay içeriği 0.061±0.010 mg/kg olarak belirlenmiştir. Öztürk ve ark. (2012) Trakya bölgesi kaşarlarında ortalama kalay miktarını 0.0366 ppm olarak tespit etmişlerdir. Rezaei ve ark. (2014) ise Mısır'da inceledikleri 15 peynir örneğinde Sn miktarını 7.5±4.7 µg/kg olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada elde edilen ortalama Sn değeri, her iki çalışmada bildirilen değerlerden yüksektir. Kalay; civa, kadmiyum ve kurşuna göre göreceli olarak daha az toksiktir. Özellikle teneke gıda ambalajlarından, asidik gıdalara geçerek insanlarda gastrointestinal problemlere yol açabilmektedir. Kalay kaplamaların çözünmesinden kaynaklanan gıdalardaki inorganik kalay içeriklerinin toksikolojik etkileri hakkında yeterli veri yoktur. Avrupa Birliği (AB)'nin 1881/2006 numaralı regülasyonunda (Anonymous 2009) konserve gıdalar başta olmak üzere teneke ambalajlı gıdalarda maksimum kalıntı limiti 50-200 mg/kg olarak verilmiştir. Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011)'nde de kalay için konserve gıdalar, alkolsüz içecekler ve bebek gıdaları için

izin verilen maksimum kalıntı limiti 50-200 mg/kg seviyesindedir. İncelenen örneklerin AB regülasyonu (Anonymous 2009) ve Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011)'nde çeşitli gıdalar için önerilen limitlerden düşük kalay içerdikleri görülmektedir. Diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlardan farklılığın ise; alınan örnek, üretim şekli ve analizde kullanılan metot farklılıklarına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Örneklerde belirlenen ortalama nikel içeriğinin (0.167±0.149 mg/kg); Yalçın ve Tekinşen (2010) tarafından tulum peynirlerinde belirlenen değerden (0.65±0.19 mg/kg) ve Mendil (2006) tarafından Erzincan tulum peynirlerinde belirlenen değerden (0.26±0.02 µg/g) düşük olduğu tespit edilmiştir. Öksüztepe ve ark. (2013), inceledikleri tulum peyniri ve beyaz peynir örneklerinde Ni içeriğinin tespit edilebilir sınırın altında kaldığını bildirmişlerdir. Temurci (Usta) ve Güner (2006), beyaz peynirlerde ortalama Ni miktarını 2.371 mg/kg olarak tespit etmişlerdir. Bu farklılıklar ürünün elde edildiği çevresel ortamlar, hayvanların beslenme şekilleri ile otladıkları meralar, üretimde kullanılan alet ve ekipman, ürünün temas ettiği metal alan, temas süresi ve çalkalanması ile ürünün pH derecesi ve sıcaklığına bağlı olabilmektedir. İnsanlarda nikel nitrat ile zehirlenme için gerekli oral LD₅₀ değeri 1620 mg/kg'dır (Stoewsand ve ark. 1979; Temurci (Usta) ve Güner 2006). Buna göre incelenen Divle tulum peynirlerindeki nikel seviyesinin halk sağlığı için zararlı seviyede olmadığı görülmektedir.

Sonuç olarak, Divle tulum peynirlerinin içerdikleri kalsiyum, magnezyum ve fosfor gibi mineral maddeler ile insanların beslenmesinde günlük diyetlere önemli bir katkı sağlayabilecekleri, içerdikleri toksik ağır metallerin ise tolere edilebilecek sınırlarda olduğu tespit edilmiş ve bu peynirlerin halk sağlığı için bir tehlike oluşturmayacakları kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anastasio A, Caggiano R, Macchiato M, Paolo C, Ragosta M, Pains S, Cortesi M (2006).** Heavy metal concentrations in dairy products from sheep milk collected in two regions of Southern Italy. *Acta Vet Scand*, 47(1), 69-74.
- Anonymous (2001).** Parameters of Water Quality: Interpretation and Standards. p: 133, ISBN:1-84096-015-3, Published by Environmental Protection Agency, Ireland.
- Anonim (2011).** Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Resmi Gazete tarihi: 29.12.2011/28157 (3. Mükerrer), Ankara.
- Anonymous (2009).** Mercury, Lead, Cadmium, Tin and Arsenic in Food. Toxicology Factsheet Series, Issue No: 1, May 2009, Food Safety Authority of Ireland.
- Anonymous (2012).** Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers. User's Guide, Agilent Technologies Inc, Eighth Edition, Manual Part No: 8510231600, Australia.
- Anonymous (2017).** Flame Atomic Absorption Spectrometry, Analytical Methods. Agilent Technologies Inc, Fourteenth Edition, Manual Part No: 8510000900, Australia.
- Arianejad M, Alizadeh M, Bahrami A, Arefhoseini SR (2015).** Levels of some heavy metals in raw cow's milk from selected milk production sites in Iran: Is there any health concern? *Health Promot Perspect*, 5(3),176-182.
- Armutlu FC (2013).** Karaman'da Yetiştirilen Buğdaylarda Bazı Metal Derişimlerinin Voltametik Metotlarla Tayini. Yüksek Lisans Tezi, KMÜ Fen Bil Enst, 68 s, Karaman.
- Arslan A, Güven A, Gönülalan Z, Özmen H (1996).** Şavak tulum peynirinin mineral madde düzeyi. *FÜ Sağlık Bil Derg*, 10, 265-268.
- Ayar A, Akın N, Sert D (2006).** Bazı peynir çeşitlerinin mineral kompozisyonu ve beslenme yönünden önemi. Türkiye 9. Gıda kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.
- Ayar A, Sert D, Akın N (2009).** The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. *Environ Monit Assess*, 152, 1-12.

- Cabrera C, Lorenza ML, Lopez MC (1995).** Lead and cadmium contamination in dairy products and its repercussion on total dietary intake. *J Agric Food Chem*, 43, 1605-1609.
- Demirci M (1988).** Ülkemizin önemli peynir çeşitlerinin mineral madde düzeyi ve kalori değerleri. *Gıda*, 13(1), 17-21.
- Demirci M (1990).** Peynirin beslemedeki yeri ve önemi. *Gıda*, 15(5), 285-289.
- Dıraman H, Demirci M (1998).** Trakya bölgesinde üretilmiş beyaz peynirlerin kalsiyum ve fosfor miktarları üzerine bir çalışma. *Gıda*, 23(3), 217-219.
- Gautam RK, Sharma SK, Mahiya S, Chattopadhyaya MC (2014).** Contamination of Heavy Metals in Aquatic Media: Transport, Toxicity and Technologies for Remediation. In: *Heavy Metals in Water: Presence, Removal and Safety*, (Ed. Sharma S), Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- González-Martín I, Hernández-Hierro JM, Revilla I, Vivar-Quintana A, Lobos Ortega I (2011).** The mineral composition (Ca, P, Mg, K, Na) in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times using near infrared spectroscopy with a fibre-optic probe. *Food Chem*, 127(1), 147-152
- Gönc S (1974).** Divle tulum peynirinin teknolojisi ve bileşimi üzerine araştırmalar. *EÜ Ziraat Fak Derg*, Seri A, 11(3), 515-533.
- Gul Kazi T, Jalbani N, Baig JA, Kandhro GA, Afridi HI, Arain MB, Jamali MK, Qadir Shah A (2009).** Assessment of toxic metals in raw and processed milk samples using electrothermal atomic absorption spectrophotometer. *Food Chem Toxicol*, 47, 2163-2169.
- Holt C, Jennes R (1984).** Interrelationships of constituents and partition of salts in milk samples from eight species. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 77(2):275-282.
- İstanbuluoğlu H, Oğur R, Tekbaş ÖF, Bakır B (2013).** Süt ve süt ürünlerinde ağır metal kirliliği. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 33(2), 410-419.
- Keleş A, Atasever M (1996).** Divle tulum peynirinin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal kalite nitelikleri. *Süt Teknolojisi*, 1(1), 47-53.
- Kılıç S, Karagözlü C, Uysal H, Akbulut N (2002).** İzmir piyasasında satılan bazı peynir çeşitlerinin kalsiyum, fosfor, sodyum ve potasyum düzeyleri üzerine bir değerlendirme. *Gıda*, 27(3), 229-234.
- Kirdar SS, Kose Ş, Gun İ, Ocak E, Kursun Ö (2015).** Do consumption of Kargi tulum cheese meet daily requirements for minerals and trace elements? *Mljekarstvo*, 65(3), 203-209.
- Licata P, Di Bella G, Potorti AG, Lo Turco V, Salvo A, Dugo GM (2012).** Determination of trace elements in goat and ovine milk from Calabria (Italy) by ICP-AES. *Food Addit Contam Part B Surveill*, 5(4), 268-271.
- Mendil D (2006).** Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chem*, 96(4), 532-537.
- Morul F, İşleyici Ö (2012).** Divle tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *YYÜ Vet Fak Derg*, 23(2):71-76.
- Öksüztepe G, İncili GK, Uysal İA (2013).** Elazığ'da satılan çökelek ve kurutların mineral madde ve ağır metal düzeyleri. *NWSA-Vet Sci*, 3B0022, 8(3),1-9.
- Özbek N, Akman S (2016).** Microwave plasma atomic emission spectrometric determination of Ca, K and Mg in various cheese varieties. *Food Chem*, 192(1), 295-298.
- Öztürk BE, Kaptan B, Şimşek O (2012).** Determination of some heavy metals level in kashar cheese produced in Thrace Region. *Tekirdağ Ziraat Fak Derg*, 9(3), 79-84.
- Park YW (2000).** Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA. *Small Rumin Res*, 37(1-2), 115-124.
- Raynal-Ljutovac K, Lagriffoul G, Paccard P, Guillet I, Chillard Y (2008).** Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Rumin Res*, 79(1), 57-72.
- Rezaei M, Dastjerdi HA, Jafari H, Farahi A, Shahabi A, Javdani Hossein, Teimoory H, Yahyaei M, Malekiran AA (2014).** Assessment of dairy products consumed on the Arakmarket as determined by heavy metal residues. *Health*, 6(5), 323-327.
- Saei-Dehkordi SS, Fallah AA (2011).** Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchem J*, 98(1), 156-162.
- Shahbazi Y, Ahmadi F, Fakhari F (2016).** Voltammetric determination of Pb, Cd, Zn, Cu and Se in milk and dairy products collected from Iran: An emphasis on permissible limits and risk assessment of exposure to heavy metals. *Food Chem*, 192, 1060-1067.
- Stoewsand GS, Stamer JR, Kosikowski FV, Morse RA, Bache CA, Lisk DJ (1979).** Chromium and nickel in acidic foods and By-Products contacting stainless steel during processing. *Bull Environ Contam Toxicol*, 21, 600-603.
- Temurci (Usta) H, Güner A (2006).** Ankara'da tüketime sunulan süt ve beyaz peynirlerde ağır metal kontaminasyonu. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 1(1-2), 20-28.
- Yalçın Ö, Tekinşen KK (2010).** Konya'da tüketime sunulan beyaz salamura, tulum ve kaşar peynirlerinin ağır metal içeriklerinin araştırılması. *Etilik Vet Mikrobiyol Derg*, 21(1), 5-10.



A Histopathological and Biochemical Investigation of the Wound Healing and Oxidative Stress Effect on the Wound Model of the *Achillea millefolium* in Rats

Ahmet UYAR¹ Turgut AKYOL² Turan YAMAN³ Ömer Faruk KELEŞ³

¹Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Hatay, Turkey

²Van Yuzuncu Yil University, Health Science Institute, Department of Veterinary Pathology, Van, Turkey

³Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Van, Turkey

Received: 13.11.2017

Accepted: 18.12.2017

SUMMARY

The aim of current study is to evaluate of histopathological and biochemical effects of *Achillea millefolium* (Civanperçemi-CP) on the wound healing in the rats skin. In this study, 24 Wistar albino rats were divided to three groups, Control (K), Madecassol® (M) and *Achillea millefolium* (CP). A wound was created with a punch under the anesthesia in the back region of the rats in all groups. *Achillea millefolium* and madecassol pomad have been administered to study groups per day and serum physiologic solution has been administered to K group locally as placebo. In order to evaluate by histopathological and immunohistochemical and biochemical on 7th and 15th days were taken the blood and skin tissue. Compared with the K group, the topical application of *Achillea millefolium* has a positive effect on epithelialization, fibroblastic activity and collagenization in the CP group. As a result of immunohistochemical investigation, Glutathione peroxidase 1 (GPx1) immunoreactivity in the CP group was stronger than in the K group. Biochemical examination of skin and blood tissue revealed that fluctuated antioxidant defence system constituents levels were restored in CP and M groups. In conclusion, *Achillea millefolium* increased connective tissue formation and reduced the time needed to complete epithelization and was also found that wound healing was accelerated by this occasion.

Key Words: *Achillea millefolium*, Wound healing, Rat

ÖZET

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Yara Modelinde Civanperçemi (*Achillea millefolium*) Bitkisinin Yara İyileşmesi ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Histopatolojik ve Biyokimyasal Olarak Araştırılması

Bu çalışmada Civanperçemi'nin (*Achillea millefolium*) (CP) ratlarda yara iyileşmesi üzerine histopatolojik ve biyokimyasal etkisi araştırıldı. Çalışmada 24 adet Wistar albino ırkı rat kullanıldı. Ratlar; Kontrol (K), CP ve Madecassol (M) grubu olmak üzere üç gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki ratların sırt bölgesi derisinde anestezi altında punch cihazı ile yara oluşturuldu. CP grubu ratların yara bölgelerine CP ekstraktından elde edilen pomat uygulanırken, M grubu ratların yara bölgelerine ise ticari bir preparat olan madecassol kremi uygulandı. Denemenin 7. günü ile deneme sonu olan 15. günde anestezi altında kan ve deri doku örnekleri alındı. Histopatolojik incelemelerde, K grubu ile karşılaştırıldığında CP grubunda yangı ve ödemin azaldığı, epitelizasyon, fibroblastik aktivite ve kollajenizasyonda pozitif bir etki görüldü. İmmunohistokimyasal olarak CP grubunda Glutathione peroxidase 1 (GPx1) immunoreaktivitesi K grubundan daha güçlü idi. Deri ve kan dokusunun biyokimyasal incelemelerinde K grubuna göre M ve CP grubunda antioksidan savunma sistemi enzim düzeyleri daha yüksek idi. Sonuç olarak CP'nin bağ doku oluşumunu arttırdığı ve epitelizasyonun tamamlanması için gerekli zamanı azalttığı, bu vesile ile yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Civanperçemi (*Achillea millefolium*), Yara İyileşmesi, Rat

GİRİŞ

Fiziksel, kimyasal, ısı, radyasyon ve cerrahi müdahalelere bağlı veya kendiliğinden gelişen doku bütünlüğünün bozulması, yara olarak tanımlanır. Diğer bir deyişle yara, değişik nedenlerle vücudun herhangi bir dokusunun anatomik ve fizyolojik fonksiyonlarının azalması ya da doku

veya organların çeşitli etkenler tarafından tamamen veya kısmen fonksiyonlarının bozulmasına denir (Aydın ve ark. 2002).

Doku harabiyeti sonucu yaralanma gerçekleştiğinde, vücudumuzun sistemleri karmaşık ve birbirleri ile ilişkili bir seri yapılanma/iyileşme sürecine girer (Agarwal ve ark. 2005). Doğumdan sonraki en karmaşık biyolojik olaylardan

biri olan yara iyileşmesi, farklı yapılarıdaki dokuların çeşitli etkileşimleri sonucu birbirini takip eden inflamasyon, vaskülarizasyon, yara kapanması, epitelizasyon ve matriksin yeniden meydana gelmesini de kapsayan birçok hücreli olayı içerir (Jurjus ve ark. 2007; Duarte ve ark. 2009). Yara oluştuktan hemen sonra başlayan iyileşme sürecinde nötrofiller ve makrofajlar, inflamasyonun ilk evresinde salgılanan mediyatörlerin etkisi ile dolaşımdan yara bölgesine gelir. Bu bölgeye gelen yangı hücreleri ve diğer hücrelerin katkısı ile kollajen sentezi ve kontraksiyon sonucunda yara iyileşmesi gerçekleşir (Özler ve ark. 2010).

Yara iyileşme sürecini kısaltma ve ideal skar oluşumunu sağlamada temel yaklaşım; bu süreçte rol oynayan başta inflamatuvar hücreler, trombositler ve mediyatörler olmak üzere, kollajen sentezini, anjiyogenezi ve hücre dışı matriks gibi etmenleri etkilemektir (Kapan ve ark. 2008; Özler ve ark. 2010). Bu amaçla eski zamanlardan beri yara tedavisinde kullanılmaya başlanmış ve anonimleşmiş bu tür bitkisel ilaçlar, kırsal bölgelerde sağlık hizmetine önemli katkılar sağlamıştır (Adetutu ve ark. 2011). *Asteraceae* familyasından olan Civanperçemi (CP) (*Achillea millefolium*) de, yaklaşık bin yıldır halk hekimliğinde yara iyileştirici amacıyla kullanılan bitkilerden biridir. *Achillea* türü Truva savaşı sırasında yaralı askerleri iyileştirmek için *Achillea spp* bitkisini kullanan Yunan mitolojisinin önemli kahramanlarından biri olan *Achilles*'dan adını almıştır (Lakshmi ve ark. 2011). Çok yıllık otsu bir bitki olan CP, dünyanın birçok yerinde yetişmekle birlikte genellikle Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarında yaz aylarında özellikle de haziran-eylül ayları arasında yetişmektedir (Passalacqua ve ark. 2007). Son zamanlarda deneysel çalışmalarda bu bitki antibakteriyel (Candan ve ark. 2003), antifungal (Stojanović ve ark. 2005), antiparaziter (Murnigsih ve ark. 2005), antispazmotik ve hepatoprotektif (Yaesh ve ark. 2006), antipiretik (Pires ve ark. 2009) ve kan basıncını düşürücü (Souza ve ark. 2011) olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan yara modelinde civanperçemi (*Achillea millefolium*) bitkisinin yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine etkisinin histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deney hayvanları

Bu çalışmada deney hayvanı olarak ortalama 200-250 gr ağırlığında Wistar-albino türü 24 adet rat kullanıldı. Ratlar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izin (24.12.2015 tarih ve 14 sayı) alındıktan sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi Başkanlığından temin edildi. Deney süresince 12;12 saat aydınlık/karanlık ışıklandırılması, 22±2°C ısı, %45-50 nemli otomatik olarak ayarlanmış odalarda barındırılan ratlar, şehir şebeke suyu ve standart pellet yem ile beslendi.

Bitki numunelerinden pomad hazırlanması

Temmuz-Ağustos aylarında Van ili Erciş ilçesi Yukarıkaçgedik Köyünden toplanarak gölgede kurutulan Civanperçemi bitkisinin çiçek kısımları öğütülerek toz haline getirildi. Toz haline gelen örnekten her ekstraksiyon için 50 g örnek alınarak 500 ml metanol ile oda sıcaklığında 24 saat soxhlet cihazında ekstrasyona tabi tutuldu. Ekstraksiyon sonrası vakumlu ortamda çözücüler uzaklaştırıldı. Ekstre 30 ml distile su ile karıştırılarak üzerine 80 gr gliserin ilave edildikten sonra tekrar karıştırılarak çok hafif alevde amyant üzerine kondu ve yarı şeffaf bir hal alıp ağırlığı 100 grama ininceye kadar ısıtıldı. İşlem sonunda kutusuna konularak

uygun şekilde etiketlenip kullanıncaya kadar uygun ortamda saklandı.

Grupların oluşturulması

Ratlar her grupta sekizer adet olmak üzere üç gruba ayrıldı.

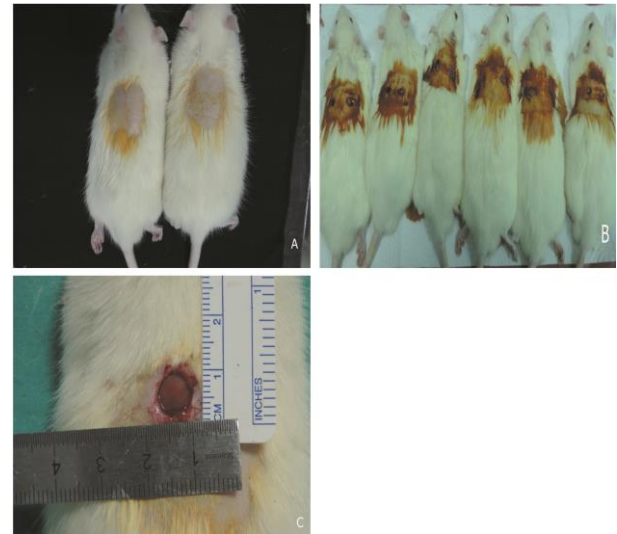
Kontrol (K) grubu: Bu gruptaki ratların yaraları sadece serum fizyolojik ile tedavi edildi.

Madecassol® (M) grubu: Pozitif kontrol amacıyla bu gruptaki ratların yaralarına Madecassol® (Bayer) pomad sürüldü.

Civanperçemi (CP) (*Achillea millefolium*) grubu: Bu gruptaki ratların yaralarına gliserinle hazırlanmış Civanperçemi pomadı uygulandı.

Yara oluşturulması ve takibi

Ratların dorsal interscapular bölgelerinde oluşturulacak yaralar için öncelikle 60 mg/kg Ketamine+10 mg/kg dozunda Xylazine ile anestezileri sağlandı. Elektrikli traş makinesi ile yara oluşturulacak bölgenin kılları temizlendi. Bu bölge antiseptik solüsyon ile silinerek antiseptisi sağlandıktan sonra 0.8cm punch cihazı ile deride tam kat yara oluşturuldu. Yara bölgesi 15 gün boyunca, günde 1 defa lokal olarak pansuman edildi. 0, 4, 7, 12 ve 15. günlerde tüm grupların makroskopik resimleri çekildi ve yaraların izdüşümleri asetat kâğıdına çizilerek AutoCAD programı yardımıyla alan hesaplamaları yapılarak yara iyileşmeleri takip edildi. Yara oluşumunu takiben, 7. ve 15. günde her gruptan 4'er adet ratın anestezi altında nekropsisi yapılarak histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için kan ve yara bölgesi doku örnekleri alındı. Şekil 1 (A-C)'de yara oluşturulma öncesi ratın sırt derisinin tıraşlanmış ve dezenfekte edilmiş hali, postoperatif tedavi sonrası görünümü ve yara boyutunun ölçülmesi sunulmuştur.



Şekil 1 (A-C): Deneme sürecinde ratların görünümü, A. Yara oluşturulma öncesi, B. Postoperatif tedavi sonrası, C. Yara boyutunun ölçülmesi.

Figure 1 (A-C): The appearance of rats in the process of the experiment, A. Before wound creation, B. After postoperative treatment, C. Wound size measurement.

Histopatolojik inceleme

Histopatolojik inceleme için yara bölgesinden alınan deri dokusu örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 72 saat fikse edildi. Rutin takip işlemi kapsamında; doku örnekleri alkol serilerinden geçirilerek dehidrasyonları; ksilol serilerinden geçirilerek şeffaflandırılmaları sağlandı ve daha sonra parafinde bloklandı. Bu bloklardan mikrotomda (Leica RM 2135) 4µm kalınlığında alınan kesitler Hematoksilin-Eozin (H.E.) boyama

teknikğine göre boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-RI2) incelendi.

İmmunohistokimyasal inceleme

Glutasyon peroksidaz-1 (GPx1) aktivitesini belirlemek amacıyla 4µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı ve anti-GPx1 (abcam-ab22604) primer antikoru ile üretici firma tarafından tarif edilen standart Avidin-Biotin Peroksidaz metodu 3,3-Diamino-benzidine (DAB) kromojeni kullanılarak immunohistokimyasal olarak boyandı. İmmunohistokimyasal boyama yoğunluğu; boyanma yoksa (-), zayıf boyanma (+1), orta boyanma (+2) ve güçlü boyanma (+3) olacak şekilde ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-RI2) incelenerek semikantitatif olarak değerlendirildi.

Biyokimyasal inceleme

Biyokimya testleri (ALT, AST, Total protein, Kreatinin, Fe, K, Ca, Mg) için gerekli olan kan enjektörler yardımıyla ratların kalbinden alınarak biyokimya tüplerine aktarıldı. Tüpler dk/10000 devirde serumu ayrıştırılarak laboratuvarında sonuçları analiz edildi. Ayrıca yara bölgesinden alınan deri doku örneğinde de oksidatif stres göstergesi olan Malondialdehid (MDA), Glutasyon (GSH) ve Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerine bakıldı.

İstatistiksel analiz

Biyokimyasal analiz sonuçları, merkezi eğilim ve yayılım ölçülerinden olan ortalama ve standart sapma ($X \pm SD$) ile değerlendirildi. Grup ortalamaları ve yara boyutları arasındaki farkın anlamlılığı ise tek taraflı Varyans Analizi ile (Oneway ANOVA) test edildi. Tüm istatistik analizlerde SPSS-15 paket programından yararlanıldı.

BULGULAR

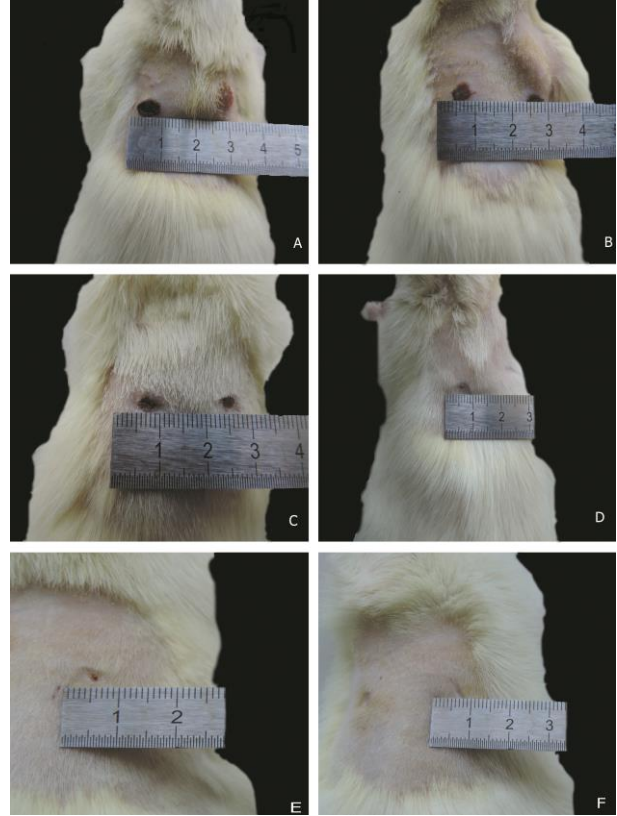
Makroskobik bulgular

Çalışmanın 4. ve 7. gününde yapılan makroskobik incelemelerde K grubuna ait ratların yara bölgelerinde diğer tedavi gruplarına göre kısmen düzensiz bir kabuklanma ile yaranın değişik bölgelerinde eksudat gözlemlendi. CP ve M gruplarında kabuklanma daha düzenliydi. M grubuyla karşılaştırıldığında, CP grubunda kabuklanma daha düzenli bir görünüme sahip olup kabuklanma safhası hemen hemen tamamlanmıştı. 12. günde K grubundaki iyileşmenin CP ve M gruplarına göre yavaşlamaya başladığı gözlemlendi. K grubunda oluşan kabukta çatlaklar görüldü ve bu çatlaklar arasından seröz bir eksudatın dışarıya sızdığı tespit edildi. 15. günde CP grubunda yara iyileşmesinin büyük oranda tamamlandığı ve yara izlerinin kaybolduğu gözlenirken, K grubundaki ratların yara bölgelerinde iyileşmenin biraz geciktiği, yara izlerinin tamamen kapanmadığı görüldü. Her üç grupta da enfeksiyona rastlanmadı. Şekil 2 (A-F)'de gruplara göre yara boyutunun 7. ve 15. günlerdeki makroskobik görünümü sunulmuştur.

Histopatolojik bulgular

7. günde K grubu ratların yara bölgesi epidermisinde epitel rejenerasyonu hiç gelişmemiş olup anjiogenezis yetersizdi. Ayrıca yara bölgesinde yangısal hücrelerden zengin bir eksudat ve ödemle birlikte gevşek bir bağ doku hücre proliferasyonu gözlemlendi. 7. günde M ve CP grubu ratların yara dokuları kesitlerinde K grubuna göre epidermiste, epitelizasyonun belirgin olarak ilerlemiş olması dikkat çekti. Dermiste ise belirgin bir anjiogenezis ve bazı kapıllar damarlarda hiperemiyle birlikte kısmen lenfoplazmasiter ve nötrofil lökositlerin oluşturduğu inflamatuvar hücre infiltrasyonunu içeren gevşek bağ doku proliferasyonu gözlemlendi. 15. günde K grubu ratların ensizyon bölgesindeki epidermiste rejenerasyon tamamlanmış olup yara bölgesinin içbükey görünüme sahip olduğu, dermiste ise kapıllar damar ve bağdoku proliferasyonu meydana geldiği gözlemlendi.

Granülasyon dokusu içerisinde yaygın bir şekilde lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu vardı. 15. günde M ve CP grubu ratların ensizyon bölgesinde epidermiste rejenerasyon tamamlanmıştı. Stratum bazale belirgin olarak izlendi. Ayrıca rejenerasyon epidermis girintili-cıkıntılı bir yüzeye sahip ve yara kenarlarıyla hemen hemen aynı seviyeye gelmişti. Dermiste ise damarlardan fakir ancak olgun bağdoku hücrelerinden zengin granülasyon dokusu görüldü. Ödem kaybolmuş ve granülasyon dokusu içerisinde de tek tük lenfoplazmasiter hücre infiltrasyonu vardı. Şekil 3 (A-F)'de gruplara göre yara iyileşmesinin 7. ve 15. günlerdeki mikroskobik görünümü sunulmuştur.



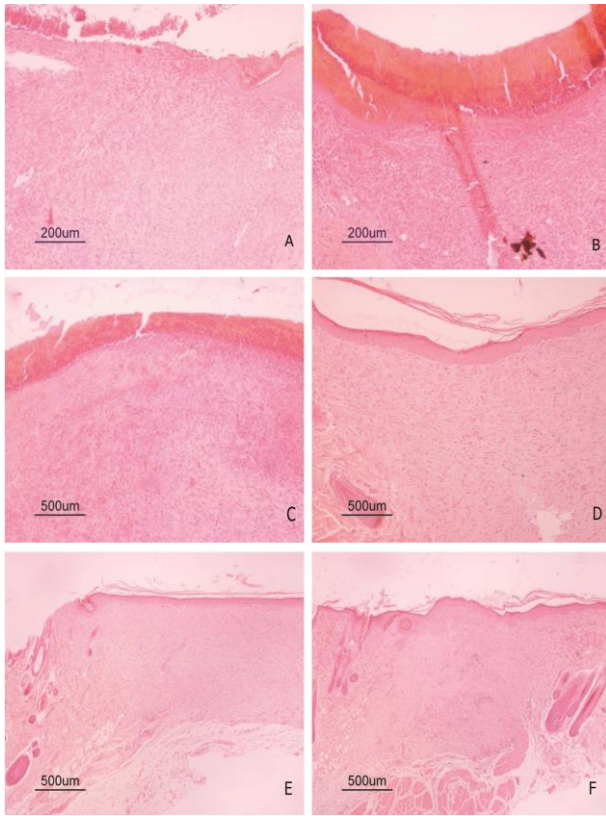
Şekil 2 (A-F): Yara boyutunun 7. ve 15. günlerdeki makroskobik görünümü. A. K grubu 7. gün, B. M grubu 7. gün, C. CP grubu 7. gün, D. K grubu 15. gün, E. M grubu 15. gün, F. CP grubu 15. gün.

Figure 2 (A-F): Macroscopic appearance of wound size 7th and 15th days, A. Group K 7th day, B. Group M 7th day, C. Group CP 7th day, D. Group K 15th day, E. Group M 15th day, Group CP 15th day.

İmmunohistokimyasal bulgular

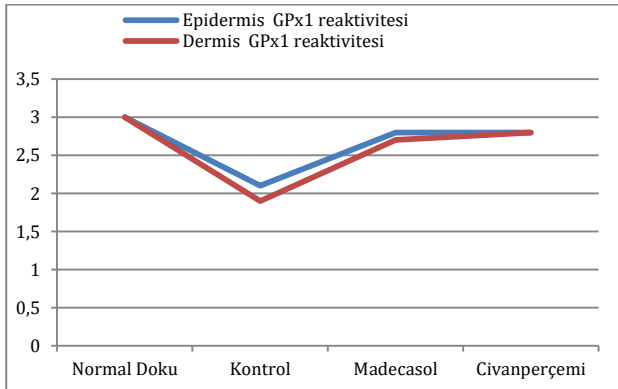
Deri dokusunun GPx1 primer antikoru ile immunohistokimyasal olarak yapılan incelemelerinde normal sağlam deriden alınan doku örneği ile CP ve M uygulanan grupta epidermis ve dermis tabakasında (+3) düzeyine yakın güçlü immunreaktivite görülürken, K grubunda (+2) düzeyde hafif-orta GPx1 reaktivitesi gözlemlendi. CP'nin oksidatif stres üzerine GPx1 immunreaktivitesinin mikroskobik görünümü, gruplara göre boyanma dereceleri ve skor ortalamaları sırasıyla Şekil 4 (A-D), Tablo 1 ve Şekil 5'te sunulmuştur.

Biyokimyasal bulgular: Lipid peroksidasyon (MDA) ve antioksidan savunma sistemi enzimlerinden GSH ve SOD düzeylerine ait bulgular ile bazı biyokimyasal parametrelere ait bulgular (ALT, AST, Total protein Kreatinin, Fe, K, Ca, Mg) sırası ile Tablo 2 ve Tablo 3'te sunulmuş olup, diğer grupların kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılık dereceleri verilmiştir.



Şekil 3 (A-F): Yara iyileşmesinin 7. ve 15. günlerdeki mikroskopik görünümü (H.E.) A. K grubu 7. gün, B. M grubu 7. gün, C. CP grubu 7. gün, D. K grubu 15. gün, E. M grubu 15. gün, F. CP grubu 15. gün.

Figure 3 (A-F): Microscopic appearance of wound size 7th and 15th days, A. Group K 7th day, B. Group M 7th day, C. Group CP 7th day, D. Group K 15th day, E. Group M 15th day, Group CP 15th day.



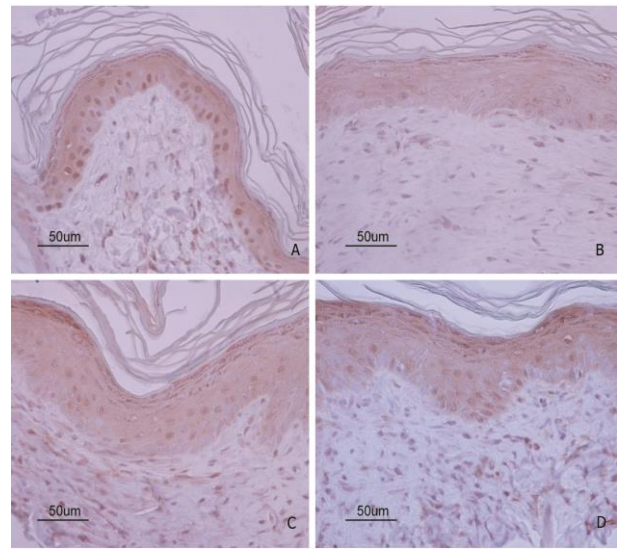
Şekil 5. GPx1 immunreaktivite skorları

Figure 5. GPx1 immunoreactivity scores

Tablo 1. GPx1 immunreaktivitesinin gruplara göre dağılımı.

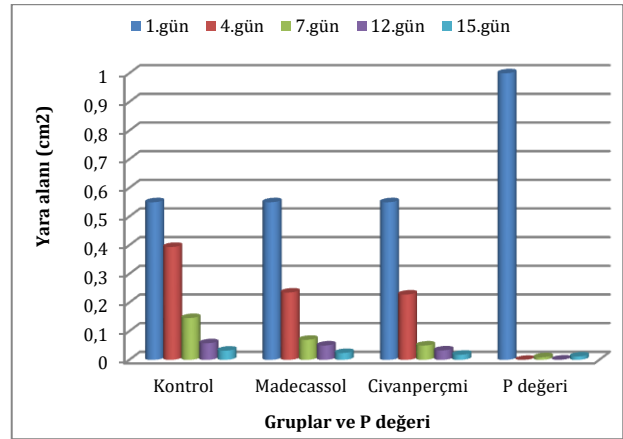
Table 1. Distribution of GPx1 immunoreactivity according to groups.

Parametreler	Normal Doku	Kontrol	Madecassol	Civanperçemi
Epidermis İmmunohistokimyasal GPx1 reaktivitesi	+3.0±0.1	+2.1±0.15	+2.8±0.16	+2.8±0.16
Dermis İmmunohistokimyasal GPx1 reaktivitesi	+3.0±0.16	+1.9±0.18	+2.7±0.13	+2.8±0.14



Şekil 4 (A-D): Glutasyon peroksidaz-1 (GPx1) immunreaktivitesi (Avidin-Biotin Peroksidase metod). A. Sağlam deri dokusunda güçlü boyanma, B. K grubu hafif-orta boyanma, C. M grubu güçlü boyanma, D. CP grubu güçlü boyanma.

Figure 4 (A-D): Glutathione peroxidase-1 (GPx1) immunoreactivity (Avidin-Biotin Peroxidase method), A. Strong staining in normal skin tissue, B. Light-medium staining in Group K, C. Strong staining in Group M, D. Strong staining in Group CP.



Şekil 6. Yara boyutlarının 1, 4, 7, 12 ve 15. günlerde gruplara göre karşılaştırılması.

Figure 6. Comparison of wound sizes according to groups in 1, 4, 7, 12 and 15 days.

Tablo 2. Gruplara göre lipid peroksidasyon ve antioksidan savunma sistemi düzeyleri.**Table 2.** Lipid peroxidation and antioxidant defense system levels according to the groups.

Parametre	Gruplar		
	Kontrol (X± SD)	Madecassol (X± SD)	Civanperçemi (X± SD)
MDA	117.74±26.74	98.38±5.50 ^a	102.42±26,62 ^a
GSH	2.64±0.26	3.75±0.90 ^a	3.63±0,80 ^a
SOD	2208.68±12.61	2266.22±20.33 ^a	2245.62±22,81 ^a

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

Tablo 3. Gruplar arasındaki bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması.**Table 3.** Comparison of some biochemical parameters between groups.

Testler	Gruplar			P değeri
	Kontrol (n=8)	Madecassol (n=8)	Civanperçemi (n=8)	
ALT	35.50±1.65	43.17±0.95	30.50±3.34	(P≤0.05)
AST	235.84±41.65	132.50±13.92	108.13±5.79	(P≤0.05)
Mg	2.74±0.17	2.91±0.22	2.22±0.07	(P>0.05)
Fe	207.50±9.84	194.50±21.68	127.75±5.42	(P≤0.05)
K	5.67±0.25	5.72±0.22	5.29±0.17	(P>0.05)
TP	4.32±0.20	6.50±0.23	5.83±0.12	(P≤0.05)
Ca	9.20±0.19	9.40±0.18	8.99±0.24	(P>0.05)
Kre	0.45±0.16	0.48±0.10	0.29±0.02	(P≤0.05)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Hipokrates'in döneminden beri sağlık bakımından önemli bir yere sahip olan kesik, yara, yanık gibi dermatolojik rahatsızlıkların tedavisi amacıyla halk arasında geleneksel bitkisel yöntemlere sıkça başvurulmaktadır (Jain ve ark. 2006; Rodrigues ve ark. 2012). Yapılan bu çalışmada ratlarda deneysel olarak oluşturulan yara modelinde halk arasında kullanılan Civanperçemi (*Achillea millefolium*) bitkisinin yara iyileşmesi ve oksidatif stres üzerine etkisi histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırıldı.

Düzenli ve hızlı bir şekilde granülasyon dokusunun gelişimi yara iyileşmesi sürecinde önemli bir göstergedir (Kirsner ve Eaglsterin 1993). Açık yara iyileşmesinde granülasyon dokusu gelişimi belirgin olup yaralanmadan sonraki 72-96 saatlerde başladığı tespit edilmiştir (Heinze ve Clem 1998). Granülasyon dokusu; kollajen, fibronektin ve hyaluronik asidin hücre dışı matriksi içine gömülmesi, angiogenesis ile fibroblast ve yangı hücrelerinin birleşiminden oluşur (Kirsner ve Eaglsterin 1993; Calvin 1998). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda da ensizyon yaralarının oluşumundan 3-4 gün sonra yara içindeki pıhtının fibrin ipliklerinin yara yüzeyine vertikal olarak yöneldiği, yaklaşık 6 gün sonra ise, ensizyonel yara arasındaki kapillarlar, fibroblastlar ve kollajen lifleri yara yüzeyine horizontal bir yapı alarak yara dudaklarını birbirine yaklaştırdığı gözlenmiştir (Swaim ve Henderson 1990). Yapılan bu çalışmada ilk 4 günde tüm gruplarda yara kabuğunun yara kenarlarından ortaya doğru gelişmeye başladığı fakat hala geniş bir ülser bölgesinin olduğu, K grubuna göre M ve CP grubunda 7. günde bu açıklığın daha belirgin bir şekilde yara kabuğu ile kapatılmış ve yara alanının azalmış olduğu tespit edilmiştir. 15. günde ise M ve CP grubunda yara bölgesinde epitelizasyonun tamamen gelişip yara izlerinin neredeyse kaybolduğu ancak K grubunda epitelizasyonun büyük oranda gerçekleştiği görülmüşüne rağmen yara bölgesindeki yara izlerinin mevcut olduğu görüldü. CP grubunda K grubundan daha belirgin bir farkın

gözlemlenmesi bu bitkinin M pomadı gibi yara iyileşmesinde etkin olduğunu düşündürmüştür.

Epitelizasyon; yaralanma sonrası derinin yeniden bariyer özelliğini kazanması amacıyla epitel hücrelerinin göç ederek çoğalmasını, organize ve keratinize olmasını kapsayan bir süreçtir (Calvin 1998). Bazal membranın hasar gördüğü tam kalınlıktaki açık yaralarda epitelizasyon için hücreler yalnızca yara kenarlarındaki sağlam epitel hücrelerinden köken alır (Calvin 1998). Yaranın oluşmasından sonraki ilk birkaç dakikada meydana gelen pıhtı, epitelizasyona geçici bir engel teşkil eder (Engin 2004). Epitelizasyon, serbest yara kenarları tarafından başlayarak ilerler ve başka bir yönden gelen hücrelerle karşılaşmaya kadar bu ilerleme devam eder (Theoret 2004). Yara kenarlarının dikiş ile karşı karşıya getirildiği durumlarda epitelizasyon çok kısa sürede başlar (Hedlund 2002) ve 24-48 saat süre zarfında yaranın iki kenarı arasında periferden merkeze doğru tek katlı epitel hücrelerden oluşan bir köprü şekillenir. Bu köprü, dış tehlikelere karşı yaranın oluşturduğu ilk koruma engeli vazifesi görür (Regan ve Barbul 1994). Yara kabuğu oluşmuşsa, epitelizasyon bu kabuğun altında şekillenmeye devam eder (Stashak 1991). Epitelizasyon tamamlanması yara iyileşmiş olarak kabul edilir. Yara iyileşmesi sürecinde son faz maturasyon evresidir. Bu faz, granülasyon dokusunun skar dokusuna dönüşümü (Theoret 2004) ile ekstrasellüler matriksin olgunlaşmasını kapsayan yara iyileşme sürecinin en uzun dönemidir (Kirsner ve Eaglsterin 1993; Rigler 1997). Maturasyon evresinde, yara bölgesinde fibroblast sayısında azalma, kollajen üretiminde dengeye ulaşma, epitelizasyonda tamamlanma (Stashak 1991; Heinze ve Clem 1998), yara renginde soluklaşma, yara gerilim direncinde artma, skar dokusunun hacminde azalma ve az hücreli ve damarlı yapıya sahip bir skar dokusu oluşumu görülür (Rigler 1997; Heinze ve Clem 1998). Yapılan bu çalışmada denemenin 7. gününde kesilen ratların histopatolojik incelenmesinde tüm grupların yara alanında yangısal hücre ve fibroblast artışı gözlenirken, kollajenin henüz demetler halinde gelişmediği görülmüştür. Ayrıca M ve CP grubunda kontrol grubuna göre yara

bölgesinde neovaskülarizasyon ve daha belirgin ve düzenli bir kabuk oluşumu gözlemlendi. 15 günlük deneme sonunda K grubunda epitelizasyonun şekillendiği görülmekle birlikte tedavi gruplarına göre vasküler yapının henüz kaybolmadığı, yara bölgesinde yangı hücreleriyle birlikte fibroblasttan zengin fibrosit ve kollajen ipliklerinden fakir gevşek bir bağ dokunun oluştuğu belirlendi. Tedavi gruplarında ise epitelizasyon tamamen şekillenmiş ve yara bölgesinde fibrosit ve kollajen ipliklerinden zengin, K grubuna göre daha olgun bir bağ doku oluştuğu görüldü. Bu sonuçlara göre Civanperçeminin yara bölgesinde Madecassol gibi fibroblastik aktiviteyi ve kollajen oluşumunu arttırdığı kanaatine varılmıştır.

Yara bölgesinde serbest radikallerin şekillenmesi ya da oksidanlar gibi etmenler, doku hasarına neden olarak iyileşme olayını bozabilmektedir. Bu etmenlerden hidroksil radikali ve O⁻ anyonu, kollajen yapısında bulunan hidroksiprolin ve prolini parçalayarak fibroblastların adezyon, proliferasyon ve canlılığını değiştirebilmektedir. Aynı zamanda hidrojen peroksit (H₂O₂) de hem keratinositlerin göçünü inhibe eder hem de epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyal iletimini engelleyerek fibroblastlarda önemli hasarlara neden olur (Yager ve ark. 2007). Yüksek düzeylerde oluşan ROT, sitotoksik etkiye sebep olacağı için yara iyileşmesini geciktirmektedir. Bu nedenle yaraların iyileşmesinde ROT'un elimine edilmesi gereklidir (Aksoy ve Özakınar 2014). Serbest radikallere karşı doğal antioksidan savunma sistemlerinden biri olan glutasyon peroksidaz (GPx; EC 1.11.1.9), indirgenmiş glutasyonu kullanarak H₂O₂ veya hidroperoksitlerin organik su veya alkollere indirgenmesini katalize eder (Herbette ve ark. 2007). Bu şekilde, lipid peroksidasyonunu önler ve böylece hücre zarlarını oksidatif hasardan korur (Czuczejko ve ark. 2003). Memelilerde antioksidan savunma sistemi için önemli bir komponent olan GPx, yara iyileşmesinin yangısal döneminde yoğun bir şekilde ortaya çıkmaktadır. Bu sayede yoğun oksidatif stres durumlarda ROT ürünlerine karşı direnç oluşturarak keratinositlerin proliferasyonunu uyarılmaktadır (Munz ve ark. 1997). Yapılan bir çalışmada (Steiling ve ark. 1999), yara dokusunda oksidatif stresle birlikte GPx düzeyinde de artış görüldüğü bildirilmiştir. CP bitkisinin içerdiği bileşiklerden biri olan flavonoidler, glikolitik enzimleri veya protein sentezi gibi çeşitli metabolik ara yolları etkileyerek güçlü sitotoksik ve radikal süpürücü etkiler gösterdiği ve bu antioksidatif etkiyle serbest radikal hasarlarına karşı hücreleri korudukları gösterilmiştir (Gálvez ve ark. 2013). Yapılan bu çalışmada normal sağlam dokuya benzer şekilde yara bölgesinde CP ve M uygulaması yapılmış dokuların GPx ile immunohistokimyasal olarak boyanmasında K grubuna göre immunreaktivitenin güçlü çıkması, iyileşme sürecinde antioksidan enzim ekspresyonunun artan oksidatif strese uyumu olarak yorumlanmıştır.

Yaralanmalarda, serbest radikallerin artması nedeniyle oluşan lipid peroksidasyona bağlı olarak hem yara bölgesinde hem de uzak doku ve organlarda hasar ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelebilir (Çavdar ve ark. 1997). Bu durum oksidatif stres olarak bilinmektedir. Oksidatif stresin, yara iyileşmesi sırasında görülen tromboz oluşumunun kontrolünde oldukça büyük bir öneme sahip olduğu bildirilmektedir. Yaralanmalarda oluşan damar hasarı endotelde granüllerin redoksa duyarlı mekanizmaları vasıtasıyla yangı ve pıhtılaşmayı başlatan mediyatör maddelerin kana verilmesini sağlar. Yaralı dokunun, oksidatif metabolizma aracılığıyla iyileşme sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir (Sen ve Roy 2008; Özkorkmaz ve Özyay 2009). Kan dolaşımı veya herhangi bir metabolik sorunu olmayan bir dokuda meydana gelebilecek yara, kendi aktif sürecinde kısa sürede iyileşir. Ancak kan akımındaki

yetersizlik görülmesi, iskeminin derecesine bağlı olarak kronik yaraların oluşmasına sebep olabilir. Herhangi bir nedene bağlı iskemi oluşumu, dokuda hasara neden olan ROT'ları meydana getirir (Adamson ve ark. 1996; Mustoe 2004). İskemi nedeniyle oluşan ROT'lar dokuda protein sentezinin azalmasına, lökosit hücre infiltrasyonu ve metalloproteinaz seviyesinde artmaya sebep olmaktadır. İskemi nedeniyle oluşan bu patolojik değişiklikler, bozulmuş ekstrasellüler matris yapısını ve uzamış yangısal yanıt nedeni ile yara iyileşmesini normal seyrinden çıkarır (Saarialho Kere 1992). Yaralı dokunun oksijen ihtiyacı artmasına karşın, damarların hasar görmesi sonucu yarada hipoksi meydana gelir. Yaradaki hipoksi iyileşmeyi geciktirir. Yapılan bu çalışmada oksidatif stresin biyokimyasal olarak değerlendirilmesinde, yara oluşturulduktan sonraki 15. günde K grubuna göre M ve CP verilen gruplarda lipid peroksidasyon (MDA) ve antioksidanların (GSH ve SOD) istatistiki açıdan daha yüksek bulunması yara iyileşme sürecine olumlu katkıda bulunarak iyileşme sürecinin tamamlandığı şeklinde düşünülmüştür.

Yara iyileşmesinin değerlendirmesinde yara alanının uzunluğu ve genişliğinin ölçülmesi de önemli bir değerlendirme etmenidir. (Flanagan 1994; Grey ve ark. 2006). İyileşmiş yara durumunun saptanmasında, yaranın yüzey alanı ultrason, manyetik rezonans ya da stereofotometri gibi yöntemler kullanılarak ölçülebilmektedir. Klinik olarak ise, yara cetveli ile yapılan ölçümler ve yara boyutlarının asetat üzerine aktarılması tekniği sıklıkla kullanılmaktadır. Yara alanı ölçüm cetveli kullanılarak yapılan ölçümler düzensiz ve çok geniş olan yaralarda çok da güvenilir bir yöntem olmadığı bazı araştırmacılar (van Rijswijk ve Braden 1999) tarafından bildirilmesine rağmen, bu yöntem bazı araştırmacılarca (Thomas ve Wysocki 1990) en doğru yara ölçme yöntemi olarak görülmektedir. Bu yöntemde yaranın kenar hatları milimetre ya da santimetre karelik şeffaf bir asetat üzerine çizilir ve çizilen alan içerisinde kalan kareler ya manuel olarak sayılır ya da dijital planimetriler kullanılarak yara alanı hesaplanır (Güneş 2007). Yapılan bu çalışmada yara iyileşmesinde önemli bir gösterge olan yara yüzey alanı değerlerinin M ve CP gruplarında K grubundan anlamlı olarak daha az olduğu tespit edilmiştir. Tedavi amacıyla topikal olarak kullanılan civanperçeminin belirgin olarak yara iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür.

Sonuç olarak; binlerce yıldır tüm dünyada insanlar tarafından tıbbi bitkiler arasında yaygın bir şekilde kullanılmakta olan Civanperçemi bitkisinin; kollajen sentezine katkıda bulunarak iyileşmeyi hızlandırdığı histopatolojik, immunohistokimyasal ve biyokimyasal bulgularla gösterilmiştir. Bu bitkinin klinik kullanımını için yeni ilaç geliştirme çalışmaları kapsamında ilaç ve kozmetik imalatında değerlendirilmesinin gerekli olduğu kanaatine varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından TYL-2016-5217 nolu proje ile desteklenmiştir. Biyokimyasal analizler için Prof. Dr. İsmail ÇELİK'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Adamson B, Schwarz D, Klugston P, GilmonR, Perry L, Fisher J, Rees R (1996). Oxidant stress: the role of the glutathione redox cycle in skin preconditioning. *J Surg Res*, 62, 159-164.
- Adetutu, A, Morgan, W, Corcoran O (2011). Ethnopharmacological survey and in vitro evaluation of wound-healing plants used in South-western Nigeria. *J Ethnopharmacol*, 137, 50-56.

- Agarwal JP, Ogilvie M (2005).** Vacuum-assisted closure for sternal wounds: a first-line therapeutic management approach. *Plast Reconstr Surg*, 116, 4, 1035-1040.
- Aksay H, Özakpınar ÖB. (2014).** Yara iyileşmesi ve oksidatif stres. *Marmara Pharm J*, 18, 153-158.
- Aydın S, Çağlıkülekcı M, Çolak T, Dirlik M, Öcal K, Akça T (2002).** Washington Cerrahi El Kitabı, Nobel Tıp Kitabevleri.
- Calvin M (1998).** Cutaneous wound healing. *Wounds*, 10, 1, 12-32.
- Candan İ (2003).** Medikal Tedavi. Cilt 1. Antıp Yayınları. Ankara. 361-365.
- Czuczajko J, Zachara BA, Staubach-Topczewska E, Halota W, Kedziora J (2003).** Selenium, glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim Pol*, 50, 1147-1154.
- Çavdar C, Sifil, A, Çamsarı, T (1997).** Reaktif oksijen türleri ve antioksidan savunma. *Turk Neph Dial Transpl*, 3, 92-95.
- Duarte T, Cooke M, Jones G (2009).** Gene expression profiling reveals new protective roles for vitamin C in human skin cells. *Adv Free Radical Bio*, 46, 78-87.
- Engin A (2004).** Yara iyileşmesi. In: *Temel Cerrahi*. Edited by Sayek, İ. 3. Baskı, pp: 266-277, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Flanagan M (1994).** Wound care. Assessment criteria. *Nurs Times*, 90, (45):77-9-15
- Gálvez M, Cordero CM, Lázaro, ML, Cortés F, Ayuso, MJ (2003).** Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines. *J Ethnopharmacol*, 88, 125-130.
- Grey JE, Enoch S, Harding KG (2006).** Wound assessment. *BMJ*, 4, 332 (7536), 285-8.
- Güneş ÜY (2007).** Kronik yaraların değerlendirilmesi. *CÜ Hemşirelik Yüksekokulu Derg*, 11 (3), 38-44.
- Hedlund CS (2002).** Surgery of the integumentary system. In: *Small Animal Surgery*, 2th Edition, Edited by Fossum, T.W. Mosby, Printed in China, pp: 134-137
- Heinze CD, Clem MF (1988).** Wound healing and tissue repair. In: *Textbook of Large Animal Surgery*. 2nd Ed., Edited by Oehme, F.W., pp:141-153 Williams & Wilkins USA.
- Herbette S, Roedel-Drevet P, Drevet JR (2007).** Seleno-independent glutathione peroxidases. More than simple antioxidant scavengers. *FEBS J*, 274, 2163-2180.
- Jain V, Prasad V, Pandey RS (2006).** Wound healing activity of *Desmodium gangeticum* in Different Wound Model. *J Plant Sci*, 1(3), 247-253.
- Jurjus, A, Atiyeh BS, Abdallah IM, Jurjus RA, Hayek SN, Jaoude MA, Gerges A, Tohme RA (2007).** Pharmacological modulation of wound healing in experimental burns. *Burns*, 33, 892-907.
- Kapan M, Aslanmirza MY, Karip AB, Bozkurt Y, Evsen MS, Sak E, Öngören AU (2008).** Lokal fenitoin ve üre uygulamasının yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. *Yeni Tıp Derg*, 25, 209-212.
- Kirsner, RS, Eaglsterin WH (1993).** The wound healing process. *Dermatol Clin*, 11, 4, 629-640
- Lakshmi T, Geetha R, Roy A, Aravind Kumar S (2011).** Yarrow (*Achillea Millefolium* Linn) A Herbal Medicinal Plant with Broad Therapeutic Use-A Review. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 9, 136-144.
- Munz B, Frank S, Hübner G, Olsen E, Werner S (1997).** A novel type of glutathione peroxidase: expression and regulation during wound repair. *Biochem J*, 326, 579-85.
- Murnigsih T, Subeki H, Matsuura K, Takahashi M, Yamasaki O, Yamato Y, Maede K, Katakura M, Suzuki S, Kobayashi C, Yoshihara T (2005).** Evaluation of the inhibitory activities of the extracts of Indonesian traditional medicinal plants against *Plasmodium falciparum* and *Babesia gibsoni*. *J Vet Med Sci*, 67, 829-831.
- Mustoe T (2004).** Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy. *Am J Surg*, 187, 65-70.
- Özkorkmaz E, Özyay Y (2009).** Yara iyileşmesi ve yara iyileşmesinde kullanılan bazı bitkiler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2, 63-67.
- Özler M, Şimşek K, Topal T, Öter Ş, Korkmaz A (2010).** Pinealektomili ratlarda yara iyileşmesi. *Gulhane Med J*, 52, 181-184.
- Passalacqua N, Guarrera P, De Fine G (2007).** Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia*, 78: 52-68.
- Pires JM, Mendes FR, Negri G, Duarte-Almeida JM, Carlini EA (2009).** Anti nociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L, both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. *Phytother Res*, 23, 212-219.
- Regan MC, Barbul A (1994).** The cellular biology of wound healing. In: *Wound Healing*. Edited by Schlag, G., Redl, H. Vol:1 pp: 3-17 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Printed in Germany.
- Rigler DJ (1997).** Inflammation and repair. In *Veterinary Pathology*, 6nd Ed., Edited by Jones, T.C., Hunt, R.D., King, N.W., pp: 150-157, Williams & Wilkins, Pennsylvania.
- Rodrigues HG, Vinolo MA, Magdalon J, Vitzel K, Nachbar RT, Pessoa AF, dos Santos MF, Hatanaka E, Calder PC, Curi R (2012).** Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. *J Invest Dermatol*, 132, 1, 208-215.
- Saarialho-Kere UK (1992).** Patterns of matrix metalloproteinase and TIMP expression in chronic ulcers. *Arch Dermatol Res*, 290, 47-54.
- Sen CK, Roy S (2008).** Redox signals in wound healing. *Biochim Biophys Acta*, 1780, 1348-1361.
- Souza de P, Gasparotto Jr. A, Crestania S, Stefanello MEA, Marques MCA, Silva-Santos JE, Kassuya CAL (2011).** Hypotensive mechanism of the extracts and artemetin isolated from *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) in rats. *Phytomedicine*, 18, 819-825.
- Stashak TS (1991).** Principles of wound healing. In: *Equine Wound Management*, pp: 1-15, Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania.
- Steiling H, Munz B, Werner S, Brauchle M (1999).** Different types of ROS scavenging enzymes are expressed during cutaneous wound repair. *Exp Cell Res*, 247, 484-94.
- Stojanović G, Radulović N, Hashimoto T, Palić R (2005).** In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species, The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. *J Ethnopharmacol*, 101, 185-190.
- Swaim SF, Henderson RA (1990).** Wound healing. In: *Small Animal Wound Management*. pp: 1-8, Lea & Febiger, Malvern, Pennsylvania.
- Theoret CL (2004).** Update on wound repair. *Clin Tech Equine Pract*, 3, 110-122.
- Thomas AC, Wysocki AB (1990)** The healing wound: a comparison of three clinically useful methods of measurement. *Decubitus*, 3, 1, 18-20, 24-5.
- Van Rijswijk L, Braden BJ (1999)** Pressure ulcer patient and wound assessment: an AHCPR clinical practice guideline update. *Ostomy Wound Manage*, 45:56S-67S; quiz 68S-69S.
- Yaeesh S, Jamal Q, Khan AU, Gilani AH (2006).** Studies on hepatoprotective, anti-spasmodic and calcium antagonist activities of the aqueous-methanol extract of *Achillea millefolium*. *Phytother Res*, 20, 546-551.
- Yager DR, Kulina RA, Gilman LA (2007).** Wound fluids: a window into the wound environment? *Int J Low Extrem Wounds*, 6, 4, 262-272.





Eid al-Adha Associated Infections: Three Case Reports

Dilek ÖZTAŞ¹ İmran HASANOĞLU² Turan BUZGAN²
Mehmet Akın TAŞYARAN² Zeliha KOÇAK TUFAN²

¹Yıldırım Beyazıt University Medical School, Department of Public Health, Ankara, Turkey

²Yıldırım Beyazıt University Medical School, Department of Infection and Clinical Microbiology, Ankara, Turkey

Received: 03.11.2016

Accepted: 06.12.2016

SUMMARY

The purpose of this report is to raise concern over the importance of zoonotic diseases related to the feast of sacrifice in our country. Sacrificial animals that must be completely healthy may sometimes cause such zoonotic diseases as Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) and anthrax in people. Our first case is a 27 year-old female patient applying with the complaints of fever, fatigue and loss of appetite. It has been learned that after sacrifice, she drew the tick out of her right groin with her hands and the complaints started 3 days after. Only fever was specified in the physical examination of the patient accepted to the service with CCHF pre-diagnosis. Gingival bleeding, purpuric rashes in upper and lower extremity and abdomen occurred. CCHF-PCR positive was determined. The patient with improved clinical findings not requiring blood product replacement was discharged with full recovery on the 5th day of follow-up. Our second case is a 35 year-old male patient with the complaint of wound and swelling on the left hand. He stated that he collected and salted the hides of sacrificial animal a week ago and then the wound on his hand enlarged. After the examinations, the patient diagnosed with anthrax was treated and discharged with full recovery. The third case is a 33 year-old male patient complaining from an abdominal wound and swelling like acne. It was found that he sacrificed an animal two weeks ago. The patient with normal laboratory parameters was treated for the diagnosis of anthrax and he was discharged after the 7-day treatment. In conclusion, CCHF must be considered for the symptoms of fever and fatigue and anthrax in skin manifestations during the periods of the feast of sacrifice.

Key Words: Crimean-Congo Hemorrhagic Fever, Anthrax, Sacrificial animal

ÖZET

Kurban Bayramı İle İlişkili Enfeksiyonlar: Üç Olgu Sunumu

Bu raporla, ülkemizde, kurban bayramı ile ilişkili zoonotik hastalıkların önemine dikkat çekilmek istenmiştir. Tamamen sağlıklı olması gereken kurbanlık hayvanlar, kimi zaman Kırım Kongo Kanamalı Ateşi hastalığı (KKKA) ve şarbon hastalığı gibi zoonotik hastalıkların insanlarda ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Birinci olgumuz, ateş, halsizlik ve iştahsızlık şikayetleri ile başvuran 27 yaşındaki bayan hastadır. Kurban kesimi sonrası sağ kasıkta fark ettiği keneyi kendi eli ile çıkardığı ve şikayetlerinin 3 gün sonra başladığı öğrenilmiştir. KKKA ön tanısı ile servise kabul edilen hastanın fizik muayenesinde sadece ateş saptanmıştır. Gingiva kanaması, üst ve alt ekstremitelerde purpurik döküntüleri gelişmiştir. KKKA-PCR pozitif saptanmıştır. Kan ürünü replasmanı gerekmeyen ve klinik bulguları düzelen hasta, takibinin 5. gününde şifa ile taburcu edilmiştir. İkinci olgumuz, sol elde yara ve şişlik şikayeti olan 35 yaşındaki erkek hastadır. Bir hafta önce kurban derilerini toplayıp tuzladığı ve sonrasında elindeki yaranın büyüdüğünü belirtmiştir. Tetkikleri yapılan hasta, şarbon tanısı ile tedavisi edilmiş ve şifa ile taburcu olmuştur. Üçüncü olgumuz, karında sivilce benzeri yara ve şişlik şikayeti olan 33 yaşında erkek hastadır. İki hafta önce kurban kestigi öğrenilmiştir. Laboratuvar parametreleri normal olan hasta, şarbon tanısı ile tedavi edilmiş ve tedavisi 7 güne tamamlanarak taburcu edilmiştir. Sonuç olarak, kurban bayramı periyodlarında, insanlarda görülen ateş ve halsizlik semptomlarında KKKA, deri bulgularında şarbon hastalığı akıldan çıkarılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Kırım Kongo Kanamalı Ateşi Hastalığı, Şarbon, Kurbanlık hayvan

INTRODUCTION

Eid al-Adha is a period of four days when approximately 2.5-3 million cattles, sheep and goats are sacrificed in our country each year (Anonymous 2006). Before this period,

an intense animal shipment is performed to the big cities notably İstanbul (Çetin et al. 2011). These sacrificial animals must be healthy. However, the factors of such zoonoses as anthrax, tuberculosis and brucellosis can be

observed primarily. Many zoonotic diseases such as Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF), anthrax, rabies and brucellosis continue to be an important concern for public health in our country. Zoonotic diseases cause not only negative effects on public health, but also result in economic losses due to the loss of efficiency in animals and death. Due to the fact that Eid al-Adha period changes into hot months in Turkey, an increase in zoonotic diseases mainly CCHF and anthrax cases can be observed in different regions as a result of animal mobility.

CCHF disease is a tick-borne viral infection that progresses with fever, common body ache and bleeding on skin, in mucosa and visceral in small part of cases. Its agent is a RNA virus (reference) belonging to Nairovirus kind of *Bunyaviridae* family. The modes of transmission of CCHF virus are attachment of tick infected with virus, crushing the infected ticks with bare hands and contact of CCHF patients with blood, tissue and other body fluids of viremic animals (Vorou et al. 2007; Akın L 2008; Mertens et al. 2013). Risk groups are composed of farmers, shepherds, butchers, slaughterhouse employees living in endemic region and being active in agriculture and stockbreeding, veterinarians, veterinarian health technicians, health personnel being in contact with infected patients, laboratory staff, soldiers, campers and patient relatives. Depending on the increase in cattle, sheep and goat trade particularly during Eid al-Adha, the disease can be transferred from endemic regions to non-endemic regions through viremic animals and/or infected ticks on these animals (Leblebicioğlu 2010). The disease first observed in our country in 2002 and defined in 2003 is seen from April to October every year and it peaks in June and July. This disease first observed in the province Tokat is heavily seen in the north of Central Anatolia Region, south of Black Sea Region and north of Eastern Anatolia Region.

Anthrax is a bacterial zoonotic infectious disease transmitted to people from gram-negative animals (Acha and Szyfres 2003). The agent of the disease is *Bacillus anthracis* which is a spore forming bacillus being in *Bacillus* group. Anthrax is an endemic disease in our country (MH GDBHS, 2016). Although its prevalence gradually decreases, it is observed more frequently in Central and Eastern Anatolia Regions. Anthrax disease can be observed in our country in every season of the year. However, animal and human anthrax is observed more in hot and dry months (Doğanay 2004). Cutaneous anthrax develops with the direct contact as a result of slaughtering and de-hiding the infected or dead animals and mincing their meat; gastrointestinal system anthrax develops by eating infected meat. The infection can spread from person to person as a result of direct or indirect contact with the infected wound and discharge. Cutaneous anthrax occurs after the inoculation of anthrax spores into the skin via small traumas like a cut, itching or insect bite (MH GDBHS, 2016).

The purpose of this report is to draw attention to the zoonotic diseases related to Eid al-Adha in Turkey

CASES

CASE I. A twenty seven year-old female patient applied to our clinic with the complaints of fever, fatigue and inappetence. It was found that the patient removed the tick she noticed in her right inguinal area after the sacrifice of animal in Mamak county of Ankara province with her hands and her complaints started 3 days after. There weren't any pathological findings apart from 38 °C fever observed in the examination of the patient who was taken into service

with the pre-diagnosis of CCHF. In the laboratory examinations, high fever was observed in follow-ups of the patient having the values Hb:12.9g/dL, platelet:75000 K/uL, AST:110 U/L, ALT:57 U/L, CK:152 U/L, LDH:462 U/L. Gingival bleeding, purpuric rashes in upper and lower extremity and abdomen developed. CCHF PCR positive was established. Platelet value regressed back to 19000 K/uL. The patient not requiring blood product replacement and having improved clinical findings was discharged with full recovery on the 5th day of follow-up.

CASE II. A thirty five year-old male patient applied to our clinic with the complaint of post-traumatic wound and swelling in the left hand. He stated that he collected and salted the hides of sacrificial animal a week ago and then the wound on his hand enlarged. On the left hand dorsum of the patient, there was a necrotic lesion in the center and hyperemic and edematous lesion around at the size of 2x2 cm and there was edema on the left arm (*Figure 1*). With the diagnosis of anthrax, crystallized penicillin treatment was started on the patient having the examination results of WBC: 14200 K/uL, CRP:5.92 mg/L with normal laboratory parameters. The patient with significant regression in the edema as of the 3rd day of the treatment was discharged as outpatient to be given with oral antibiotherapy on the 5th day of the treatment.



Figure 1. A necrotic lesion in the center and being hyperemic and edematous around at the size of 2x2 cm on the left hand dorsum

CASE III. Thirtyfive year-old male patient applied to our clinic with the complaint of abdominal wound and swelling like acne that continued for 3 days. It was found out that the patient sacrificed an animal two weeks ago and in the examination, there were lesions observed with two scars being hyperemic and edematous around and necrotic in the center at the size of 2x2 cm on abdominal right upper quadrant and in diameter of 0.5 cm on the right forearm (*Figure 2,3*). The patient with normal laboratory parameters was hospitalized with the diagnosis of anthrax and ampicillin sulbactam treatment was started. The

patient with regression in his/her edema and hyperemia in the follow-up was discharged after the 7-day treatment.



Figure 2. The lesion being hyperemic and edematous around with a necrotic scar in the center at the size of 2x2 cm on abdominal right upper quadrant



Figure 3. Two lesions being hyperemic and edematous around with a necrotic scar in the center in diameter of 0,5 cm on the right forearm

DISCUSSION and CONCLUSION

Due to the fact that Eid al-Adha period changes into hot months and as a result of increased animal mobility, an increase in zoonotic diseases can be observed in different regions. Our primary strategy concerning zoonoses must be preventing animal-borne diseases and protecting public health (MH,GDBHS 2016). The studies on increasing the awareness of population and people who engage in animals for these diseases and supporting an appropriate approach towards these cases must be sustained. CCHF can be observed before and after Eid al-Adha in the regions apart from the endemic regions due to the animal mobility (Doğanay and Metan 2009). The individuals whose clinical and laboratory findings are compatible despite not having any travel history must be questioned in this period. Necessary protection measures (gloves, gown, glasses, mask etc.) must be worn during the contact with animal blood, tissue or other body fluids of animals. Ticks should be fought in animals. Animal shelters must be built in a way not to allow ticks, cracks and slits should be repaired and calcimined after fighting ticks⁸. It should be taken into account that the course of disease can be subclinical in animals; therefore, the animal can spread disease even if it looks healthy.

Such zoonotic diseases as anthrax can increase as related to Eid al-Adha. Anthrax suspicious lesions shouldn't be touched with the bare hands (Doğanay 2004; Kaya et al. 2002). Suspicious animal carcass should never be touched and cut with bare hands and their meat shouldn't be consumed. Sick or dead animal shouldn't be slaughtered without the suggestion of veterinarian and the skin shouldn't be stripped. Applying modern slaughtering methods in relevant places, generalizing such places all over the country and improving them all the time will yield many benefits in terms of people, animal and environmental health and also the national economy (İnal and Nazlı 1997). In conclusion, central slaughtering places must be set particularly in big cities and animals should be examined by veterinarians before and after the slaughtering in Eid al-Adha (Çetin et al. 2011).

REFERENCES

- Acha PN, Szyfres B (2003). Zoonotic and communicable diseases common to man and animals. In: Bacterioses and Mycoses. 3rd Ed, 21-28, Pan American Health Organization, Scientific and Technical Publication, No:580, Washington, USA.
- Anonymous (2006). 2nd press release on Eid al-Adha for 2006. İstanbul Veterinary Chamber, Food Hygiene and Public Health Unit, Issue: 2006/1042.
- Akın L (2008). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39, 134-143.
- Bente DA, Forrester NL, Watts DM, McAuley AJ, Whitehouse CA, Bray M (2013). Crimean-Congo hemorrhagic fever: History, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res*, 100, 159-189.
- Çetin Ö, Dümen E, Kahraman T, Bingöl EB, Büyükcünal SK (2011). Selection, slaughtering and hygiene of sacrificial animals. *J Fac Vet Med Istanbul Univ*, 37(1), 63-67.
- Çetin Ö, Kahraman T, Büyükcünal SK (2006). Microbiological evaluation of food contact surface at redmeat processing plants in İstanbul Turkey. *Ital J Anim Sci*, 5, 19-27.
- Doğanay M (2004). Anthrax. In: Cohen J, Powderly WG (Ed): *Infectious Diseases*, 2nd Ed. 185, 6, Mosby, Edinburgh.
- Doğanay M, Metan G (2009). Human anthrax in Turkey from 1990 to 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 9, 131-139.
- Ergönül A (2006). Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 6(4), 203-214.
- Hayes PR (1995). Hygiene and training of personel (Chapter 12). In: Hayes PR (Ed), *Food Microbiology and Hygiene*, 434-435, Springer Science+Business Media Dordrecht. ISBN 978-1-4615-3546-1.

- İnal T, Nazlı B (1997).** Information on slaughterhouse. Saray Medical Publication, İzmir, 161.
- Jamil B, Hasan RS, Sarwari AR, Burton J, Hewson R, Clegg C (2005).** Crimean-Congo hemorrhagic fever: experience at a tertiary care hospital in Karachi, Pakistan. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 99, 577-584.
- Kahraman T, Çetin O, Dümen E, Büyükkunal SK (2010).** Incidence of Salmonellaspp and Listeriamonocytogenes on equipment surfaces and personel hands in meatplants. *Revue Med Vet*, 161(3), 108-113.
- Kaya A, Taşyaran MA, Erol S, Özkurt Z (2002).** Anthrax in adults and children: Are view of 132 cases in Turkey. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 21, 258-261.
- Leblebicioglu H (2010).** Crimean-Congo hemorrhagic fever in Eurasia. *Int J Antimicrob Agents*, 36, 43-46.
- Mertens M, Schmidt K, Ozkul A, Groschup MH (2013).** The impact of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus on public health. *Antiviral Res*, 98(2), 248-260.
- MH, GDBHS (2016).** Zoonotic Diseases In-service Training Module. Ministry of Health, General Directorate of Basic Health Services, Department of Zoonotic Diseases, Publication no: 799. IV, Ankara, 2011. ISBN: 978-975-590-328-6, <http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/Zoonotik%20Hastaliklar%20Katilimci%20Kitabi.pdf>, Ankara, Access date: 10.06.2016.
- Ser Ö, Çetin H (2016).** The current situation of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *TAF Prev Med Bull*, 15(1), 58-68.
- Troller JA (1993).** Sanitasyon in food processing. Academic Press Inc., 2nd ed., 6, Cincinati, Ohio, ISBN 0-12-700655-0, California.
- Uğur M, Nazlı B, Bostan K (1999).** Lecture notes on slaughter house information and meat examination. İU Veterinary Faculty Publication, 109, İstanbul.
- Uğur M, Nazlı B, Bostan K (2003).** Food hygiene. 274, Technic Publication, Durak Copy Center, İstanbul.
- Vorou R, Pierroutsakos IN, Maltezou HC (2007).** Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Curr Opin Infect Dis*, 20, 495-500.



Operative Treatment of Traumatic Thoracolumbar Luxations in Two Cats by a Method of Simple Spinal Process Stabilization

Ramazan GÖNENCİ Ziya YURTAL Mehmet Zeki Yılmaz DEVECİ

Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Hatay, Turkey

Received: 06.10.2016

Accepted: 14.02.2017

SUMMARY

In this case report, the operative treatment outcomes of spinal vehicular trauma was evaluated in two cats that brought to Mustafa Kemal University Veterinary Faculty Surgery Clinic. The cases were clinically paraplegic, and a thoracolumbar luxation between Th13 and L1 in one and a thoracal fracture-luxation between Th11 and Th12 in the latter were diagnosed radiographically. The cases were operated by a method of simple spinal process stabilization, using two rods stabilized to processus spinosus of related vertebrae by cerclage wires. It was not observed any postoperative complication and concluded that this method was useful.

Key Words: Cat, Simple spinal process stabilization, Traumatic spinal luxation

ÖZET

İki Kedide Karşılaşılan Travmatik Torakolumbal Çıkığın Basit Spinal Proses Stabilizasyon Metodu ile Operatif Sağaltımı

Bu olgu raporunda, trafik kazası sonucu Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniği'ne getirilen iki kedide karşılaşılan spinal travmanın operatif sağaltım sonuçları değerlendirildi. Klinik olarak paraplejik olan bu olguların radyografilerinde, Th13 - L1 arasında torakolumbal çıkık ve Th11 - Th12 arasında torakal kırıklı çıkık tanısı konuldu. Olgular komşu Processus spinalisler iki pinin serklaj telleri ile tutturulması prensibine dayanan basit spinal proses stabilizasyon metodu ile opere edildi. Herhangi bir postoperatif komplikasyon gözlenmeyen bu metodun faydalı olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Basit spinal proses stabilizasyonu, Kedi, Travmatik spinal çıkık

INTRODUCTION

Vehicular trauma, bite and gunshot wounds are the most common causes of thoracolumbar spinal fractures and luxations in dogs and cats depending on the animal's position at the time of impact, the type of force conveyed, the area of impact and inherent strengths and weaknesses of the vertebral column (Bali et al. 2009; Krauss et al. 2012). Reduction or loss of voluntary movements, alteration of spinal reflexes, changes in muscle tones and sensory dysfunctions are seen to a varying degree in all animals which have a spinal cord injury. After physical and neurological examinations; the major purposes of complete radiographical evaluation of the vertebral column are precise localization of lesions, demonstration of multiple lesions not suspected based on results of a neurological examination, assessment of indications for surgery and determination of the most appropriate surgical procedure that might be used. The most important prognostic factor after spinal cord trauma is the presence or absence of deep pain sensation. Regardless of radiographical findings, the assessment of neurological

status by careful neurological examination is the most important point at establishing prognosis of spinal cord injury (Sturges and Le Counter 2003). The report was aimed the evaluation of operative outcomes performed to thoracolumbar luxation and thoracal fracture-luxation cases in two cats exposed to motor vehicle accidents.

CASES

A 3-year-old, 3 kg weighted, male, mix breed cat and a 3-month-old, 0.5 kg weighted, female, mix breed cat had exposed to a motor vehicle accident a few days before and brought to Mustafa Kemal University Veterinary Faculty Surgery Clinic (Fig. 1). The former (Case 1) was not able to stand up and use its hind limbs. In addition to the paraplegie, it was seen deformation, gibbosity and local pain at the thoracolumbar region. Patellar, cranial tibial and gastrocnemial reflexes and deep pain were observed to be absent in neurological examination but anal reflex was present. A thoracolumbar luxation was diagnosed between thoracal 13 (Th13) and lumbar 1 (L1) vertebrae by a lateral radiogram (Fig. 1). The latter (Case 2) was

paraplegic but flexion reflexes were observed mildly in hind limbs neurologically. Other reflexes and deep pain were absent in paraplegic region. Gibbosity and

deformation at the region were obviously discernible. A thoracal fracture-luxation was radiographically diagnosed (Fig. 2) between Th11 and Th12 vertebrates.

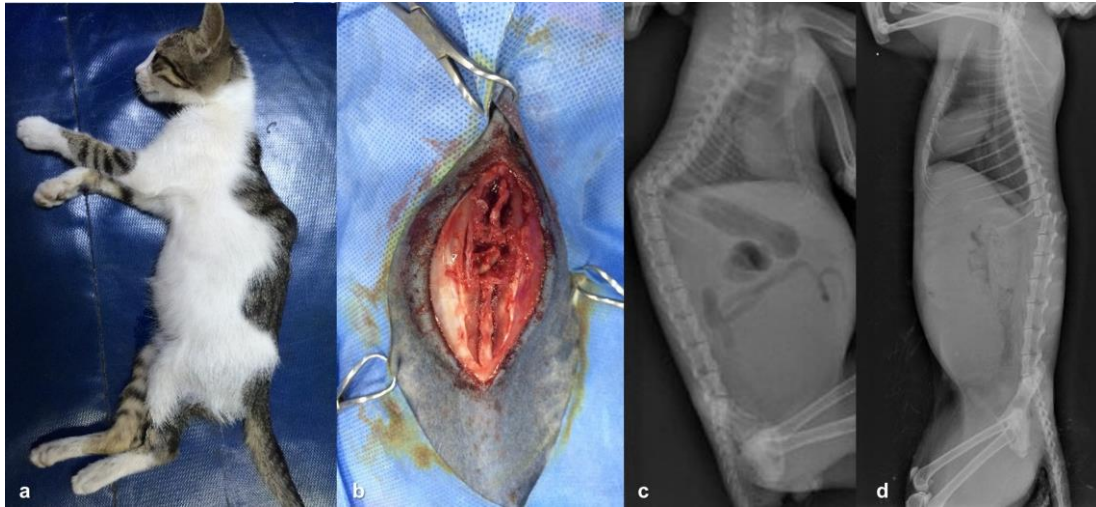


Figure 1. The view of case 2 (a) and its operation site (b). Preoperative lateral radiographic views of the thoracolumbar luxation between Th13 and L1 in the case 1 (c), and the thoracal fracture-luxation between Th11 and Th12 in the case 2 (d).



Figure 2. Placing of cerclage wires through the holes opened at the basis of related spinous processes in case 1 (a) and 2 (c). The fixation of two rods in case 1 (b) and 2 (d).



Figure 3. It was seen that normal anatomical realignment and stabilization were provided in case 1 (a-b) and case 2 (c-d) in postoperative ventrodorsal and lateral radiographic views.

The surgical intervention was seen necessary after the examinations. Patients were anesthetized using of 2 mg/kg im xylazine (20 mg/ml Alfazyne® EgeVet) and 20 mg/kg im ketamine (100 mg/ml Alfamine® EgeVet). The surgery was consisted of stabilization of the spinal luxations by two steinmann pins (rods) that had attached to spinous processes with cerclage wires (Fig. 2). Following a dorsal midline skin incision extending from a minimum of two cranial and caudal vertebrae to the luxations aseptically. The epaxial musculature was gently elevated down from the spinous processes with the attention of protecting the muscle attachments to articular facets after dorsal fascial incision. Reduction and stabilization of luxations were achieved by double pointed bone forceps that were applied on the dorsal spinous processes and carefully upward traction to normal anatomical alignment of spinal segments. The chosen pins were long enough to encompass at least two of spinous processes cranial and caudal to the luxations bilaterally. Pins (1.6 and 2 mm in diameters for Case 2 and 1 respectively) were fixed by cerclage wires of 1 and 0.5 mm in diameters for Case 1 and 2 respectively passed through the holes that were opened at the basis of related spinous processes by an orthopedic drill. The surgery was ended after the dorsal fascia, the subcutaneous tissue and the skin were finally closed in a routine fashion. In postoperative examination, vertebral situs was seen to be normal on the radiograms (Fig. 3). Whereas flexion reflexes were observed to be present clinically in hind limbs of Case 1 after the operation, there were not any sensory functions and muscle tones in Case 2 at first. These findings begun to indicate the reflexes one week and stood up two weeks after the surgery. But this case died at 23th day of the operation because of being thromboembolus probably. On the side, presences of spontaneous defecation and urination were informed by the owner in postoperative period.

RESULTS and DISCUSSION

Owing to the possibility of idiopathic further spinal cord injury of a patient positioned in dorsal recumbency, only lateral radiographs have been recommended at preoperative period (Sturges and Le Counter 2003). So, it was preferred only lateral projections in the cases due to being suspected fractures (Fig. 1). Bali et al. (2009) mentioned that the dislocation degree and axis deviation have been associated with a worse outcome in dogs but not in cats. This was obvious in the cats and did not occur any problem in recovery of the cases. Vertebral fractures and luxations due to road traffic accidents have been stated as 40% to 60% roughly (Feeney and Oliver 1980; Selcer et al. 1991; Hawthorne et al. 1999; Bruce et al. 2008). In a retrospective study (Marioni-Henry et al. 2004), it has been denoted that the cat's traumatic caused spinal cord diseases were 14% in total, and 7% of them were secondary to vertebral column injury. Luxations have been found in dogs more than cats and large dogs also have been found in predisposition to luxations than small dogs. A possible explanation for the lower incidence of luxations of the vertebral column in cats (6%) and small dogs (13%) compared to large dogs (30%) may be due to anatomical differences. The vertebrae of cats and small dogs are far more delicate and therefore may be in more predisposition to additional fractures than the bulkier vertebrae of larger dogs. Combined fracture and luxations have been significantly seen more often in cats (65%) than dogs (37%) because of the comparably thin vertebral bone

which may render it more susceptible to additional fractures (Bali et al. 2009).

Unstable and neurologically disrupted patients especially those with severe deficits usually were treated by the surgery (Jeffery 2010). Proper and timely surgical intervention can improve the physiological environment of the spinal cord and allow for maximal neurological improvement (Sturges and Le Counter 2003). Despite of controversy about intervention time, it recently has been an improving consensus in favor of early surgical intervention (Jeffery 2010). Surgical intervention is also the most effective method for achieving the relief of spinal cord edema and compression, control of intra-extramedullary hemorrhage, removal of bone fragment or intervertebral disc material from the vertebral canal, realignment and stabilization of the vertebral column within optimal time period for recovery of spinal cord function (Sturges and Le Counter 2003). Removing of small bone fragments is also controversial and it has been suggested unnecessary (Chakera et al. 1988; Dai 2001; Leferink et al. 2003).

Objectives of surgical treatment in thoracolumbar spine fractures and luxations include spinal cord and nerve root decompression, and vertebral fracture and luxation stabilization. The stabilization can provide by multiple procedures with only techniques or various configurations of techniques. These include Steinmann pins and PMMA (polymethylmethacrylate) bone cement, vertebral body and dorsal spinous process plates, modified segmental spinal fixation, spinal stapling, external fixators or a combination of these techniques. The overriding primary aims were to limit further damage and to relieve compression by reestablishing normal position to the vertebral canal and intervertebral foramina (Lanz et al. 2000; Seim 2002; Voss and Montavon 2004; Jeffery 2010; Krauss et al. 2012). In this study, it was applied simple spinal process stapling by two Steinmann pins placed through the base of each spinous processes and cerclage wires twisted around the pins and penetrated the spinous process bases. It did not require any additional surgical applications such as vertebral decompression and other only or combined stabilization techniques mentioned above. Results of complications following the surgery are quite common and are often associated to bladder dysfunction and limb disuse. Each stabilization technique has advantages and disadvantages. Complications associated with these methods include iatrogenic spinal cord injury, pin migration, especially postoperative infection related to PMMA implants, inappropriate screw placement, iatrogenic pneumothorax, screw and plate migration, plate slippage and fracture of the dorsal spinous process, fatigue fractures of pins and wires (Seim 2002; Jeffery 2010). In simple spinal process stabling method presented in the case report, it can be waited to be complications such as pin migration or spinal process fracture postoperatively. These postoperative complications in the cases were hoped to be quite low because of young age, low weight and small body size of the cats, and less severity of the injuries. Conclusively, the technique performed in this report was found to be useful because of being easy applying, relatively inexpensive, and appropriate for thoracolumbar vertebral luxations in cats.

REFERENCES

- Bali MS, Lang J, Jaggy A, Spreng D, Doherr MG, Forterre F (2009).** Comparative study of vertebral fractures and luxations in dogs and cats. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 22, 47-53.
- Bruce CW, Brisson BA, Gyselinck K (2008).** Spinal fracture and luxation in dogs and cats: A retrospective evaluation of 95 cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 21 (3), 280-284.
- Chakera TM, Bedbrook G, Bradley CM (1988).** Spontaneous resolution of spinal canal deformity after burst-dispersion fracture. *Am J Neuroradiol*, 9 (4), 779-785.
- Dai LY (2001).** Remodeling of the spinal canal after thoracolumbar burst fractures. *Clin Orthop Relat Res*, 382, 119-123.
- Feeney DA, Oliver JE (1980).** Blunt spinal trauma in the dog and cat: insight into radiographic lesions. *J Am Anim Hosp Assoc*, 16(6), 885-890.
- Hawthorne JC, Blevins WE, Wallace LJ, et al (1999).** Cervical vertebral fractures in 56 dogs: A retrospective study. *J Am Anim Hosp Assoc*, 35(2), 135-146.
- Jeffery ND (2010).** Vertebral fracture and luxation in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40(5), 809-828.
- Krauss MW, Theyse LFH, Tryfonidou MA, Hazewinkel HAW, Meij BP (2012).** Treatment of spinal fractures using Lubra plates. A Retrospective clinical and radiological evaluation of 15 cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 25, 1-6.
- Lanz OI, Jones JC, Bergman R (2000).** Use of an external fixator to correct spinal fracture/luxation and instability in three dogs. *Vet Neurol Neurosurg J*, 2(1), 1-8.
- Leferink VJ, Nijboer JM, Zimmerman KW, et al (2003).** Burst fractures of the thoracolumbar spine: Changes of the spinal canal during operative treatment and follow-up. *Eur Spine J*, 12(3), 255-260.
- Marioni-Henry K, Vite CH, Newton AL, et al (2004).** Prevalence of diseases of the spinal cord of cats. *J Vet Intern Med*, 18(6), 851-858.
- Seim HB (2002).** Surgery of the thoracolumbar spine. In: *Small Animal Surgery*, 2nd Edition, Fossum TW (Ed), 1269-1301, Mosby, St. Louis, Missouri.
- Selcer RR, Bubb WJ, Walker TL (1991).** Management of vertebral column fractures in dogs and cats: 211 cases (1977-1985). *J Am Vet Med Assoc*, 198(11), 1965-1968.
- Sturges BK, Le Counter RA (2003).** Vertebral fracture and luxations. In: *Textbook of Small Animal Surgery*, 3rd edition, Slatter D (Ed), 1244-1260, W.B. Saunders, Philadelphia.
- Voss K, Montavon PM (2004).** Tension band stabilization of fractures and luxations of the thoracolumbar vertebrae in dogs and cats: 38 cases (1993-2002). *J Am Vet Med Assoc*, 225 (1), 78-83.



Congenital Tarsocrural Subluxation and Flexor Tendon Contracture in a Calf

Musa GENÇCELEP Yağmur KUŞCU Tunahan SANCAK

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Van, Turkey

Received: 09.12.2016

Accepted: 04.04.2017

SUMMARY

An 1 day old, 25 kg, male calf constitutes the material of this case report. It was brought in Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery Clinics. In patient's history some information was learnt that calf had normal birth, and had difficulty in standing up, and had lameness. In clinical evaluation it diagnosed both front extremity and left hind extremity had flexor tendon contracture that effects the fetlock joint. Contractures level was medium in front legs, and slight in hind leg. Passive motion of left tarsal joint was difficult as compared to other tarsal joint. Crepitation was determined in the joint. Tarsocrural subluxation was determined in radiographic examination. It was concluded that congenital flexor tendon contracture in front and hind extremity and tarsocrural subluxation of tarsal joint in an animal is clinical important.

Key Words: Congenital tarsocrural subluxation, Congenital flexor tendon contracture, Calf

ÖZET

Bir Buzağıda Konjenital Tarsokrural Sublukzasyon ve Fleksor Tendo Kontraktürü

Bu olgu materyalini, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Kliniği'ne getirilen 1 günlük, 25 kg, erkek, yerli kara ırkı bir buzağı oluşturdu. Anamnezde, hayvanın normal doğumla dünyaya geldiği, ancak ayağa kalkmada zorluk çektiği ve topalladığı öğrenildi. Klinik muayenede her iki ön ekstremitte ile sol arka ekstremitede topuk ekleminden kaynaklı fleksor tendo kontraktürü belirlendi. Kontraktürün ön bacaklarda orta, arka sol bacakta ise hafif derecede olduğu tespit edildi. Ayrıca arka sol tarsal eklemi pasif hareketle tam fleksiyon konumuna getirme girişimi sağlam eklemeye göre daha zor gerçekleştirilirken palpasyonda krepitasyon sesi belirlendi. Yapılan radyografik incelemede, sol tarsal eklemden talus (tarsocrural) sublukzasyonu olduğu gözlemlendi. Aynı hayvanda ön ekstremitelerde ve arka sol ekstremitede fleksor tendo kontraktürü ve sol tarsal eklemden konjenital tarsocrural sublukzasyon olayının gözlenmesi önemli bulundu.

Anahtar Kelimeler: Konjenital tarsokrural sublukzasyon, Konjenital bouleture, Buzağı

GİRİŞ

Ossa tarsi, ruminantlarda üst, orta ve alt sıra kemikleri olmak üzere toplam beş kemikten oluşur. Proksimal sırada talus ve calcaneus, orta sırada os centroquartale bulunur. Distal sırada os tarsale primum ve birbiriyle kaynaşmış olan os tarsale secundum ve tertium bulunur. Tarsocrural eklem ise üst sırada tibia ve fibula alt sırada talus ve calcaneus'un olduğu eklemdir (Budras ve Wünsche 2009).

Konjenital defektler yavru doğduğunda görülen fonksiyonel ya da yapısal anormalliklerdir. Bu defektler embriyogenezis veya fetal gelişiminin çeşitli evrelerinde genetik, çevresel veya her iki faktörün etkilerine bağlı olarak şekillenebilir (Ghanem ve ark. 2004; Gökçe ve ark. 1999; Gül 2009).

Konjenital anomaliler, şekillenen bozukluğun derecesine göre öldürücü olabileceği gibi, hayvanın yaşamını etkilemeyebilir veya estetik bir kusur olarak kalabilir

(Magda ve Youssef 2009). Kongenital defektler buzağuların % 0.25-3'ünde görülür (Özmen 2015). Kaya ve ark. (2011), buzağılarda doğumsal kas-iskelet sistemi anomalilerinin oranını % 59.79, Durmuş ve Han (2005) ise % 49.35 olarak belirlemişlerdir.

Ayak eklemleri seviyesinde görülen konjenital tendo kontraktürü (bilek dikleşmesi, bouleture) buzağuların en çok görülen ekstremitte hastalıklarından biridir. Fleksor yöndeki bükülmenin durumuna göre 3 derecede sınıflandırılır (Samsar ve Akin 2006). Ekstremitelerde gözlenen hafif ve orta derecedeki fleksor tendo kontraktürlerinin sağaltımında alüminyum, PVC destekli ya da alçılı bandajlar ile atel uygulanabileceği bildirilmektedir. İleri derecedeki olgularda ise operasyonlarla (tenotomie ve tenorrhaphie) sağaltım gerçekleştirilir (Akin ve ark. 1976; Doğan 2013; Durmuş ve Han 2005).

Eklemi oluşturan kemiklerden birinin eklemden yerinden

kalıcı olarak tamamen ayrılmasına lukzasyon (tam çıkık), kısmen ayrılmasına ise sublukzasyon (tam olmayan çıkık) denir. Ruminantlarda lukzasyon ve sublukzasyon olguları konjenital ve edinsel olarak meydana gelebilir (Samsar ve Akın 2000; Kocatürk 1994). Constant ve ark. (2015) iki düvede tarsal ekleme edinsel lukzasyon olgusu bildirmiştir.

Çıkık olgularında yumuşak dokulardaki yıkımlanmanın derecesine göre ağrının şiddetinde değişiklikler olur. Eklem kemiklerinin yerinin değişmesiyle ekleme oluşan deformasyon yürüyüş sırasında eklem hareket yeteneğinde artma, azalma veya tamamen ortadan kalkma şeklindeki fonksiyon bozukluğu ile kendisini belli eder. Pasif hareketlerle ağrı ve fonksiyon bozukluğu tespit edilir. Ekstremitelerde eklem çıkıklarında şiddetli topallık görülür (Samsar ve Akın 2000). Lukzasyon (sublukzasyon) sağaltımında kapalı yöntemle redüksiyon (red) ve tesbit işlemi gerçekleştirilir. Red işleminden sonra ilgili bacağın hareketsizliğini sağlamak amacıyla bandaj uygulanır. Eskimiş olgularda eklem konumuna alışmasına bağlı olarak red işlemi güçleşir. Bu durumlarda açık redüksiyona gidilir (Samsar ve Akın 2000).

OLGU

Materyalimizi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı Kliniği'ne getirilen 1 günlük, 25 kg, erkek, yerli kara ırkı bir buzağı oluşturdu. Anamnezde, hayvanın normal doğumla dünyaya geldiği, ancak ayağa kalkmada zorluk çektiği ve topalladığı öğrenildi.



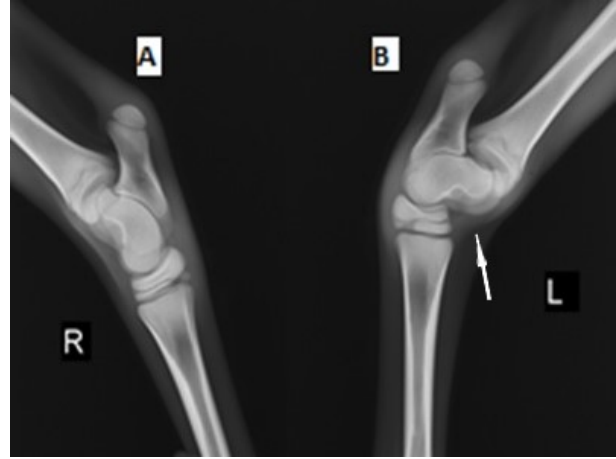
Şekil 1. Kontraktürlü bacakların görünümü

Figure 1. The appearance of the contracture extremities

Klinik muayenede her iki ön ekstremitte ile sol arka ekstremitede topuk eklemleri seviyesinde fleksör tendo

kontraktürü belirlendi. Kontraktürün ön bacaklarda orta (2. Derece), arka sol bacakta ise hafif (1. derece) derecede olduğu tespit edildi (Şekil 1).

Muayeneler sırasında sol tarsal eklemi pasif hareketle tam fleksiyon konumuna getirme girişimi sağ tarsal eklemeye göre daha zor gerçekleştirilirken krepitasyon sesi belirlendi. Kırık şüphesi üzerine yapılan radyografik incelemede, her iki bacakta tarsal kemiklerin normal yapıda olduğu, sadece sol tarsal ekleme talus kemiğinin sublukzasyon konumunda olduğu gözlemlendi (Şekil 2A-B).



Şekil 2. A: Sağ tarsal eklem ML radyografisi; B: Sol Tarsal eklem ML radyografisi, talus sublukzasyonu (Beyaz ok)

Figure 2. A: X-ray image of normal right tarsal joint; B: X-ray image of left tarsal joint tarsocrural subluxation (White arrow)



Şekil 3. Bandaj uygulaması

Figure 3. The appearance of bandage application



Şekil 4. Bandaj sonrası

Figure 4. The appearance of post-bandage

Sublukzasyon ve kontraktürlerin tedavi seçenekleri hakkında bilgilendirilen hayvan sahibi fazla masraf yapamayacağını ve hayvanın yere mümkün olduğu kadar düzgün basmasını istedi. Tarsokrural sublukzasyona yönelik herhangi bir sağaltım girişiminde bulunulmadı. Olgumuzda ekstremiteelerde görülen bir ve ikinci derecedeki fleksor tendo kontraktürlerinin sağaltılması amacıyla cebireli bandaj uygulamaları yapıldı (Şekil 3). 7 gün sonra bandajlar çıkartıldı ve sol ön ve sol arka bacaklarda basışın düzelmiş olduğu görüldü. Sadece sağ ön bacağa 5 gün süreyle yapılan ikinci bandaj

uygulanmasından sonra basma işleminin normale döndüğü belirlendi (Şekil 4). 3 ay sonrasında telefonla hayvan sahibine ulaşıldı ve anamnezde hayvanın büyüdüğü, kilo aldığı ve belirgin bir yürüyüş bozukluğu olmadığı bilgisi alındı.

Bandaj sonrasında hayvanın hayatını rahatlıkla devam ettirmesi ve literatür taramalarında flexor tendo kontraktürü ile birlikte konjenital tarsocrural eklem sublukzasyonuna rastlanılmamış olması vakayı klinik açıdan önemli hale getirmiştir.

KAYNAKLAR

- Akın F, Samsar E, Güzel N, Şener G (1976).** Buzağı ve danalarda arquire-bouleture olguları ile bunların sağaltımları üzerine denemeler. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 23(3-4), 237-248.
- Budras K-D, Wünsche A (2009).** Veteriner Anatomi Atlası (Sığır). Türkçe baskı. Medipress Yayınevi.
- Constant C, Nichols S, Marchionatti E, Lardé H, Olive J, Fecteau G (2015).** Multiple tarsal luxations in 2 Holstein heifers. *Can Vet J*; 56, 1185-1189.
- Doğan H (2013).** Nizip ilçe ve köylerindeki buzağı, kuzu ve oğlaklarda anomalilerin prevalansı ve bu olgularda bazı biyokimyasal değerler. Harran Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa.
- Durmuş AS, Han MC (2005).** Buzağılarda kongenital anomali olguları. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı- Elazığ. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları.
- Ghanem M, Yoshida C, Isobe N, Nakao T, Yamashiro H, Kubota H, Miyake Y, Nakada K (2004).** Atresia ani with diphallus and separate scrota in a calf: A case report. *Theriogenology*, 61, 1205-1513.
- Gökçe AP, Beşaltı Ö, Özak A, Tong S, Yağcı B (1999).** Buzağılarda atresia kolinin operatif sağaltımı: 11 Olgu (1996-1998). *Vet Cerrahi Derg.* 3-4, 9-13.
- Gül Y (2009).** Genel Patoloji. 454-492, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Matbaası.
- Kaya M, Okumuş Z, Doğan E, Çetin EM, Yanmaz LE (2011).** Erzurum Yöresindeki Buzağılarda Doğusal Anomalilerin Görülme Sıklığı ve Sağkalım Oranları, *FÜ Sağ Bil Vet Derg.*; 25 (2): 83-93. <http://www.fusabil.org>
- Kocatürk U (1994).** Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü, Ank. Üni. Basımevi.
- Magda MA, Youssef HA (2009).** Surgical management of congenital malformations in ruminants. (2007), www.priory.com/vet/congenital_malformations_ruminants.html.
- Özmen Ö (2015).** A Case of Monobrachial Peromelia in Two Years Old Hosten Cow. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 62, 323-326.
- Samsar E, Akın F (2000).** Genel Cerrahi, Medipress Yayıncılık, Ankara.
- Samsar E, Akın F (2006).** Özel Cerrahi Medipres Yayıncılık, Ankara.





Neurotransmitter Substances and Anatomical Localizations

Osman YILMAZ Zafer SOYGÜDER

Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Van, Turkey

Received: 30.10.2017

Accepted: 12.12.2017

SUMMARY

Neurotransmitters are defined as chemical substances which are delivered to the synapse space of the presynaptic membrane and transmit a stimulus by binding to a receptor on the postsynaptic membrane to form a specific response. Neurotransmitters are found in a variety of biological fluids, including plasma, serum, cerebrospinal fluid, thrombocytes, saliva and urine. Neurotransmitters have an important role in brain neurological regulation and fulfillment of specific biological functions in the body. In this review, neurotransmitter substances will be mentioned in terms of the criteria used for their identification, mechanism of effect, classification, release, inactivation, detection methods, anatomical location and tasks.

Key Words: Anatomic localization, Neuroanatomy, Neurotransmitter substance

ÖZET

Nörotransmitter Maddeler ve Anatomik Lokalizasyonları

Nörotransmitterler, spesifik bir cevap oluşturmak için presinaptik membrandan sinaps aralığına saliverilen ve postsinaptik membrandaki bir reseptöre bağlanarak uyarıyı ileten kimyasal maddeler olarak tanımlanır. Nörotransmitterler, plazma, serum, cerebrospinal sıvı, trombositler, salya ve idrar da dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sıvılarda bulunur. Beynin sinirsel regülasyonunda ve vücuttaki spesifik biyolojik fonksiyonların yerine getirilmesinde nörotransmitterlerin önemli bir rolü vardır. Bu derlemede, nörotransmitter maddelerin tanımlanmasında kullanılan kriterler, etki mekanizması, sınıflandırılması, salınımı, inaktivasyonu, tespit yöntemleri, anatomik olarak yerleşim yeri ve görevlerinden bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: Anatomik lokalizasyon, Nöroanatomi, Nörotransmitter madde

INTRODUCTION

The nervous system is responsible for the uptake of various stimuli along with the endocrine, immunological system and sensory organs, and the coordination of the organism's reactions. The nervous system receives stimuli that affect the surface and/or inside of the body. These stimuli are recorded in the nervous system, transmitted, evaluated and form an active or passive response. This allows the nervous system to combine the reaction and adaptation in the body. In simple organisms, this function is entirely carried out by the sensory cells of the individual. These cells are stimulated by the environment. The resulting impulse is sent directly from a cell to a muscle or gland cell (König and Liebich, 2007).

The nervous system consists of nerve cells. Nerve cells are called neurons (Arıncı and Elhan 1997; Dursun, 2000). Neurons are connected by intercellular connections that allow the transmission of nerve impulses between muscle cells and gland cells. These gaps between the various cells involved in nerve signaling are called synapses and play an extremely important role in the transport of impulses. Impulses generated by the nervous system are transmitted in electrical or chemical form. An electrical signal is

produced by potentially reducing the membrane in the neurons (electrical synapse). A chemical signal is produced by the release of synaptic neurotransmitter substances. For example; acetylcholine, noradrenaline, dopamine, serotonin (König and Liebich, 2007). Chemical transmission is the most important mechanism of synaptic communication in the mammalian nervous system (Yetgin, 2014).

General Information

Neurotransmitter are described as a chemical substance synthesized from a neuron, released at a synapse following depolarization of the nerve terminal (generally dependent on inflow of calcium ions), which binds to the receptors on the presynaptic terminal and postsynaptic cells to form a specific response (Siegel and Sapru, 2006).

Neurotransmitters are found throughout the body and various biological fluids, including plasma, serum, cerebrospinal fluid, platelets, saliva and urine. Neurotransmitters fulfill specific biological functions in the body. Neurotransmitters also play an important role in the neurological regulation of the brain (Marc et al., 2011). There are over 60 different chemical substances used as neurotransmitters in the nervous system. Acetylcholine is

the first neurotransmitter to be discovered (Raven and Johnson, 1996).

Criteria used in defining neurotransmitters

For a chemical substance to be identified as a neurotransmitter, it must meet certain specific criteria. Some of these are:

1. The chemical substance that is likely to be a neurotransmitter has to be synthesized and stored in the neuron that uses it.
2. The chemical substance must be present in the presynaptic terminal and released in the amount that will produce a specific response to the postsynaptic target with neuron stimulation.
3. When the chemical substance is administered directly to postsynaptic neurons in biological quantities by spontaneous methods, it should produce the same effect as if released from the presynaptic neuron. The fulfillment of this criterion indicates the presence of receptors for that transmitter in the postsynaptic membrane.
4. There must be a mechanism to terminate the synaptic effect (Klein, 2008).

Impact mechanisms of neurotransmitters

Neurotransmitters effect that either opening the ion gates directly (ionotropic action) or causing the formation of cAMP (metabotropic effect), which leads to the opening of ion gates in the postsynaptic cell and other effects. The exciter transmitter is called a transmitter, which allows the

wave of depolarization to occur by opening the Na channels. inhibitor transmitter that opens one or both of the K and Cl channels is called a transmitter. The excitation and inhibition of a transmitter depends not only on the nature of the transmitter but also on the structure of the receptor on the postsynaptic membrane. For example; 1- When a neuron is stimulated by acetylcholine, it is inhibited by glycine. There is an excitatory receptor for acetylcholine, and an inhibitor receptor for glycine. 2- Noradrenaline causes some synapses in the central nervous system (CNS), causing some inhibition. 3- Acetylcholine has a stimulatory effect on the neuromuscular junction, whereas it is inhibitory in the heart (Anonymous, 2017a).

In some transmitters made of monoamine or peptide, the "effect by state" may be relevant; That is, the transmitter may enhance or suppress a transmitter response of the classical exciter or inhibitor of the target neuron, but when applied alone does not alter membrane potential or ion conductivity or minimally affect. The effects according to this type of situation are defined as "modulator effect" (Burnstock, 1995; Aston-Jones et al., 2001).

Classification of neurotransmitters

Neurotransmitters are divided into three major classes: small molecule transmitters, neuroactive peptides and gas neurotransmitters. Classification of neurotransmitter substances in the nervous system is shown in Table 1 (Siegel and Sapru, 2006).

Table 1. Classification of neurotransmitters (Siegel and Sapru, 2006).

Small molecule Neurotransmitters	Neuroactive peptides	Gas Neurotransmitters
Acetylcholine	Opioid peptides	Nitric oxide
Excitatory amino acids	β -endorphin	
Glutamate	Methionine-Enkephalin	
Aspartate	Leucine-Enkephalin	
Inhibitor amino acids	Endomorphine	
GABA	Nociceptin	
Glycine	Substance- P	
Biogenic amines		
Catecholamines		
Dopamine		
Norepinephrine		
Epinephrine		
Indole amines		
Serotonin		
Imidazole amines		
Histamine		
Purines		
Adenosine Triphosphate		
Adenosine		

Colocalization of neurotransmitters in neurons

With the emergence of neuroanatomical and neurochemical techniques and the examination of numerous neuronal populations, it has been shown that the vast majority of neurons contain up to four neurotransmitter species, at least two in synaptic nodes. This is known as neurotransmitter colocalization. Large

molecule neurotransmitters are most likely to be colocalized with another large neurotransmitters. Small molecule neurotransmitters must be colocalized with each other, although this is rarely observed. When neurotransmitters are colocalized in a synaptic knot, they are often found in different storage vesicles. However, there are also cases where different large molecular

neurotransmitters are found in the same vesicle. Colocalization of neurotransmitters provides great flexibility in the functioning of a neuron. When large molecule neurotransmitters are colocalized with small molecule neurotransmitters, they may need a higher frequency of action potential discharge than large molecule neurotransmitters to release from the terminal. Thus, depending on the activity of the neuron, a neuron has neurotransmitter expression capacity in different modes. While low activity can only result in the release of small molecule neurotransmitters and produce a type of postsynaptic response, higher activity may result in the release of large molecule neurotransmitters, resulting in a different postsynaptic response (Klein, 2008).

The studies have focused on the colocalization of GABA and dopamin (Barreiro-Iglesias et al., 2009), GABA and glycine (Chen and Hillman, 1993), catecholamine and serotonin (Miceli et al., 1987), nitric oxide synthase (NOS) and GABA (Valtschanoff et al., 1992), cGMP and NOS (Mckee et al., 1994).

Release steps of neurotransmitters

Release of small molecule neurotransmitters

The steps involved in the synthesis, transport and release of small molecule neurotransmitters are shown below:

- 1- The enzymes required for the synthesis of small molecule transmitters are synthesized from within the neuronal cell body of the granular endoplasmic reticulum.
- 2- They are transported to the Golgi apparatus.
- 3- Within the Golgi apparatus, they are modified (e.g., sulfation, glycosylation)
- 4- Analyzable enzymes (e.g., acetylcholinesterase, tyrosine hydroxylase) are transported along the axon to the nerve end by slow anterograde axonal transport (0.5-5 mm / day) through microtubules. The remaining enzymes are transported by rapid anterograde axonal transport.
- 5- The precursors necessary for the synthesis of small molecule neurotransmitters are introduced through the transport proteins located within the plasma membrane of the nerve ending and the neurotransmitters are synthesized within the presynaptic nerve terminal from the precursors. The enzymes necessary for neurotransmitter synthesis are synthesized in the neuronal cell body and transported to the nerve terminal.
- 6- The synthesized neurotransmitter pool in the cytoplasm is taken up into small vesicles by vesicular membrane transport proteins. Small-molecule transmitters generally contain open-core vesicles. The norepinephrine and serotonin include dense-core vesicles.
- 7- Neurotransmitters are released via exocytosis as a result of appropriate stimulation (Siegel and Sapru, 2006).

Release of neuropeptide neurotransmitters

These neurotransmitters usually mediate the slowing of brain function. The steps involved in the synthesis, transport and release of neuropeptide neurotransmitters are shown below:

- 1- Polypeptides much bigger than the last peptide transmitter (also referred to as the pre-propeptide) are synthesized in the granular endoplasmic reticulum, where it is turned into a propeptide. The enzymes necessary for the division of the polypeptides are also synthesized in the granular endoplasmic reticulum.
- 2- Propeptide and enzymes are transported to the Golgi apparatus where the vesicles are packaged.

3- Propeptide and enzyme-filled vesicles are transported to the nerve endings along the axon by rapid axonal transport (400 mm/day) via microtubules. Adenosine triphosphate, which requires "motor" protein such as kinesin, is required for this transport.

4- Protopropeptide cleavage enzymes to produce smaller peptide neurotransmitters remain within large dense nucleated vesicles.

5- Peptide neurotransmitters are then released into the synaptic cleft via exocytosis.

6- Subsequently, the peptide transmitters will diffuse away and be reduced by proteolytic enzymes. Once reduced, the peptide transmitters are not transferred to the nerve terminal in the same situation as the small molecule neurotransmitter (Siegel and Sapru, 2006).

Inactivation of neurotransmitters

The activities of neurotransmitters can be stopped with four different mechanisms:

- 1- Diffusion: Neurotransmitters move away from the synaptic cleft, where it no longer acts as a receptor.
- 2- Deactivation (enzymatic degradation): A specific enzyme changes the structure of the neurotransmitter. Therefore, the neurotransmitter is not recognized by a receptor. For instance, the acetylcholinesterase enzyme acetylcholine separates choline and acetates.
- 3- Glial cells: Astrocytes remove neurotransmitter substances from the synaptic cleft.
- 4- Reuptake: All neurotransmitter molecules are taken back into the released axon terminal. Norepinephrine is a common pathway to stopping the action of dopamine and serotonin. These neurotransmitters are removed from the synaptic cleavage as they can not bind to receptors (Anonymous, 2017b).

Detection methods of neuroactive substances

The methods used to analyze the effects and the natural structure of neuroactive substances are quite broad. Some of the basic methods commonly used in neuroscience to investigate the functions of neuroactive substances, behavioral and modelial formulas are: Bio and radioisotope assays, microdialysis and electrochemical discoveries, autoradiography, chromatography, Immunohistochemical methods, In situ hybridization (ISH), dyeing and monitoring of neuroanatomical pathways, electrophysiology, behavioral tests (Halbach and Dermietzel, 2002b).

Small molecule neurotransmitters

1. Acetylcholine

Acetylcholine is a neurotransmitter found at the neuromuscular junction, at the post-synaptic and presynaptic terminals of the parasympathetic nervous system, at the presynaptic terminal of the sympathetic nervous system and at the same time in various regions of the CNS. Acetylcholine, a neurotransmitter localized to both the peripheral and central nervous system, is synthesized by choline acetyltransferase, the synthesis of its rate-limiting enzyme, from the presynaptic terminal of choline and acetylcoenzyme (CoA). Acetylcholine, like many other neurotransmitters, has the ability to bind to both ionotropic and metabotropic receptors. Ligand-capped sodium (nicotinic receptor) in skeletal muscles is also an excitatory neurotransmitter that can bind directly to ion channels and cause them to open. An inhibitor neurotransmitter that binds to G-protein bound receptors that allows the opening of potassium ion channels in the heart. Acetylcholine is found in the autonomic nervous

system, specific sympathetic and parasympathetic preganglion. At the same time, it has also localized to areas of the CNS such as the striatum interneurons, forebrain neuron projection, brain stem and motor neurons of spinal cord. Acetylcholinesterase enzyme is located within the synaptic cleft of the postsynaptic membrane. This enzyme separates acetylcholine to choline and acetyl CoA (Patestas and Gartner, 2006).

In some degenerative brain diseases such as Alzheimer's disease, dysfunction occurs in the cholinergic system (Halbach and Dermietzel, 2002a). Acetylcholine is one of the important neurotransmitters in the brain. It is important for attention, cortical activation, reward and pain senses, memory and learning. Acetylcholine has played a major role in stabilizing motor toning against the possible effects of movement and dopamine (Johnston and Silverstein, 1998; Cooper et al., 2003; Herlenius and Lagercrantz, 2004).

2. Excitatory amino acids

2.1 Glutamate-Aspartate

L-glutamate and L-aspartate amino acids are the most abundant excitatory neurotransmitters in the CNS. The excitatory effect of both amino acids has been confirmed by several studies and it has been confirmed that they play a key role as excitatory amino acids in brain tissues (Halbach and Dermietzel, 2002a). Glutamate is the main excitatory neurotransmitter in mammalian CNS. At the end of 1970s it was fully accepted that glutamate was found the first amino acid neurotransmitter (Zeyden et al., 2008).

Glutamate is found in almost every region of the brain, as well as the presynaptic terminals of the dorsal root ganglia of the spinal canal. Glutamate, probably the most common excitatory neurotransmitter, is synthesized from glutamine in the presynaptic terminal catalyzed by the glutaminase enzyme. When the glutamate is released into the synaptic cleft in the CNS, it must be removed rapidly. Otherwise glutamate will cause postsynaptic neurons to change the repetitive stimulus resulting in neuronal degeneration and gradual death. This stage is known as excitotoxicity. Free glutamate in the cleft of synapse is endocytosed by the presynaptic terminal to prevent toxicity. The glutamate, which is endocytosed by the presynaptic terminal, is converted by glutamine synthetase enzyme to glutamine, which is then converted to glutamate form. The same reaction occurs in glial cells. All this sequence is known as the glutamine-glutamate cycle (Patestas and Gartner, 2006). Glutamate is involved in many metabolic pathways and is found throughout the mammalian brain (Platt, 2007). Glutamate may be a potent neurotoxin. Long-term stimulation of neurons by the excitatory amino acids can cause neuronal deaths or injuries (Siegel and Sapru, 2006). It has been reported that the glutamate concentration decreases in the hippocampus and anterior frontal cortex of schizophrenic patients (Shah et al., 2002).

3. Inhibitor amino acids

3.1. GABA

GABA is an important inhibitor neurotransmitter of mammalian CNS. GABA was accepted as a neurotransmitter at the end of the 1960s and at the beginning of the 1970s (Bowery and Smart, 2006). Gamma aminobutyric acid (GABA) is an inhibitor neurotransmitter used in approximately 30% of the CNS neurons. GABA is produced from glucose by way of glutamate, whose conversion to GABA is catalyzed by the enzyme glutamic acid decarboxylase. When GABA is released in the

presynaptic terminal where free neurotransmitter molecules are present, they are rapidly absorbed again by presynaptic terminals and neuroglia using GABA - specific membrane associated transport proteins. GABA is found in Purkinje cells of the cerebellum and in the local peripheral interneurons (Patestas and Gartner, 2006). Decreased neuronal inhibition effect of GABA in neurons causes epileptic discharges resulting in seizure development (Eroğlu, 2012).

3.2. Glycine

Glycine, one of the most common inhibitor neurotransmitters of the spinal canal, is synthesized by the serine hydroxymethyltransferase enzyme (Patestas and Gartner, 2006). Glycine is found in body fluids and tissue proteins in significant quantities. It is not an essential amino acid, but is found as an intermediate product in protein metabolism, peptides and bile salts. Glycine was implicated as an inhibitor neurotransmitter to the spinal cord, lower brainstem and retina (Siegel and Sapru, 2006).

4. Biogenic amines

4.1. Catecholamines

Three important catecholamines with similar properties are dopamine, norepinephrine and epinephrine (Patestas and Gartner, 2006). Catecholamines are synthesized from tyrosine amino acid. Thanks to the tyrosine hydroxylase enzyme, tyrosine is converted to DOPA (dihydroxyphenylalanine). DOPA is converted to dopamine (dihydroxy phenylethylamine) with DOPA-decarboxylase. Dopamine is turned into noradrenaline with the enzyme dopamine- β -hydroxylase. Noradrenaline is converted to adrenaline by the help of phenylethanolamine-N-methyl transferase (Ganong, 2005).

4.1.1. Dopamine: Dopamine neurons are found mainly in the ventral tegmental area, the substantia nigra and the arcuate nucleus of the hypothalamus. Axons emerging from the substantia nigra reach the striatum. Axons from the ventral tegmental area reach the nucleus accumbens, the limbic system and the prefrontal cortex. Axons from the arcuate nucleus reach the pituitary gland (Girault and Greengard, 2004).

Dopaminergic activity is associated with motivational behavior (Svensson and Mathe', 2002). It has been reported that changes in dopaminergic activity in the striatum and prefrontal cortex are associated with memory (Myhrer, 2003). Dopamine plays a role in transmitting information between nuclei in the basal ganglia in the brain and controls voluntary movements (Sherwood, 2007). Dopamine also leads to changes in learning and memory by different mechanisms (Breitenstein et al., 2006). Regularly cellular and molecular signaling of dopamine and glutamate is known to function in learning method, adaptation, language translation functions, synaptic plasticity and long-term memory consolidation (Berke and Hyman, 2000). At the same time, Dopamine has been reported to play an important role in the pleasure mechanism and may be associated with drug dependence, coercive behavior, loss of attentiveness and schizophrenia (Robert and Benoit, 2008).

4.1.2. Noradrenaline (Norepinephrine): Noradrenalin (NA) is secreted from the axonal ends of a large number of neurons located in the brain stem and hypothalamus of cell bodies. NA is also secreted from most postganglionic neurons of the sympathetic nervous system (Kandel et al., 2000). It plays a very important role in the fulfillment of the functions of the locus ceruleus, cortex, hippocampus, amygdala, thalamus, hypothalamus and behavioral responses such as awakening, stimulation, discrimination

of fear stimuli, eating behavior and learning (Aston-Jones et al., 1994, Ressler and Nemeroff, 2000). Increased levels of noradrenalin cause symptoms such as stress, fear, tachycardia, involuntary tremor, mouth instability, increase in blood pressure and sweating (Ninan, 1999).

4.1.3. Adrenaline (Epinephrine): Epinephrine is an excitatory neurotransmitter derived from norepinephrine. Epinephrine is very rarely used as a neurotransmitter in CNS neurons and is limited to the front of the medulla oblongata (Patestas and Gartner, 2006).

5. Indole amine

5.1 Serotonin: Serotonin is derived from tryptophan, an amino acid which is converted into 5-hydroxytryptophan by the rate-limiting enzyme tryptophan-5-hydroxylase. Serotonin is an excitatory neurotransmitter (Patestas and Gartner, 2006).

Serotonin and serotonergic neurons have localized into the pons, midbrain, medulla, epiphyseal gland, hypothalamus, substantia nigra and raphe nuclei in the brainstem. (Herlenius and Lagercrantz, 2004; Patestas and Gartner, 2006; Siegel and Sapru, 2006). These neurons have some cognitive functions as well as functions that include stimulation and sleep modulation. In addition, these neurons may have regulatory effects on catecholamine levels (Patestas and Gartner, 2006).

6. Imidazole amine

6.1 Histamine: Histamine is a pharmacologic agent that is released by mast cells and basophils. Histamine capillaries are responsible for the leakage from the veins and also for the contraction of the bronchial smooth muscles. In the nervous system, the hypothalamus is localized to the median eminence and mostly into the pituitary gland. Histamine has been shown to be able to influence sensory, memory and learning through H1 receptors (Patestas and Gartner, 2006). Histidine is decarboxylated by the histidine decarboxylase enzyme to form histamine. Histamine is metabolized by two enzymes: histamine methyltransferase and diamine oxidase (Siegel and Sapru, 2006).

7. Purines

Recently, ATP (adenosine triphosphate) has been implicated as a neurotransmitter. Purinergic transmission was seen in the bladder, intestinal, smooth muscle and vas deferens. ATP is also responsible for the pain mechanisms. Adenosine is accepted purinergic neurotransmitter. However, it is not a classical neurotransmitter because it is not stored in presynaptic vesicles and is not released in a calcium dependent manner. Adenosine is obtained by the degradation of ATP by extracellular enzymes (Siegel and Sapru, 2006).

Neuropeptides

1.Somatostatin: Somatostatin, released by one of the diffuse neuroendocrine system cells (DNES) and produced by one of the paracrine hormones, was first observed in the digestive tract. Somatostatin is an inhibitor of neurotransmitter in CNS and localized to hypothalamus, amygdala and small spinal ganglion cells (Patestas and Gartner, 2006).

2. Substance - P: Substance-P was first discovered in the digestive tract. Later, unipolar neurons of trigeminal and dorsal root ganglia were observed along with spinal cord, hippocampus and neo-cortex. Substance - P, one of the most important neurotransmitters of nociception, is an excitatory neuropeptide (Patestas and Gartner, 2006).

3. Opioid Peptides: Opioid neuropeptides constitute an important subgroup of neuropeptides, formed by the combination of at least 20 neurotransmitter substances. Although three categories (enkephalin, endorphin,

dynorphin) are examined, three important features are common: 1 - they are mostly inhibitors. 2- They bind to opium receptors in post synaptic membrane. 3- They serve as an agonist of substance-p, containing pain (Patestas and Gartner, 2006).

Enkephalin is a neurotransmitter used by many interneurons as well as synapses in the dorsal horn of the spinal cord. Enkephalin is also used as a neurotransmitter in the limbic system, the cerebral cortex, the striatum, and the raphe nuclei of the brainstem. Endorphin is mostly localized to the hypothalamus. Dynorphine is localized in amygdala, limbic system and hypothalamus (Patestas and Gartner, 2006).

Nitric oxide (NO)

Nitric oxide is a gas derived from the amino acid of L-arginine by the action of nitric oxidase enzyme (Bredt and Snyder, 1992; Meller and Gebhart, 1993). NO is a very reactive molecule and therefore has a very short half-life (Yilmaz and Yur, 2010). It is not only a gas but also an inhibitor neurotransmitter (Patestas and Gartner, 2006). There are three forms of nitric oxide, neuronal (nOS), endothelial (eNOS) and inducible (iNOS) nitric oxide (Macnaughton, 1998; Li and Billiar, 1999; Malinski, 2007). In general, iNOS is a form distributed throughout the body after appropriate induction or stimulation; eNOS is located in the endothelial cells (Alexander, 1998), found in the vascular endothelium (Burette et al., 2002); and nNOS is found in dorsal root ganglia (Zhang et al., 1993; Ruda et al., 1994; Wu et al., 1998), in the spinal cord in neurons in the superficial layer of the dorsal horn, as well as in the intermediolateral cell column, around the central canal (Valtschanoff et al., 1992; Herdegen et al., 1994; Traub et al., 1994), in some motor neurons of the ventral horn (Dun et al., 1993; Terenghi et al., 1993; Wu et al., 1998) and in ependymal cells (Soyguder et al., 2004). Nitric oxide is an important determinant of pain in the body. It may also function in memory formation as it is located in the hippocampal formation. In addition, NO is also found in the olfactory system, the cerebellum, the striatum, the cerebral cortex and the hypothalamus (Arıcıoğlu, 2005; Patestas and Gartner, 2006). The role of NO as a transmitter in the CNS is still under investigation (Siegel and Sapru, 2006).

As a result, It is hoped that this study will be useful for research on neurotransmitter substances.

REFERENCES

- Alexander B (1998).** The role of nitric oxide in hepatic metabolism. *Nutrition*, 14, 4, 376-390, USA.
- Anonymous(2017a).** <https://docs.google.com/file/d/0B7VZm7TSSZ7fUFZ1NkFCaFNoZUk/edit> Access Date: 20.10.2017.
- Anonymous(2017b).** <http://faculty.washington.edu/chudler/chnt1.html> Access Date: 20.10.2017.
- Arıcıoğlu F (2005).** Nitrik Oksit ve Santral Sinir Sistemi. Türk Farmakoloji Derneği, Farmakoloji Eğitim Seminerleri Programı, Nitrik Oksitin Farmakolojisi, Seminer Özetleri. 19-21, Mersin.
- Arıncı K, Elhan A (1997).** Anatomi: Dolaşım Sistemi, Periferik Sinir Sistemi, Merkezi Sinir Sistemi, Duyu Organları, 2. Vol, 2. Ed., Ankara University, Medical Faculty, Anatomy Department, Güneş Kitapevi, Ankara, 275-278.
- Aston-Jones G, Chen S, Zhu Y, Oshinsky ML (2001).** A neural circuit for cardiac regulation of arousal. *Nat. Neurosci*, 4, 732-738.
- Aston-Jones G, Rajkowski J, Kubiak P (1994).** Locus coeruleus neurons in monkey are selectively activated by attended cues in a vigilance task. *J. Neurosci*, 14, 4467- 4480.
- Barreiro-Iglesias A, Villar-Cerviniño V, Anadòn R, Rodicio MC (2009).** Dopamine and γ -aminobutyric acid are colocalized in restricted groups of neurons in the sea lamprey brain: insights into the early evolution of neurotransmitter colocalization in vertebrates. *J Anat*, 215, 601-610.

- Berke JD, Hyman SE (2000).** Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*, 25, 515-32.
- Bowery NG, Smart TG (2006).** GABA and glycine as neurotransmitters: a brief history. *British J Pharmacol*, 147, 109-119.
- Bredt DS, Synder SH (1992).** Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8, 3-11.
- Breitenstein C, Flöel A, Korsukewitz C, Wailke S, Bushuven S, Knecht S (2006).** A shift of paradigm: From noradrenergic to dopaminergic modulation of learning. *J Neurological Sci*, 248, 42-47.
- Burette A, Zabel U, Weinberg RJ, Schmidt HH, Valtchanoff JG (2002).** Synaptic localization of nitric oxide synthase and soluble guanylyl cyclase in the hippocampus. *J Neurosci*, 22 (20), 8961-70.
- Burnstock G (1995).** Noradrenaline and ATP: co transmitter and neuromodulators. *J Physiol Pharmacol*, 46(4), 365-384.
- Chen S, Hillman DE (1993).** Colocalization of neurotransmitters in the cerebellar nuclei deep. *J Neurocytology*, 22, 81-91.
- Cooper JR, Bloom FE, Roth RH (2003).** The Biochemical Basis of Neuropharmacology, eight ed. Oxford Univ. Press, New York.
- Dun NJ, Dun SL, Wu SY, Forstmann U, Schmidt HHHW, Tseng LF (1993).** Nitric oxide synthase immunoreactivity in rat, cat and squirrel monkey spinal cord. *Neuroscience*, 54, 845-857.
- Dursun N (2000).** Veteriner Anatomi III, Medisan Yayinevi, Ankara.
- Eroglu E (2012).** Association between gamma aminobutyric acid (GABA) type B receptors gene polymorphisms and idiopathic generalized epilepsy. MSc. Thesis, METU.
- Ganong W (2005).** Review of Medical Physiology (22. edition). McGraw-Hill Companies, 928, Columbus, ABD.
- Girault JA, Greengard P (2004).** The neurobiology of dopamine signaling. *Arch Neurol*, 61 (5), 641-644.
- Halbach OB, Dermietzel R (2002a).** Neurotransmitters and Neuromodulators: Handbook of Receptors and Biological Effects: Neurotransmitters. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 40-107.
- Halbach OB, Dermietzel R (2002b).** Neurotransmitters and Neuromodulators: Handbook of Receptors and Biological Effects: Methods. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 19-36.
- Herdegen T, Rudiger S, Mayer B, Rodrigo B, Zimmerman M (1994).** Expression of nitric oxide synthase and colocalization with Jun, Fos and Krox transcription factors in the spinal cord neurons following noxious stimulation of the rat hindpaw. *Mol Brain Res*, 22, 245-258.
- Herlenius E, Lagercrantz H (2004).** Development of neurotransmitter systems during critical periods. *Experimental Neurology*, 190, 9-21.
- Johnston MV, Silverstein FS (1998).** Development of neurotransmitters. In: Polin RA, Fox WW (Eds.), Fetal and Neonatal Physiology. Saunders, Philadelphia, 2116 - 2117.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM (2000).** Principles of Neural Science. McGraw-Hill, United States, 1414.
- Klein BG (2008).** Sinaptik İletici ve Nörotransmitter Döngüsü: Kimyasal Maddelerin Nörotransmitter Olarak Tanımlanması. W.O. Reece (Ed.), S. YILDIZ (Translation Ed.), Dukes' Physiology of Domestic Animals (12. edition), Dukes Veteriner Fizyoloji (Turkish 1. edition), Cornell University Press, Medipres Matbaacılık; 767-796.
- König HE, Liebich HG (2007).** Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Text Book and Colour Atlas (Third Edition): General Anatomy of the Nervous System (Systema Nervosum), Schattauer, Germany, 1-48.
- Li J, Billiar TR (1999).** Nitric oxide IV. Determinants of nitric oxide protection and toxicity in liver. *Am Physiol Soc*, 276 (5), 1069-1073.
- Macnaughton WK (1998).** Expression, activity and cellular localization of inducible nitric oxide synthase in rat ileum and colon post-irradiation. *Int J Radiation Biol*, 74(2), 255-264.
- Malinski T (2007).** Nitric oxide and nitro-oxidative stress in Alzheimer's Disease. *J Alz Disease*, 11(2), 207-218.
- Marc DT, Ailts JW, Ailts Campeau DC, Bull MJ, Olson KL (2011).** Neurotransmitters excreted in the urine as biomarkers of nervous system activity: validity and clinical applicability. *Neurosci Biobehavioral Rev*, 35, 635-644.
- Mckee M, Scavone C, Nathanson JA (1994).** Nitric oxide, cGMP, and hormone regulation of active sodium transport. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 12056-12060, USA.
- Meller ST, Gebhart GF (1993).** Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, 52, 127-136.
- Miceli MO, Post CA, Kooy D (1987).** Catecholamine and serotonin colocalization in projection neurons of the area postrema. *Brain Res*, 412 (2), 381-385.
- Myhrer T (2003).** Neurotransmitter systems involved in learning and memory in therat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Rev*, 41, 268-287.
- Ninan PT (1999).** The functional anatomy, neurochemistry, and pharmacology of anxiety. *J Clin Psychiatry*, 60, 12-17.
- Patestas MA, Gartner LP (2006).** A Textbook of Neuroanatomy: Nörotransmitter Substances. *Blakwell Publishing*, 44-53.
- Platt SR (2007).** The role of glutamate in central nervous system health and disease review. *Vet J*, 173, 278-286.
- Raven PH, Johnson GB (1996).** Biology, McGraw-Hill, 4th Edition, USA.
- Ressler KJ, Nemeroff CB (2000).** Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depress Anxiety*, 12, 2-19.
- Robert PH, Benoit M (2008).** Neurochemistry of cognition: serotonergic and adrenergic mechanisms, in: G Goldenberg, BL Miller (Eds.), Handbook of Clinical Neurology, Neuropsychology and behavioral neurology, 3rd series, Vol. 88.
- Ruda MA, Besse D, Inagaki S, Deleon M, Ren K (1994).** Nitric oxide expression and regulation in the dorsal root ganglion and spinal cord. *Ann NY Acad Sci*, 738 (1), 181-190.
- Shah AJ, Crespi F, Heidbreder C (2002).** Amino acid neurotransmitters: separation approaches and diagnostic value. *J Chromatography B*, 781, 151 - 163.
- Sherwood L (2007).** Human Physiology: From Cells to Systems (6. edition). Brooks Cole, 912, ABD.
- Siegel A, Sapru HN (2006).** Essential Neuroscience Second Edition, Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Soyguder Z, Karadag H, Nazli M (2004).** Neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in ependymal cells during early postnatal development. *J Chem Neuroanatomy*, 27(1), 3-6.
- Svensson TH, Mathe' AA (2002).** Monoaminergic transmitter systems, In: HA D'Haenen, JA Den Boer, P Willner (Eds.), Biological Psychiatry, Wiley, Chichester, 45-66.
- Terenghi G, Riveros-Moreno V, Hudson LD, Ibrahim NBN, Polak JM (1993).** Immunohistochemistry of nitric oxide synthase demonstrates immunoreactive neurons in spinal cord and dorsal root ganglia of man and rat. *J Neurol Sci*, 118, 34-37.
- Traub RJ, Solodkin A, Meller ST, Gebhart GF (1994).** Spinal cord NADPH-diaphorase histochemical staining but not nitric oxide synthase immunoreactivity increase following carrageenan-produced hindpaw inflammation in the rat. *Brain Res*, 668, 204-210.
- Valtschanoff JG, Weinberg RJ, Rustioni A, Schmidt HHHW (1992).** Nitric oxide synthase and GABA colocalize in lamina II of rat spinal cord. *Neurosci Lett*, 148 (1-2), 6-10.
- Wu J, Lin Q, Lu Y, Willis WD, Westlund KN (1998).** Changes in nitric oxide synthase isoforms in the spinal cord of rat following induction of chronic arthritis. *Exp Brain Res*, 118, 457-465.
- Yetgin Ö (2014).** Method Development and Validation to Determine Neurotransmitters By Using HPLC, Abant İzzet Baysal University, Institute of Health Sciences, Department of Chemistry, Graduate Thesis, Bolu.
- Yılmaz AB, Yur F (2010).** Ratlarda deneysel akciğer fibrozisinde nitrik oksit oksidasyon ürünleri ve kan gazları düzeylerinin araştırılması. *YYU Vet Fak Derg*, 21 (3), 135 - 139.
- Zeyden M, Oldenzel WH, Rea K, Cremers TI, Westerink BH (2008).** Microdialysis of GABA and glutamate: analysis, interpretation and comparison with microsensors. *Pharmacol Biochem Behavior*, 90, 135-147.
- Zhang X, Verge V, Wiesenfeld-Hallin Z, Ju G, Bredt D, Synder SH, Hökfelt T (1993).** Nitric oxide synthase-like immunoreactivity in lumbar dorsal root ganglia and spinal cord of rat and monkey and effect of peripheral axotomy. *J Comp Neural*, 335, 563- 575.



VAN VETERINARY JOURNAL



Article Copyright Transfer Agreement Form

We, the undersigned researchers, certify that; the article we have sent; is original, wasn't sent to or disapproved of potential publication by any other journal, wasn't initially published, and we bear the responsibility concerning the Scientific content and Ethical values related to the article, and transfer any kind and form of copyright related to the Article to Van Veterinary Journal since it is published in the journal, and accept that we will not make any changes wholly or partly in the article and chose as the authorized researcher.

Title of the article:

.....
.....
.....

Authors Name	Date	Signature
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		

Authorized Researcher

Title, Name-Surname :

Full Address :

e- mail :

Tel, Fax :

Date and Signature :



Instructions for Authors

- 1- This journal is the publication of the Van Veterinary Journal and published three times a year. Abbreviated title of the journal is Van Vet J.
- 2- Original articles, observations reviews, pre-reports, scientific news, introduction of scientific books, news about the faculty, letters to editor written in Turkish and English especially in the field of Veterinary Science, Health and Life science subjects (Comprehend human and animal health) are published in this journal.
- 3- Papers are accepted for publications on the understanding that they have not been published and are not going to be considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors and copyright fee for authors is not paid. The article sent to the journal for publication will not be send back to authors even if it is not accepted for publication.
- 4- Papers send to the journal for publication written in Turkish or in English should contain abbreviation in the context of the International Writing Procedure and measurements should be expressed in the metric system or in SI units.
- 5- Papers should be submitted electronically via <http://vanvetderg.org> Submissions send to post are not accepted.
- 6- Papers submitted for publication should be written in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all edges. Including tables, figures and graphs; original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages.
- 7- Papers written in Turkish should include English summary and papers written in English should include Turkish summary. Summaries should not exceed 1000 words. Summary should include **Aim, Material and Method, Results and Conclusion**.
- 8- In the studies requiring Ethical Commission Approval; related documents should be sending via electronic submission which is present in our submission system.
- 9- Digital images (pictures, figures etc.) should be sending as TIFF or JPEG files format at a minimum resolution of 300 dpi. Digital images should not be replaced inside the main text. Of prints of the journal will be in black and white. But the images will be given in coloured in the electronic version of the journal.
- 10- **Copyright Transfer Agreement Form** which automatically sends to the authors by the submission system after acceptance of the Paper should be signed and posted to the Editorial Office of the journal.
- 11- Apart from tables and graphs all visual elements (Photographs, drawings, diagrams etc.) should be named as **figure**. Tables and graphs are named as it is.
- 12- Definitions and names of the figures, tables and graphs should be given both in **Turkish and English** in the text.
- 13- Original research articles should be lined up as; **English Heading, Author(s) name, author(s) address, Summary and key words** and then **Turkish heading, summary and key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgement or information** (if there is) and **References**.
- 14- References should be listed according to authors surname alphabetically. In the text; references should be written as surname of the author and the publication year (exp: Ceylan 2004; Ekin and Gurturk 2006; Isleyici et al. 2015). In the references section; short names of the journals should be written in the form approved by the [Web of Science](#). For references with more than 6 authors, only the first 3 authors should be listed, followed by 'et al.'. The references should be written as below:
Articles:
Isleyici O, Sancak YC, Sancak H, Yucel UM (2015). Determination of aflatoxin M1 levels in unpackaged sold raw cow's milk. *Van Vet J*, 26 (3), 151-155.
Ekin IH, Gurturk K, Ilhan Z, Arabaci C, Gulaydin O (2015). Detection of enzyme activities and their relation to serotypes of bovine and human group B streptococci. *J Med Microbiol*, 64, 985-989
Books:
Marrow DA (1986). Current Therapy in Theriogenology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
Books chapters:
Bahk J, Marth EH (1990). Listeriosis and Listeria monocytogenes. In: Foodborne Diseases, Cliver DO (Ed), pp: 248-256, Academic Press, San Diego.
Electronic Material: The name of the article and available web address and access date should be written.
Who (2006). Avian Influenza, February 2006, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/ Access date: 10 January 2009.
- 15- Keywords of Turkish articles should be selected from, **Turkish Science Term's web site** (<http://www.bilimterimleri.com/>).
- 16- Information about the publication expenses for accepted papers will be given to the author(s) after determining cost.
- 17- Copyright fee will not be paid to the author(s).

Correspondence: Prof. Dr. Nihat MERT (Editor)

Yuzuncu Yil Universitesi, Veteriner Fakultesi, Dergi Editorlugu, 65080-Kampus/Van/TURKEY
e-mail: vfd@yyu.edu.tr Phone: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 432 225 11 27