

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETÇİ PİLİÇLERE TEK BAŞINA VE İYONOFOR GRUBU
ANTİBİYOTİKLERLE BİRLİKTE VERİLEN ÜZÜM
ÇEKİRDEĞİNİN BAZI LİPİD PEROKSİDASYON,
HEMATOLOJİK PARAMETRELER İLE YEMDEN
YARARLANMA ÜZERİNE ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Mürsel KARABACAK**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN**

**Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Kasım 2008
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETÇİ PİLİÇLERE TEK BAŞINA VE İYONOFOR GRUBU
ANTİBİYOTİKLERLE BİRLİKTE VERİLEN ÜZÜM
ÇEKİRDEĞİNİN BAZI LİPİD PEROKSİDASYON,
HEMATOLOJİK PARAMETRELER İLE YEMDEN
YARARLANMA ÜZERİNE ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Mürsel KARABACAK**

**Tezi Yöneten
Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN**

**Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Kasım 2008
KAYSERİ**

Prof.Dr.Bilal Cem LİMAN Danışmanlığında **Mürsel KARABACAK** tarafından hazırlanan “**Etçi Piliçlere Tek Başına ve İyonofor Grubu Antibiyotiklerle Birlikte Verilen Üzüm Çekirdeğinin Bazı Lipid Peroksidasyon, Hematolojik Parametreler ile Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

26/11/2008

JÜRİ :

İmza

Başkan : Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN (Danışman)

Üye : Prof. Dr. Emine BAYDAN

Üye : Prof. Dr. Aydın ERENMEMİŞOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gökhan ERASLAN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat KANBUR

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve yazılmasında değerli katkıları ile en büyük desteği gördüğüm saygıdeğer hocam, Sayın Prof. Dr. Bilal Cem LİMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Gökhan ERASLAN, Yrd. Doç. Dr. Murat KANBUR, Uzm. Dr. Elçin BALCI, Vet. Hek. Zeynep SARICA, Vet. Hek. Şule ALTINORDULU, Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu 2007 yılı mezunları ve Leman KILINÇKAYA'ya da teşekkürlerimi sunarım.

**ETÇİ PİLİÇLERE TEK BAŞINA VE İYONOFOR GRUBU ANTİBİYOTİKLERLE
BİRLİKTE VERİLEN ÜZÜM ÇEKİRDEĞİNİN BAZI LİPİD PEROKSİDASYON,
HEMATOLOJİK PARAMETRELER İLE YEMDEN
YARARLANMA ÜZERİNE ETKİSİ**

ÖZET

Bu çalışmada iyonofor grubu ilaçlardan salinomisin, lasalosid ve maduramisinin etçi piliçlerde lipid peroksidasyon, bazı kan parametreleri, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine etkileri ile üzüm çekirdeğinin bu ilaçlarca oluşturulan istenmeyen etkileri üzerine koruyucu etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada toplam 96 etçi piliç kullanıldı. Her bir grupta 12 civciv olmak üzere 8 grup oluşturuldu. Kontrol grubu olarak tutulan birinci gruba herhangi bir ilaç ve yem katkısı içermeyen yem, ikinci gruba üzüm çekirdeği (% 0,5 oranında), üçüncü, dördüncü ve beşinci gruba sırasıyla salinomisin (60 ppm), lasalosid (100 ppm) ve maduramisin (5 ppm); altıncı gruba salinomisin (60 ppm) + üzüm çekirdeği (% 0,5), yedinci gruba lasalosid (100 ppm) + üzüm çekirdeği (% 0,5), sekizinci gruba maduramisin (5 ppm) + üzüm çekirdeği (% 0,5) 6 hafta süreyle yemle birlikte verildi. 21 ve 42. günlerde hayvanların kanat altı venasından heparinli tüplere kan örnekleri alındı. Taze kandan froti hazırlanarak hemoglobin, hematokrit değer ölçümü ve kan hücreleri sayımı yapıldı. Kalan kan örnekleri 3000 devir/d'da 10 dk santrifüj edilerek plazma ve eritrositlerine ayrıldı. Plazma örneklerinde MDA ve NO düzeyleri, eritrosit örneklerinde ise CAT ve GSH-Px enzim aktiviteleri belirlendi. Ayrıca 42. günde etçi piliçlerin canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranları belirlendi.

Çalışma sonucu, etçi piliçlere 42 gün süre ile % 0.5 oranında yeme katılarak verilen üzüm çekirdeğinin lipid peroksidasyon ve hematolojik parametreler üzerine herhangi bir olumsuz etkiye yol açmadığı; etçi piliçlere sağaltım dozlarında yeme katılarak verilen salinomisin, lasalosid ve maduramisinin 42 gün süreyle verilmede daha belirgin olmak üzere bazı lipid peroksidasyon parametrelerinde olumsuz değişimlere yol açtığı; üzüm çekirdeğinin salinomisin, lasalosid ve maduramisince şekillenen lipid peroksidasyon ve bazı hematolojik parametreler üzerine iyileştirici etkileri olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: Etçi piliç, iyonofor antibiyotik, lipid peroksidasyon, üzüm çekirdeği

**THE EFFECT OF GRAPE SEED WHICH ARE GIVEN ALONE AND WITH
IONOPHORES, ON SOME LIPID PEROXIDATION, HAEMATOLOGICAL
PARAMETERS AND FEED EFFICIENCY IN BROILER CHICKENS**

ABSTRACT

In this study, effects of salinomycin, lasalocid and maduramicin - medicines from ionophore group- on lipid peroxidation, some blood parameters, weight gain and feed efficiency in broilers and protective outcomes of grape seed against deleterious effects caused by these medicines are aimed to be determined.

In the study, totally 96 broilers have been used. 8 groups with 12 chicks in each group have been formed. Feed, not containing any medicine or any food additive has been given to 1st group, held as control group. Grape seed (% 0,5) has been given to 2nd group. 3rd, 4th and 5th groups have respectively been given salinomycin (60 ppm), lasalocid (100 ppm) and maduramicin (5 ppm); 6th group has been given both salinomycin (60 ppm) and grape seed (% 0,5) and 7th group has been given lasalocid (100 ppm) and grape seed (% 0,5) while maduramicin (5 ppm) and grape seed (% 0,5) have been supplied to 8th group together with feed during 6 weeks. On 21st and 42nd days, blood samples have been obtained from their underwing vena into heparinised tubes. By preparing smear from fresh blood, measurement of hemoglobin, hematocrit and blood cells counts have been conducted. Remaining blood samples have been centrifuged in 3000 rpm through 10 minutes and separated into their plasma and erythrocytes. MDA and NO levels in plasma samples and CAT and GSH-Px enzyme activities in erythrocytes samples have been determined. Besides, on 42nd day, weight gain and feed efficiency of broilers has been determined.

At the end of the study it is found that grape seed given to broilers during 42 days by adding to their feed in the rate of % 0.5 does not show any negative effect on lipid peroxidation and haematologic parameters; salinomycin, lasalocid and maduramicin given to broilers by adding to their feed in treatment cause notable negative changes in some lipid peroxidation parameters, especially on 42 days; grape seed has remedial effects on some lipid peroxidation and haematologic parameters induced by salinomycin, lasalocid and maduramicin ($p < 0,05$).

Key words: Broiler, ionophore antibiotics, lipid peroxidation, grape seed

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VIII
KISALTMALAR	X
 1. GİRİŞ VE AMAÇ	 1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İYONOFOR GRUBU ANTİKOKSİDİYAL İLA.LAR	3
2.1.1. İyonofor Grubu Antikoksidiyal İlaçların Etki Mekanizmaları	3
2.1.2. Lasalosid	4
2.1.2.1. Kimyası	4
2.1.2.2. Antikoksidiyal Spektrumu.....	5
2.1.1.3. Etki Şekli.....	5
2.1.1.4. Zehirliliği.....	5
2.1.3. Salinomisin.....	6
2.1.3.1. Kimyası	6
2.1.3.2. Antikoksidiyal Spektrumu.....	6
2.1.3.3. Etki Şekli.....	6
2.1.3.4. Zehirliliği.....	7
2.1.3.5. Kullanılması ve Dozları.....	7
2.1.4. Maduramisin.....	7
2.1.4.1. Kimyası ve Kaynakları	7
2.1.4.2. Etkisi.....	8
2.1.4.3. Kullanılması.....	8

	<u>Sayfa no</u>
2.2. OKSİDATİF STRES VE LİPİD PEROKSİDASYON	9
2.2.1 Serbest Radikaller	9
2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri	9
2.2.3. Süperoksit Radikali	9
2.2.4. Hidrojen Peroksit	10
2.2.5. Hidroksi Radikali	10
2.2.6 Singlet Oksijen	11
2.2.7. Serbest Oksijen Radikalleriyle Oluşan Doku Hasarı Mekanizmaları	11
2.2.8 Lipid Peroksidasyonu	12
2.2.8.2 Lipid Peroksidasyonunun Mekanizması	12
2.2.9. Malondialdehit	13
2.2.10 Nitrik Oksit	14
2.2.11 Lipid Peroksidasyonunun Sonuçları	15
2.2.12 Antioksidan Savunma Sistemleri	15
2.2.13 Enzimatik Savunma Sistemleri	15
2.2.14. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri	16
2.2.15 Süperoksit Dismutaz	16
2.2.16 Glutasyon Redoks Döngüsü	16
2.2.17 Katalaz	17
2.2.18 Glutasyon Peroksidaz	17
2.2.19 Lipid Peroksidasyon Olayının Belirlenmesi	17
2.3 Üzüm ve Üzüm Çekirdeği	18
2.3.1 Üzüm Çekirdeğinde Bulunan Biyolojik Etkin Maddeler	18
2.3.1.1 Proantosiyandinler	21
2.3.2. Üzüm Çekirdeğinin Kullanıldığı Alanlar	22
2.3.2.1. Üzüm Çekirdeği ve Kan basıncını Düşürücü Etkisi	22
2.3.2.2. Asetaminofenin Aşırı Dozunun Neden Olduğu Hepatotoksisite ve DNA Hasarına Karşı Korunmada Kullanılması	22
2.3.2.3. Üzüm Çekirdeği ve LDL Kolesterolü Düşürücü Etkisi	23
2.3.2.4 Üzüm Çekirdeği ve Kardiyoprotektif Özelliği	24
2.3.2.5 Üzüm Çekirdeği ve Pankreatit	24
2.3.2.6 Üzüm Çekirdeği ve Böbrek Koruyucu Özelliği	25

VIII

2.3.2.7 Üzüm Çekirdeğinin Antimikrobiyal Aktivitesi	25
2.3.2.8 Üzüm Çekirdeği ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı	25
2.3.2.9 Üzüm Çekirdeği ve Obezite	26
2.3.2.10 Üzüm Çekirdeği ve Kanser	26
2.3.2.11 Üzüm Çekirdeği ve Yara İyileşmesi.....	26
2.3.2.12 Üzüm Çekirdeği ve Oftalmoloji	26
2.3.3. Sonuçlar	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1 GEREÇLER	28
3.2. KİMYASALLAR	29
3.3. HAYVAN MATERYALİ	29
3.4. YEM İÇERİKLERİ	30
3.5. GRUPLAR	31
3. 6. KAN NUMUNELERİNİN ALINMASI	31
3.7. NUMUNE ANALİZLERİ	31
3.7.1 Hematokrit Değer Tayini	31
3.7.2 Kan Hücreleri Sayımı.....	32
3.7.3 Hemoglobın Tayini	32
3.7.4 Ferrosiyanomethemoglobın Metoduyla Hemoglobın Tayini	33
3.7.5. Plazma Malondialdehit Tayini	34
3.7.6. Nitrik Oksit Tayini	35
3.7.7. Katalaz Aktivitesi Tayini	36
3.7.8. Glutasyon Peroksidaz Tayini.....	38
3.8.İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. LİPİD PEROKSİDASYONUNA AİT BULGULAR	40
4.2. HEMATOLOJİK BULGULAR	43
4.3. CANLI AĞIRLIK ARTIŞI VE YEMDEN YARARLANMAYA İLİŞKİN BULGULAR	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
6. KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	

TABLO, ŞEKİL VE GRAFİK LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. Üzüm çekirdeğinin monomerik fenol miktarları	19
Tablo 3.1. Bazal rasyon içeriği	30
Tablo 3.2. Bazal Rasyondaki Besin Maddesi Oranları	30
Tablo 3.3. Yemlerin içindeki Antibiyotik ve Üzüm Çekirdeği Oranları	31
Tablo 3.4. Tablo Plazma MDA'in Tayini için çalışma şeması.....	34
Tablo 3.5. Katalaz aktivitesi tayini için çalışma şeması	37
Tablo 3.6. GSH-Px Çalışma Tablosu	39
Tablo 4.1. 21. gün MDA, NO düzeyleri ve CAT, GSHPX enzim aktiviteleri	42
Tablo 4.2. 42. gün MDA, NO düzeyleri ve CAT, GSHPX enzim aktiviteleri	43
Tablo 4.3. 21. gün HB ve HTC değerleri	45
Tablo 4.4. 42. gün HB ve HTC değerleri	45
Tablo 4.5. 21. gün Lökosit tipleri (%).....	46
Tablo 4.6. 42. gün Lökosit tipleri (%).....	46
Tablo 4.7. 42. günde canlı ağırlık (g), yem tüketimi (g) ve yemden yararlanma	48
Şekil 2.1. Lasalosidin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.2. Salinomisin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.3. Maduramisinin kimyasal yapısı	8
Şekil 2.4. Malondialdehitin kimyasal yapısı	13
Şekil 2.5. Polifenollerin kimyasal yapıları	20
Grafik 2.1. Çeşitli kimyasalların antioksidan etkisi.....	22
Grafik 4.1. Canlı ağırlık artışı ve yem tüketimi	48
Grafik 4.2. Yemden yararlanma.....	49

KISALTMALAR

CAT	: Katalaz
CD	: Konjuge dien
Cp	: Ceruloplazmin
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSPE	: Üzüm çekirdeği ekstraktı
GSSG-Rd	: Glutasyon redüktaz
G6PD	: Glutasyon -6- fosfat dihidrogenaz
HB	: Hemoglobin
HTC	: Hematokrit
LP	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
NO	: Nitrik oksit
SOD:	Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
TBA	: Tiyoarbitürik asit
TCAA	: Triklor asetik asit

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organizmada birçok hastalığa, ilaç ve diğer kimyasal maddelere maruziyetin sonucunda hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksitler gibi etkin oksijen grupları oluşmaktadır. Canlılarda serbest radikallerce DNA, proteinler ve hücre membranı gibi yapılarda şekillenen hasar, oksidatif stres olarak nitelendirilmektedir.

Günümüzde serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı çeşitli antioksidanların kullanımı yaygınlık kazanmaktadır. Üzüm çekirdeği de, antioksidan etkisi başta olmak üzere, çok yönlü biyolojik etkileri bulunan önemli bir besin takviyesidir. Yapılan araştırmalar üzüm çekirdeği ekstraktının hem invivo hem de invitro modellerde serbest radikallere karşı etkili bir koruma sağladığını ve oksidatif stresin organlarda oluşturduğu zararlı etkileri azalttığını ortaya çıkarmıştır.

Üzüm çok çeşitli ve kolay değerlendirme yöntemleri ve çok geniş iklim yelpazesinde yetişebilmesi nedeniyle dünyada en fazla üretilen meyvelerden biridir. Ülkemiz üzüm üretimi ve çeşit zenginliği bakımından dünyanın sayılı ülkeleri arasında yer almaktadır. Ticari olarak üzümler sofralık, kurutmalık, şaraplık ve meyve suyu yapımı olmak üzere 4 ana grupta işlenebilirler. Bu ürünlerin çoğunda üzümün sadece suyundan yararlanılmaktadır. Oysa üzümdeki fenolik maddelerin çoğu kabuk ve çekirdek kısmında yer almaktadır. Üzüm suyunun alınması ile posa atık olarak ortaya çıkmakta ve çoğu zaman hiç değerlendirilmeden çöpe atılmaktadır.

İyonofor antibiyotikler kanatlı yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara yol açan koksidiyoz sağaltımında, koksidiyostat ve koksidiyosid tipte etkinliğe sahip olmaları ve dirençli koksidi suşlarının ortaya çıkmasını nispeten uzun bir süre önleyebilme özellikleri nedeniyle sıklıkla tercih edilen ilaçlardır. İyonoforlar çeşitli metallerle yağda çözünebilen ve böylece biyolojik zarlardan geçişlerini kolaylaştıran bileşikler oluştururlar. Karboksilik iyonoforlar olarak da bilinen bu gruptaki bileşikler, hedef hayvanlarda doğru biçimde kullanıldıklarında son derece güvenli iken, özellikle bazı hayvan türleri için son derece zehirlidirler. Bu ilaçlar bir ve/veya iki değerli metal iyonları ile yağda kolay çözünen, hücre zarından kolayca geçebilen, yükseltgenme olaylarının hızlanmasına ve böylece etkin oksijen gruplarının açığa çıkmasına yol açan bileşikler şekillendirirler. Şekillenen etkin gruplar özellikle kalp ve iskelet kasları başta olmak üzere, doku ve organlarda dejenerasyon ve nekroza yol açar.

Bu çalışmada etçi piliçlerde tek başına verilen iyonofor grubu ilaçların lipid peroksidasyonu, bazı kan parametreleri, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma üzerine etkilerinin belirlenmesi; üzüm çekirdeğinin (*Vitis vinifera*) bu ilaçlarca oluşturulan istenmeyen etkileri üzerine koruyucu etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İYONOFOR GRUBU ANTİKOKSİDİYAL İLAÇLAR

Polieter antibiyotikler 1950’li yılların başlarında keşfedilmiş ve antikoksidial etkileri 1960’ların sonlarında fark edilmiştir. Geniş etki spektrumları ve diğer kimyasallara karşı direnç gelişimi iyonoforlara keşiflerinden hemen sonra kanatlı sektöründe çok geniş bir kullanım alanı açmıştır (1).

2.1.1. İyonofor Grubu Antikoksidial İlaçların Etki Mekanizmaları

Kanatlılarda tüketilen rasyonun mineral içeriğiyle iyonofor antikoksidial ilaçların etkinliği arasında özel bir ilişki vardır. Bu gruptan ilaçların antikoksidial etkinliği çözünmüş minerallerin koksidi hücrelerine taşınması temeline dayanır. İyonoforların etkinliğiyle koksidi hücreleri o denli fazla iyon alırlar ki sonuçta aşırı iyon yüklenmesine bağlı olarak ölürler (2).

İyonoforlar iyon taşıma özelliklerine göre üç gruba ayrılırlar:

1. Nötr iyonoforlar: Elektrogenik ya da elektrofoterik taşıyıcılar olarak da bilinen bu grup bileşikler (valinomisin, naktinler, siklik esterler vb.) iyonize olabilir fonksiyonel gruplardan oksundur.

2. Kanal (por) oluşturan iyonoforlar: Biyolojik membranlarda iyonik boyutlarda taşıyıcı kanallar oluştururlar (gramsidin, alamektin, nistatin, amfotersin B). Bu kanallar iyonlara karşı seçici değildirler.
3. Karboksilik iyonoforlar: Oksijenli bir heterosiklik halkayla karboksil gibi açık zincirleri içerirler. Koksidiyozise karşı kullanılan bu bileşikler iyonlara karşı seçicidir. Monensin, narasin ve salinomisin Na^+ ve K^+ gibi monovalan; lasalosit ve maduramisin ise Ca^{++} ve Mg^{++} gibi divalan iyonlarla kombine olurlar (3).

Karboksilik iyonoforlar iyon girişini kolaylaştırarak koksidiyoz etmenlerinde aşırı iyon yüklenmesi sonucu koksidiyostat ve koksidiyosid etki oluştururlar. Bu grup bileşikler özellikle Gram + ve Gram – jermeler üzerinde de antibakteriyel etkinliğe sahiptirler. Ne var ki antibakteriyel ajan olarak terapötik indeksleri oldukça dardır (3).

Etçi piliç yetiştiriciliğinde koksidiyozise karşı koruyucu ve tedavi edici amaçla düşük derişimlerde (5–125 ppm) yeme karıştırılarak kullanılan bu bileşiklerden monensin ve salinomisin büyük gevişenler ve domuzda gelişme artırıcı amaçla da kullanılırlar. Sindirim kanalında laktat üreten (özellikle *S. bovis*) bakterileri inhibe eder, laktatı propiyonata dönüştüren bakterileri etkimezler (3).

Monensin genç ruminantlarda propiyonik asit üretimini stimüle ederek enerji sağlar; yemden yararlanımı (%10–15) artırır ve metan üretiminden kaynaklanan enerji kaybını azaltır (3).

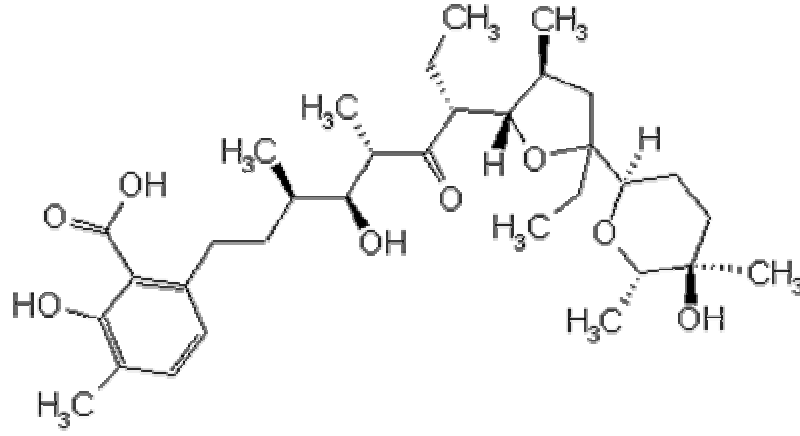
Etçi piliç yetiştiriciliğinde (yumurta tavuklarında kullanılmazlar) koksidiyozis olasılığına karşı sürekli olarak kullanılan bu bileşiklerin en önemli dezavantajı, eşzamanlı olarak kullanılan antibakteriyel ilaçlarla etkileşmeden kaynaklanmaktadır (3-6).

2.1.2. Lasalosid

2.1.2.1. Kimyası

Kimyasal yapı yönünden monensinle ilişkisi olan bu antibiyotik, *Streptomyces lasaliensis*'in mayalanma ürünüdür. Tavukçuluk sektöründe Avatec ticari adıyla da tanınan bu iyonofor antibiyotik, suda çözünmeyen tuzu sarı renkli bir tozdur. Lasalosid pratikte daha çok sodyum tuzu halinde kullanılır. Lasalosid sodyum kanatlı yemlerine kolaylıkla karıştırılabilir ve yem ortamında nispeten dayanıklı bir katkı maddesi niteliği

taşıır. Normal koşullarda 18 ay süreyle ön karışım veya yem içerisinde etki kaybına uğramadan kalabilir (1,2).



Şekil 2.1. Lasalosidin kimyasal yapısı

2.1.2.2. Antikoksidial Spektrumu

Lasalosid sodyum kanatlılarda koksidiyoz enfeksiyonuna sebep olan bütün koksidi türlerini etkileyebilen geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Ancak *E. acervulina* üzerine etkisi diğerlerine karşı olanla kıyaslanamayacak derecede zayıftır (2).

2.1.2.3. Etki Şekli

Lasalosid Sodyum diğer antibiyotiklerden farklı bir iyonik etkiye sahiptir. Monovalan iyonlara olduğu kadar divalan iyonlara da etki gösterir. Dolayısıyla parazit hücresine öldürücü yoğunluklarda kalsiyum ve magnezyum taşınmasına aracılık eder. Bu özelliği nedeniyle de, lasalosid sodyum pratikte diğer antikoksidial ilaçlarla rotasyon programına elvermesi bakımından, iyonofor grubu ilaçlar arasında ayrı bir öneme sahiptir (2, 7).

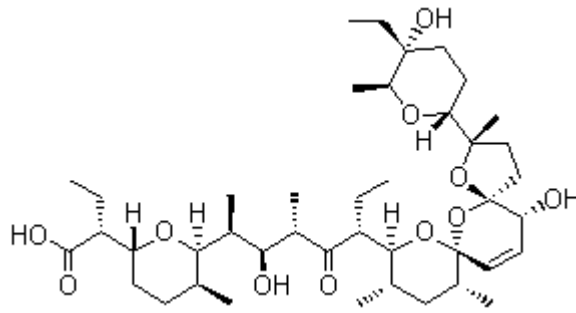
2.1.2.4. Zehirliliği

Lasalosid sodyum normal sağaltım dozlarında poliyeter iyonofor antibiyotikler içerisinde en az toksik eltili olanıdır. Bununla beraber, divalan katyonların metabolizması üzerinde etkili olduğundan, yüksekçe dozları aşırı su kaybına yol açabilir. Bu da genellikle bir sorun olarak değerlendirilmesine yol açabilir (8,9).

2.1.3. SALİNOMİSİN

2.1.3.1. Kimyası

Coxistac ve Biocox ticari adıyla da tanınan salinomisin (salinomycin) *Streptomyces albus* kültür ortamından elde edilen polieter karboksilik asit yapılı bir antibiyotiktir (8). Baz halinde antibiyotik suda çözünmeyen organik çözücülerin çoğunluğunda çözünen beyaz veya donuk sarı renkli bir tozudur. Genellikle ticarete sodyum tozu halinde kullanılır. Salinomisin sodyumda normal pH'da suda çözünmeyen beyaz kristalize tozudur (1,2).



Şekil 2.2. Salinomisinin kimyasal yapısı

2.1.3.2. Antikoksidial Spektrumu

Salinomisin geniş antioksidial etki spektrumuna sahip olan bir antibiyotiktir. Kümes hayvanlarında sekal ve intestinal koksidioza sebep olan başlıca *E. Tenella*, *E. Necatrix*, *E. Maxima*, *E. Acervulinea* ve *E. brunetti* üzerinde güçlü antioksidial etkisi vardır. Salinomisin sıralanan koksidioz etkenlerinden ileri gelen bireysel enfeksiyonlara karşı olduğu kadar karışık enfeksiyonlar üzerinde de etkili olur (1, 2).

2.1.3.3. Etki Şekli

Salinomisin hem koksidyostat ve hem de koksidyosid etkili bir antibiyotiktir. Antioksidial etki mekanizması iyonofor etkinliğiyle parazit hücrelerine öldürücü yoğunlukta sodyum ve potasyum iyonlarının taşınmasına aracılık etmesinden kaynaklanır. Salinomisin koksidyosid etkinliği çeşitli belirtilerle enfeksiyonun ortaya çıkmasıyla birlikte başlar. Bu aşamada konakçı hayvanın barsak mukozasına yerleşen sporozoit, tropozoit ve şizontları (1. kuşak şizontlar) yok edilmesiyle tamamlanır. Belirtilen etki özelliği nedeniyle salinomisin duyarlı koksidi türleri üzerinde dönüşümsüz güçlü ve güvenilir bir etki meydana getirir (1, 2).

2.1.3.4. Zehirliliği

Öngörülen sağaltım dozlarında kullanılan salinomisin kümes hayvanlarında kayda değer bir toksisite riski yaratmaz. Ancak aşırı dozda kullanıldığında diğer iyonofor grubu antikoksidiyallere benzer şekilde konakçı organizmasında aşırı iyon taşınmasına yol açması, aşırı su kaybı, çok yönlü verim düşüklüğü ve altıkların fazla ıslanması gibi sakıncaları vardır (1, 2).

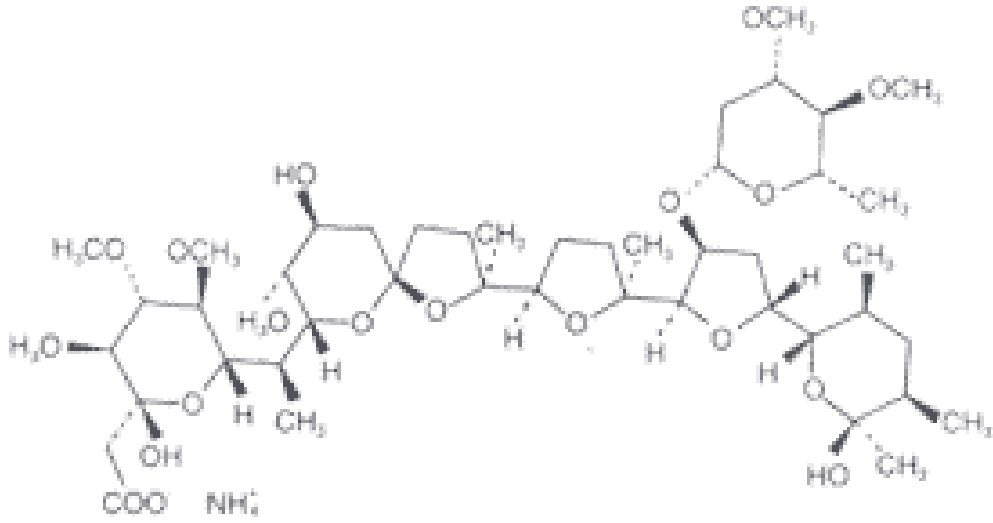
2.1.3.5. Kullanılması ve Dozları

Farklı deneysel koşullarda yapılan karşılaştırmalı etkinlik testleri sonucunda şekillenmiş basit ve karışık enfeksiyonların sağaltımı yönünden salinomisin monensin, klopidol, robenidin, halofuginon, zoalen ve amprulium kombinasyonlarından daha etkin bulunmuştur. Koruyucu etkinlik yönünden de aynı üstünlüğün geçerli olduğu belirlenmiştir. Canlı ağırlık kazancı, hastalanma ve ölüm oranları ile yemden yararlanma ve yem tüketimi seçenekleri esas alınarak yapılan karşılaştırmalı deneysel çalışmalarla da enfeksiyonun söz konusu olmadığı durumlarda salinomisinin belirtilen yönlerde herhangi bir olumsuz etki yapmadığı gibi tersine yemden yararlanma ve canlı ağırlık kazanma oranları üzerinde daha belirgin olumlu etki yaptığı saptanmıştır. Salinomisin sıralanan olumlu yönlerinden yararlanılarak et-tipi piliç yemlerinde koksidiyoza karşı koruyucu ve canlı ağırlık aşısı sağlamak amaçlarıyla karma yemlere 60–66 ppm derişimlerinde katılmak suretiyle sürekli verilir. Ancak aynı amaçla diğer kanatlılarda kullanılmaz (1, 2).

2.1.4. MADURAMİSİN

2.1.4.1. Kimyası ve Kaynakları

Maduramisin *Actinomadura yumaense* adlı küf mantarının kültür ortamından biyosentez yoluyla elde edilir. Ticarete maduramisin amonyum halinde bulunur (1,7) .



Sekil 2.3. Maduramininin kimyasal yapısı

2.1.4.2. Etkisi

Bu antibiyotik duyarlı koksidi etkenlerinde özellikle sodyum ve potasyum iyonlarını bağlayarak parazitlerin hücre zarından taşınmasını kolaylaştırır. Antioksidial etkinliği koksidilerin gelişme dönemlerinin erken evresinde gelişir. Sporozoit trofozoit ve merozoitlerin gelişmesini durdurarak hızlı ölümlerine yol açar. Genellikle sürekli tüketen hayvanlara yönelik sağaltım indeksi dar bir ilaç konumundadır (2).

2.1.4.3. Kullanılması

Karma yemlere 12,5 ppm derişiminde katılarak sürekli verildiğinde gelişme geriliğine yol açabilir. Duyarlı koksidilerde ilaca karşı dirençli suşlar ortaya çıkabilir. Diğer maddelerle de geçimli olan maduramisin etin aromasını bozmaz. Kanatlılarda karşılaşılan başlıca koksidiyoz etkenleri bu ilaca karşı duyarlıdır. Aynı etkenlere karşı diğer iyonoforlardan 12–24 katı daha güçlü antioksidial etki getirdiği kaydedilmektedir. İlaç özellikle et tipi piliçlerde koksidiyoza karşı koruyucu amaçla yeme 5 ppm derişiminde katılıp sürekli verilir. Kitlel olarak yetiştirilen et tipi piliç yetiştiriciliğinde dirençli koksidi suşlarının önlenmesi amacıyla uygulanan mekik ve döndürme programlarına en uygun olan ilaç çeşitlerinden biri konumundadır. Maduramisin verilen et tipi piliçlerde kesimden bir hafta önce ilaç verilmesi durdurulmalıdır (2).

2.2. OKSİDATİF STRES VE LİPİD PEROKSİDASYON

2.2.1 Serbest Radikaller

Serbest radikal terimi, bir birim gibi davranan, radikal olmayan bileşiklerin elektron kaybetmesi ya da kazanması ile meydana gelen atom grupları için kullanılır (10). Serbest radikaller bir ya da daha fazla sayıda paylaşılmamış elektron içeren olgulardır (11). Serbest radikaller ayrıca, radikal olmayan molekülleri redükleyerek radikal haline çevirebilir (12).

2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri

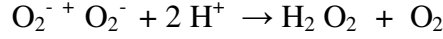
Moleküler oksijen (O_2), spinleri aynı yönde paylaşılmamış iki elektron taşıdığından, kararsız yapıdadır. Bu nedenle O_2 dışardan elektron alarak kararlı bir hale dönmeye çalışır. Aerobik canlılarda, moleküler oksijenin % 90'dan fazlası mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi ile dört elektron alarak tamamen suya redüklenmektedir (12). Ancak oksijenin kısmi redüksiyonu, süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^\cdot$) gibi serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin oluşmasına yol açmaktadır. Ayrıca, oksijenin aynı spinli paylaşılmamış elektronlarının uyarılmasıyla da singlet oksijen (1O_2) oluşur (13).

2.2.3. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali (O_2^-), oksijenle yaşayan tüm canlılarda oluşmaktadır (13). Oksijen bir elektron kazandığında süperoksit radikaline veya elektronla beraber bir de proton aldığında hidroperoksi radikaline ($HO_2^\cdot$) dönüşür (13, 14). Bu radikal nötral pH'da hemen hemen tamamı ile süperoksit radikali şeklindedir (13).

Süperoksit radikali başlıca mitokondri ve mikrozomlarda gerçekleşen biyolojik oksidasyonlar sırasında; fagositik hücrelerde solunum patlaması sırasında, ksantin oksidaz gibi bazı enzimlerin katalitik aktiviteleri ve bazı oksidasyon reaksiyonları sırasında üretilmektedir. Bu endojen kaynakların yanı sıra, hiperoksi durumu, radyasyon gibi dış etkenler de süperoksit radikali üretimine yol açabilirler (15).

Hem redüktan hem de oksidan rol oynayabilen (O_2^-), oksidan gibi davrandığında, bir proton ve bir elektron kazanarak (H_2O_2)'e redüklenirken; redüktan gibi davrandığında, bir elektron kaybederek oksijene oksitlenmektedir (15). Dismutasyon adı verilen bu reaksiyonda, iki süperoksit radikalinden biri oksitlenirken, diğeri indirgenmekte ve böylece H_2O_2 ve O_2 oluşmaktadır (15):



Dismutasyon tepkimesi, spontan ve ya süperoksit dismutaz (SOD) ile enzimatik olarak gerçekleşebilir (13).

Süperoksit radikali, bir dizi tepkimeyle alkoksi radikaller ($\text{RO}^\cdot$), tiyol radikalleri ($\text{RS}^\cdot$), hidroksil radikali ve singlet oksijen gibi başka organik radikallerin de oluşmasına neden olur (10).

Spesifik bir kanal bulunduğunda hücre zarından geçebilen O_2^- (15), biyolojik membranların yapısında bulunan fosfolipidlerdeki ester bağlarının karbonil grupları üzerine nükleofilik etki yaparak, membran hasarına yol açmaktadır (14).

2.2.4. Hidrojen Peroksit

Oksijen, iki elektron ve iki proton aldığında H_2O_2 oluşur. Biyolojik sistemlerde, H_2O_2 oluşumuna yol açan birçok mekanizma vardır: Peroksizomal enzimler olan flavoprotein içeren aerobik dehidrogenazlar, O_2^- 'nin spontan veya enzimatik dismutasyonu, glukoz oksidaz reaksiyonu, solunum patlaması, mitokondrial ve mikrozomal elektron transport sistemleri, önemli birer H_2O_2 kaynağıdır (16).

Hücre membranlarından kolayca geçebilen H_2O_2 , membran hasarında ve buna bağlı olarak doku harabiyetinin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır (15).

2.2.5. Hidroksi Radikali

H_2O_2 'nin daha ileri redüksiyonu, en aktif ve en toksik oksijen radikali olarak bilinen hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) radikali oluşumuna yol açmaktadır. Biyolojik sistemlerde $\text{OH}^\cdot$ oluşumu, iki yolla gerçekleşebilir (13):

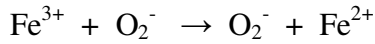
a) Fenton reaksiyonu: Hücre içi H_2O_2 , belirli bir düzeye ulaştığında, demir (Fe), bakır (Cu) gibi geçiş metallerinin katalitik etkisiyle, $\text{OH}^\cdot$ oluşumuna yol açar (16).



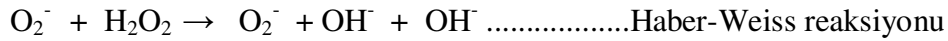
Bakır tuzu, demir tuzuna göre daha büyük bir hız sabitiyle H_2O_2 ile reaksiyona girerek $\text{OH}^\cdot$ oluşturabilir (14):



b) Haber- Weiss reaksiyonu: süperoksit radikali, **geçiş** metallerinin katalitik etkisiyle OH^- radikaline dönüşebilir (16):



.....



Son derece aktif olan OH^- başka radikallerle reaksiyona girebilmekte; karbon zincirlerinden H atomu çıkararak organik radikallerin ($\text{R}^\cdot$) oluşumuna yol açmakta ya da aromatik halka veya çift bağlara katılarak, yeni toksik ürünler oluşturmaktadır (17).

Biyolojik membranlar, enzimler, nükleik asitler ve polisakkaritler üzerinde toksik etki yapabilen OH^- , çeşitli doku hasarlarına yol açmaktadır (14).

2.2.6 Singlet Oksijen

Serbest oksijen radikalleri (O_2^- , H_2O_2 , OH^-) moleküler oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşurken; singlet oksijen ($^1\text{O}_2$), moleküler oksijenin uyarılmasıyla açığa çıkmaktadır (24). İki tip singlet oksijen vardır (16):

- a) Delta singlet oksijen ($\Delta^1\text{O}_2$):** Enerji absorpsiyonu ile uyarılan elektronlardan birisi, bir üst enerji düzeyine yön değiştirerek geçtiğinden, iki elektron aynı orbitalde ve spinleri birbirine zıt yöndedir. Diğer orbital boştur.
- b) Sigma singlet oksijen ($\Sigma^1\text{O}_2$):** İki elektron ayrı orbitallerde olup, spin yönleri birbirine zıttır.

İn vivo şartlarda, $^1\text{O}_2$; süperoksit radikallerinin spontan dismutasyonu, Haber-Weiss reaksiyonu ve myeloperoksidaz antimikrobial sistemi tarafından üretilmektedir (15).

Singlet oksijen, paylaşılmamış elektronları olmadığından C-C bağlarıyla reaksiyona giren ve oksijenlenmiş ürünler oluşturan güçlü bir elektrofildir (16).

2.2.7. Serbest Oksijen Radikalleriyle Oluşan Doku Hasarı Mekanizmaları

Oksijenle yaşayan tüm canlılarda, normal metabolizma sırasında serbest oksijen radikali oluşumu kaçınılmazdır. Bu nedenle, mitokondrial elektron taşıma zinciri, mikrozomal sistem, fagositoz, peroksizomal ve diğer bazı sitozolik enzim aktiviteleri, SOR'un endojen kaynaklarını oluştururlar (18).

Diğer taraftan, hiperoksi durumu, iskemi, yangı, ağır egzersiz, aromatik hidrokarbonlar, fotokimyasal maddeler, antineoplastik ajanlar, antibiyotikler, sigara, anestezikler, radyasyon ve hava kirliliği gibi çevresel faktörler, SOR'un ekzojen kaynaklarıdır (15,16). Ekzojen kaynaklar ya serbest radikal şeklinde etki yapabilmekte ya da hücre içi metabolizma ve detoksifikasyon sırasında radikallere çevrilebilmektedir (19). Canlı organizmalar bu endojen ve ekzojen kaynaklı radikallere karşı biyolojik bütünlüklerini koruyabilmek için, birçok savunma mekanizması geliştirmişlerdir (20). Bununla birlikte, antioksidan savunma sistemleri ile SOR arasındaki dengenin bozulmasıyla, aşırı miktarda üretilen serbest radikaller, enzimler ve diğer çeşitli proteinler, nükleik asitler, polisakkaritler ve membranlar üzerinde toksik etkiler yaparak, çeşitli hücre ve dokularda hasara neden olmaktadır (15,16). Oksidatif hücre hasarı bakımından, membran lipidlerinin oksidasyonu, büyük önem taşımaktadır (21).

2.2.8 Lipid Peroksidasyonu

Membran yapısında yer alan poliansatüre yağ asitlerinin, serbest radikaller tarafından, peroksitler, alkaller, hidroksi yağ asitleri, etan, ve pentan gibi çeşitli ürünlere yıkılmasına lipid peroksidasyonu (LP) denir (22). Biyomembranlar ve subselüler organellerde meydana gelen LP, serbest radikallerin tümü tarafından indüklenebilir. Ancak redoks katalisti olarak görev yapan metallerin varlığı, bu indüksiyonu daha da güçlendirmektedir (14). Geçiş metallerinin katalitik etkisiyle (Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları), O_2^- ve H_2O_2 'den oluşan OH^- radikalleri, LP'de rol oynayan en aktif radikallerdir (12, 23).

2.2.8.1 Lipid Peroksidasyonunun Mekanizması

Biyomembranlarda serbest radikallerle indüklenen LP, başlama, yayılma ve sonlanma reaksiyonları şeklinde değerlendirilir (22, 23).

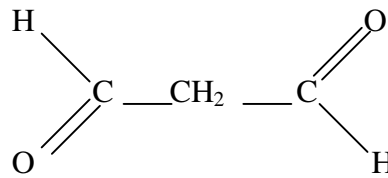
Başlama: Peroksidasyonun başlaması için Fe, Cu gibi bir geçiş metalinin varlığı gereklidir (15, 16). Serbest radikal tarafından, poliansatüre yağ asitlerinin metilenik karbonlarından hidrojen atomunun çıkarılmasıyla, LP başlar ve ilk olarak karbon merkezli lipid radikali ($L^\cdot$) oluşur (22). Bu radikal ve yağ asidi yapısındaki çift bağlar, yeni bir moleküler düzenleme ile kojugé dien (CD)'leri oluştururlar. Moleküler O_2 ile reaksiyona giren CD'ler de, lipid peroksi radikali ($L-OO^\cdot$) ve lipid endoperoksitlerinin oluşumuna neden olurlar (22, 23).

Yayılma: Peroksi radikali ($L-OO^\cdot$), kendisine komşu diğer lipid molekülünden hidrojen atomu çıkarmak için atak yaparak yeni bir $L^\cdot$ oluşturur. Böylece yan zincirlerden her hidrojen atomu çıkarıldığında, yeni lipid hidroperoksitleri ve peroksi radikalleri oluşacaktır. Peroksidasyon bir kere başladıktan sonra otokatalitik olarak yayılmakta ve pek çok yağ asidi zinciri lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir (22, 23).

Sonlanma: Lipid hidroperoksitleri, demir ya da diğer metal komplekslerinin varlığında, siklik peroksitler ve endoperoksitler üzerinden, çeşitli ürünlere yıkılmaktadır (24). Çoğu biyolojik olarak aktif olan bu ürünler, $ROOH$, $RCOOH$, ROH ve $RCOH$ gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitleri ile etan ve pentan gibi hidrokarbon gazlarıdır. Çok sayıda çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) oluşumuna yol açmaktadır (15, 22). LP sırasında oluşan ürünler arasında CD, MDA ve organik hidroperoksit seviyeleri kantitatif olarak ölçülebilmekte ve peroksidasyon oluşumunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (24).

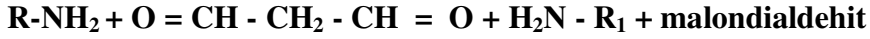
2.2.9. Malondialdehit

Perokside olmuş lipidlerde oluşan en önemli aldehit bileşiklerinden biri olan malondialdehit, kısa zincirli bifonksiyonel bir aldehittir (Şekil 2. 4). Prostaglandin biyosentezinin bir ürünü ya da oksidatif stress esnasında bazı makromoleküllerin iyonizan radyasyon ile in vivo yıkımlanması ile oluşan malondialdehit, çeşitli doku elemanları ile kompleks halde ya da sebest bir formda bulunabilir. Bununla birlikte en büyük kaynağı ansatüre olmuş yağ asitleri oluşturur. Doymamış yağ asitlerinin yapısındaki molekül içi yeniden yapılanma ve endoperoksitlerin yıkımı esnasında malondialdehit oluşturulur (25, 26).



Şekil 2.4. Malondialdehitin kimyasal yapısı

Malondialdehit iki amino grubu ile bir Schiff bazı vermek üzere reaksiyona girer.



Proteinlerin bu şekilde çapraz bağlanması enzimleri inaktive eder ve seroid, lipofuksin veya yaşlılık pigmenti gibi adlarla bilinen yüksek molekül ağırlıklı flouresan agregatlar oluşturur. Malondialdehit aynı çapraz bağlamaları fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin veya proteinlerle yapıp membran yapısını bozar. DNA ile flouresan ürünler vererek birleşir. Malondialdehitin biyolojik moleküllerle çapraz bağ yapmasıyla oluşan Schiff bazının flouresansı, lipid peroksidasyon tayini için kullanılmaktadır (27).

Lipid peroksidasyon ile oluşan diğer bir grup toksik bileşik 4-hidroksialkenallerdir. 4-hidroksinonenal bu grubun ana bileşenidir, ancak az miktarda 4,5 - dihidroksidekanal ve benzerleri de oluşur. Bu bileşikler glutasyon ile reaksiyona girer, fakat proteinlerin sülfidril gruplarına karşı çok daha reaktiftirler. Bu bileşikler, malondialdehit ile birlikte, membrandaki lipid peroksidasyonunu tüm hücreye taşıyabilme özelliği gösterirler (28).

Malondialdehit reaktif oksijen türlerinin hücresel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun en önemli belirtici olarak kabul edilmektedir (29).

2.2.10 Nitrik Oksit

1980 yılında “endotel kaynaklı gevşeme faktörü” olarak tanımlanan molekülün, 1987 yılında nitrik oksit molekülü olduğu gösterilmiştir. Nitrik oksit sentaz enzimlerinin memeli dokularındaki yaygın dağılımının keşfi, radikal yapıdaki bu gaz molekülünün biyolojik etki ve fonksiyonlarının tanımlanması yönündeki araştırmaları hızlandırmıştır (30).

Nitrik oksit muskarinik veya histamin reseptörleri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz etkisiyle sentezlenir. Nitrik oksit çok sayıda hayati fonksiyonların kontrolünde görev alan bir molekül olup, hücresel fonksiyonların denetiminde otokrin ve parakrin etkilere sahiptir. Önceleri endotel damar düz kasları arasında bir sinyal molekülü olarak tanımlanan nitrik oksidin, daha sonra düzenleyici, koruyucu ve sitotoksik etkileri de belirlenmiştir. Nitrik oksit vücudumuzda hangi etkileri göstereceği, ortamdaki kendi derişimiyle ilgilidir; düzenleyici ve koruyucu etkileri, nitrik oksidin doğrudan biyomoleküllerle etkileşimi sonucu gerçekleşirken, toksik etkilerinden nitrik oksidin kendiliğinden oksidasyonu sonucu

oluşan reaktif türler sorumludur. Nitrik oksit dayanıklı olmayan, potansiyel olarak toksik, hücre membranlarını kolayca geçebilen diatomik bir serbest radikal özelliği taşır. Diğer radikal türlerinin aksine nitrik oksidin stabilitesi fazladır, bu özelliği sebebiyle sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere diffüze olabilir. Nitrik oksit oksijenle birleşerek, dokular için son derece zararlı bir radikal olan peroksinitrit'e dönüşür. Fizyolojik bir haberci olarak sinir, immün ve kardiyovasküler sistemlerde önemli bir düzenleyici olduğu düşünülen nitrik oksidin, normal fonksiyonlara aracılık etmesinin yanı sıra septik şok, hipertansiyon, felç ve nörodejeneratif hastalıklar gibi patofizyolojik olaylarda da rolü olduğu gösterilmiştir (30-32).

2.2.11 Lipid Peroksidasyonunun Sonuçları

Peroksidasyonla açığa çıkan lipid hidroperoksitleri, peroksit radikalleri ve bunlardan oluşan ürünler, tıpkı SOR gibi, aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, toksik etkilerini göstermektedirler (15). Membran yapısındaki proteinlerle etkileşime girebilen bu ürünler, proteinlerin çapraz bağlanmasına ve agregasyonuna neden olmakta; böylece membran permeabilitesini artırarak, hücrenin iyon dengesini bozmakta, membran akışkanlığını azaltmakta, membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna yol açmaktadır. Ayrıca mitokondri, mikrozom gibi subselüler organellerin fonksiyonlarını da bozan bu ürünler, hücresel bütünlüğün kaybolmasına neden olurlar (21-22). En toksik peroksidasyon ürünlerinden olan MDA, yukarıda verilen toksik etkilerin yanı sıra, kolay diffüze olabildiğinden, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girmekte ve DNA zincirinde mutasyonların oluşmasına neden olmaktadır (12,23).

2.2.12 Antioksidan Savunma Sistemleri

Organizmalar, serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı kendilerini koruyabilmek için bir çok savunma mekanizmasına sahiptirler (6,10,11). Antioksidan savunma sistemleri, enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere başlıca iki büyük grupta toplanabilirler (33,34).

2.2.13 Enzimatik Savunma Sistemleri

Süperoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), myeloperoksidaz (MPO), glutasyon redüktaz (GSSG-Rd), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve seruloplazmin (Cp) gibi antioksidan enzimleri içermektedir (21).

2.2.14. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri

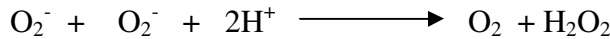
Alfa-tokoferol ve karotenoitler gibi lipofilik antioksidanlar ile askorbik asit, redükte glutasyon, glukoz, bilirubin, transferrin ve albumin gibi hidrofilik antioksidanlardan oluşmaktadır (11).

Bu enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemleri arasında güçlü ilişkiler mevcuttur (22). Antioksidan savunma sistemleri, pek çok farklı mekanizma ile serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirmektedir (19,29):

- Oksijen konsantrasyonunun lokal olarak azaltılması,
- Serbest radikallerin tutulması,
- Süperoksit radikalının daha toksik radikallere dönüşümünün önlenmesi,
- Metal iyonlarının bağlanması,
- Peroksitlerin zararsız ürünlere çevrilmesi,
- Lipid peroksidasyonunu oluşturan zincirin kırılması, bu mekanizmalara örnektirler.

2.2.15 Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD), aerobik hücrelerde yaygın olarak bulunan ve oksijen toksisitesine karşı, ilk doğal savunmayı gerçekleştiren bir metalloproteindir (11, 29). O_2^- anyonunun H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizler (11):



Spontan reaksiyon hızını yaklaşık 1000 kat artırmakta ve böylece O_2^- ve H_2O_2 'nin bir arada bulunmasını dolayısıyla birlikte OH^- radikali oluşturmalarını önlemektedir(16). Süperoksit anyonunun dismutasyonu ile oluşan H_2O_2 , normal metabolik şartlarda glutasyon redoks siklusu ve katalaz tarafından uzaklaştırılmaktadır (29).

2.2.16 Glutasyon Redoks Döngüsü

Serbest radikallerle ve ilaç biyoreduksiyonuyla oluşan reaktif ürünlere karşı, hücrenin en önemli savunma aracıdır. En zehirli SOR olan OH^- 'in üreticisi olan hidrojen peroksit, bu döngü ile suya yıkılır (36).

2.2.17 Katalaz

Aerobik hücrelerde yaygın olarak bulunan, tetramer yapıda bir hemoproteindir (35). Katalaz substratı olan hidrojen peroksidin su ile oksijene yıkılmasını katalizlemekte ve böylece hidrojen peroksidin Fenton reaksiyonu aracılığıyla OH^- oluşturmalarını engellemektedir (36).

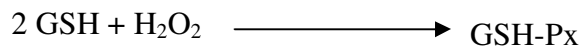
2.2.18 Glutasyon Peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), peroksitlerin redüksiyonunu katalizleyen tetramer yapıda bir metaloproteindir. Her alt ünite aktif bölgesinde, selenosistein şeklinde bir atom selenyum içermektedir (21).

GSH-Px başta karaciğer olmak üzere, eritrositler, kalp, akciğer, böbrek, göz ve beyin gibi dokularda bulunmaktadır. Enzimin hücre içi olarak, en çok sitozolde ve mitokondrial matrikste lokalize olduğu bilinmektedir (21).

GSH-Px katalizlediği oksidoredüksiyon reaksiyonu sırasında, H donörü olarak glutasyona spesifiktir. Fakat hidrojen kaynağı olarak H_2O_2 'nin yanı sıra, steroid hidroperoksitler, yağ asidi hidroperoksitleri lipid peroksidikalleri gibi diğer birçok organik hidroperoksitleri de kullanabilir (21).

Mitokondrilerde oluşan veya endoplazmik retikulumdan stoplazmaya salınan ya da SOD gibi sitozolik enzimlerle açığa çıkan H_2O_2 , glutasyon (GSH) varlığında, GSH-Px ile suya redüklenmektedir (29).



Doymamış yağ asitlerinin enzimatik ya da nonenzimatik oksidasyonu ile açığa çıkan organik hidroperoksitler, yine glutasyon varlığında, GSH-Px tarafından hidroksi yağ asitlerine ya da alkollere redüklenmektedir (31).



2.2.19 Lipid Peroksidasyon Olayının Belirlenmesi

Peroksit olayının şiddeti üç kritere bağlo olarak değişir (37);

a. Oksijen tüketiminin ölçülmesi: Oksijen alımının ölçülmesi manometrik olarak ya da elektrotlarının kullanılmasıyla gerçekleşir. Bu metot peroksidasyonun ölçülmesi

amacıyla en önce kullanılan yöntemlerdendir ve bugün de halen güncelliğini korumaktadır,

b. Hidroperoksitlerin ölçülmesi: Bu olay Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e oksidasyonudur; bu yöntem demir tiyosiyanat metodu olarak bilinir. Ayrıca, iyodometrik metodlar, ince tabaka kromatografisi ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metodları, dikloroflorosein metodu şeklindeki yöntemler de bulunmaktadır

c. Hiperoksitler ve aldehytler gibi yıkımlanma ürünlerinin ölçülmesi: Bu şekilde yıkımlanma ürünlerinin belirlenmesi, tiyobarbitürik asit testi ile; oluşan aldehytlerin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile; etan ve pentan şekillerinin tesbitiyle; amino asitler, proteinler veya nükleik asitlerin aldehytlerle birleşmesi sonucu oluşan ve floresan veren maddelerin ölçülmesi teknikleriyle yapılır.

Bunlara ilaveten yağ asitlerinin seviyelerinin ölçülmesi de peroksidasyonun belirlenmesinde bilgi verir. Ayrıca, peroksidasyonun başlangıç aşamasında serbest oksijen gruplarının etkisiyle konjuge halde seine grupları oluşur ve bu da spektroskopik olarak ölçülebilir. Peroksidasyon olayının belirlenmesinde daha çok MDA seviyesinin belirlenmesi tercih edilen yoldur (37).

2.3 Üzüm ve Üzüm Çekirdeği

Üzüm asmagiller (vitaceae) ailesinde yer alan ve meyvesi için yetiştirilen bir bitkidir. Meyveleri taze veya kuru halde tüketilir. Üzüm çekirdeği üzüm kabuğu ile birlikte, üzümün şarap ve meyve suyu olarak işlenmesi sonucu posa olarak ortaya çıkmakta ve genellikle değerlendirilmemektedir (38, 39). Üzümün meyvelerinde tanen, organik asit, şeker, flavanoidler (kaempferol, kuersetin, miristin gibi); kabuğunda fenolik maddeler (hidroksamik asitler), flavanoller, antosiyaninler, oligometrik proantosiyanidinler; çekirdeklerinde ise oligomerik proantosiyanidinler bulunur. Oligometrik proantosiyanidinler güçlü yükseltgenme önleyicidir (40).

2.3.1 Üzüm Çekirdeğinde Bulunan Biyolojik Etkin Maddeler

Üzüm çekirdeğinde biyolojik olarak etkin birçok polifenol bulunmaktadır. Fenolik bileşenler, yapılarında benzen yani fenol halkası bulunduran ve en basit fenolik bileşen olan fenolden türemiş ikincil metabolitlerdir. Genelde bitkisel kökenli materyallerde bulunan fenolik bileşikler 'fenolik asitler' ve 'flavonoidler' olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik asitler hidroksisamik ve hidroksibenzoik asitler olarak iki

grupta toplanmaktadır. Bitkisel fenoliklerin en önemli grubu olan flavonoidler ise difenilpropan türevleridir. Üzümlerin fenolik madde kompozisyonu varyete, yetiştirilme zamanı, üretim bölgesi ve meyve olgunluğuna bağlı olarak değişmektedir. Üzüm ve üzüm ürünleri monomerik flavonol, dimerik, trimerik ve polimerik prosiyanidin gibi flavonoidler ile gallik ve epigallik asit gibi fenolik asitleri içermektedir (41). Kondanse tanenler olarak bilinen proantosiyandinler ise üzümün daha çok kabuk ve çekirdek kısmında bulunmaktadır. (41,42) Fenolik bileşenlerce zengin üzüm çekirdeğinin monomerik fenolleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (43).

Tablo 2.1. Üzüm çekirdeğinin monomerik fenol miktarları

Monomerik Bileşikler	% Miktarı	
	En az	En çok
Epikateşin-gallat	10.9	19.2
Kateşin	16.0	29.8
Epikateşin	52.4	64.8

Kırmızı üzümlerde renk; malvinidin, peonidin, petunidin, siyanidin ve delfinidin gibi suda çözünabilir antosiyanidinler tarafından oluşturulmaktadır. Üzümler flavonoid olarak şarap, sirke ve üzüm suyuna renk veren fitokimyasallar olan quersetin ve resveratrol içerirler ki bunlar insan sağlığı üzerinde faydalı etkilere sahiptirler (44).

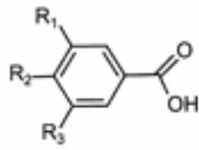
Yüksek oranda polifenol içeren bitkiler arasında kuş üzümü, böğürtlen, ahududu, çilek, baklagiller, yerba mate (paraguay çayı), yer fıstığı, yeşil çay, asitsiz zeytinyağı, kakao, erik, armut, kiraz, nar, üzüm, elma, portakal gibi meyveler ile brokoli, lahana, maydanoz, soğan gibi sebzeler sayılabilir. (45)

Polifenoller aşağıdaki sınıflara ayrılarak incelenmektedirler (46):

1. Hidroksibenzoik asitler
2. Hidroksisinamik asitler
3. Antosiyanidinler
4. Proantosiyandinler
5. Flavonollar

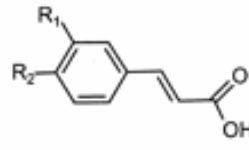
6. Flavonlar
7. Flavanollar
8. Flavanonlar
9. İzoflavonoidler
10. Stilbenler
11. Lignanlar

Hydroxybenzoic acids



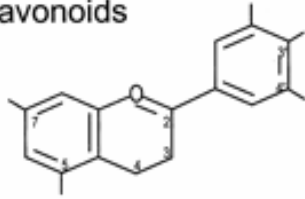
$R_1 = R_2 = OH, R_3 = H$: Protocatechuic acid
 $R_1 = R_2 = R_3 = OH$: Gallic acid

Hydroxycinnamic acids

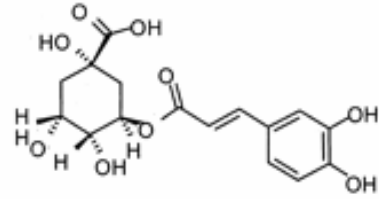


$R_1 = OH$: Coumaric acid
 $R_1 = R_2 = OH$: Caffeic acid
 $R_1 = OCH_3, R_2 = OH$: Ferulic acid

Flavonoids

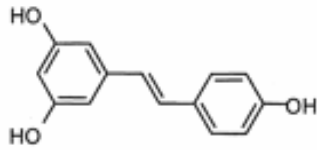


See Figure 2



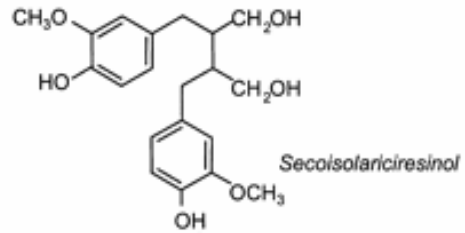
Chlorogenic acid

Stilbenes



Resveratrol

Lignans



Secoisolariciresinol

Şekil 2.5. Polifenollerin kimyasal yapıları

Bitkilerde 4000'in üzerinde flavonoid çeşidi tanımlanmıştır ve bu tanımlamalara her geçen gün yenileri eklenmektedir. (47)

Proantosiyanidin, epikateşin ve kuarsetin içeren flavonoidlerin başlıca bulunduğu besinler; çay, şarap ve çikolatadır. Ayrıca kırmızı şarap üretiminde üzümün

kabuğundan gelen polifenol olmayan bir antioksidan olan resveratrol de içermektedir. (47)

2.3.1.1 Proantosiyanidinler

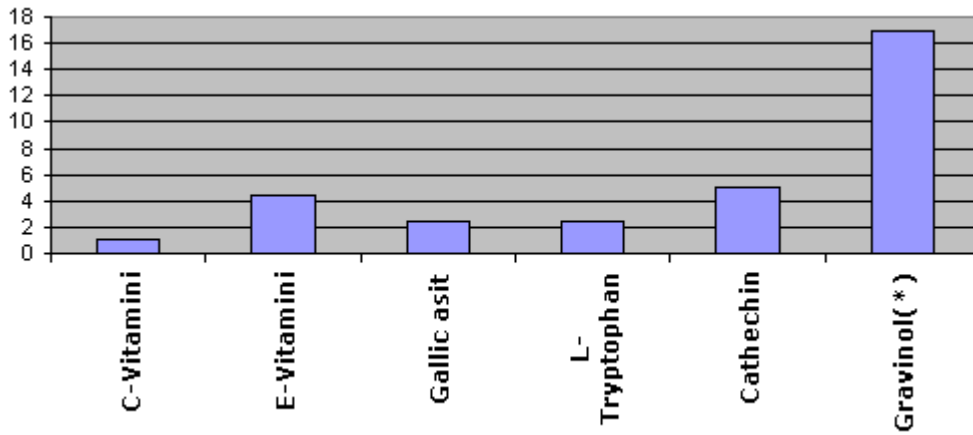
Proantosiyanidinler meyvelerde, sebzelerde, sert kabuklu meyvelerde, çeşitli meyvelerin çekirdeklerinde, çiçeklerinde ve kabuklarında bulunan doğal antioksidanlardır. Siyah üzüm çekirdeğinde prosiyanidin dimerleri B1 - B4, B5 - B8 ve prosiyanidin trimerleri bulunmaktadır. Bu tanımlanmış proantosiyanidin bileşikleri içerisinde farklı polifenolik bileşikler olan fenoldienonlar, epikateşin, epigallocateşin, ferulik asit, kaffeik asit, P-kumarik asit, kamferol, kuarsetin ve mirisetin de bulunmaktadır. Proantosiyanidinler, kondanse tanenlerin alt grubuna aittir. Tanenler hidroksile yapılardır, karbonhidratlar ve proteinler ile çözünmez kompleksler oluştururlar ve bu özellikleri ile bağ dokusu korunmasında önemli görevler üstlenmektedirler. Dimer, trimer ve tetramerik proantosiyanidinler düşük molekül ağırlıklı olup, su ve etanolde çözünürler, barsaklardan emilerek tüm dokulara ve plazmaya dağılırlar (48). Ayrıca diğer suda eriyen antioksidan moleküllerden farklı olarak plazma ve dokularda 7–10 gün boyunca mevcudiyetlerini devam ettirerek güçlü antioksidan özellik göstermektedirler (48, 49) Proantosiyanidinlerin serbest oksijen radikallerine ve oksidatif strese karşı biyolojik, farmakolojik ve teröpatik etkilerinin olduğu çeşitli araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır. Bilim adamları tarafından biyoflavonoidlerin ve proantosiyanidinlerin biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri kapsamlı araştırmalarla ile incelenmiştir (50–52). Bu araştırmalardan elde edilen sonuçlara göre proantosiyanidinlerin antioksidan aktivitelerinin yanı sıra vazodilatör, antikarsinojenik, antiallerjik, antiinflamatuvar, antibakteriyal, kardiyovasküler sistemi koruyucu, immun sistemi uyarıcı, antiviral ve östrojenik aktivitesinin de olduğu gösterilmiştir (52–56). Ayrıca proantosiyanidinlerin fosfolipaz A₂, siklooksijenaz ve lipooksijenaz gibi enzimleri inhibe ettiği bulunmuştur (55, 56). Proantosiyanidinlerin içerisinde bulunan, tekli oksijen giderici ve hidrojen verici olan, radikal süpürücü olarak da isimlendirilen fenolik hidrojenler; proantosiyanidinlerin antioksidan aktivite göstermesinde etkin olmaktadır (55,59).

Proantosiyanidinler;

- ✓ Düşük derişimlerde substrat oksidasyonunu ya da serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif hasarı ertelemesi, geciktirmesi ya da otooksidasyonu önlemesi

- ✓ Hidrojen bağlama özelliğinden yararlanılarak serbest radikallerin toplanması aşamasından sonra oluşan ürün başka bir oksidasyon için kalıcı olması sebeplerinden ötürü güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmiştir (58).

Resveratrol kardiyolojik hastalıklara karşı korunmada, LDL kolesterolün oksidasyonunun engellenmesinde, serbest radikallerin inhibisyonunda, antioksidan ve antimikrobiyal olarak, antikarsinojenik ve antimutajenik olarak rol oynayan önemli bir biyoaktif maddedir. Resveratrol üzümün çekirdeği, kabuğu ve sapında yoğun olarak bulunur fakat en fazla üzüm kabuğunda resveratrol vardır. (39) Yapılan çalışmalar proantosiyandinlerin E ve C vitaminlerinden sırası ile 20 ve 50 kez daha güçlü antioksidatif etkiye sahip olduğu ortaya koymaktadır (59). Tablo 2.1’de üzüm çekirdeği ekstraktının antioksidan etkisi bilinen C vitamini, E vitamini, Gallik asit, L-Triptofan ve kateşinin antioksidan etkileri kıyaslanmıştır.



Grafik 2.1. Çeşitli kimyasalların antioksidan etkisi

(*)Gravinol: üzüm çekirdek ekstraktı

2.3.2. Üzüm Çekirdeğinin Kullanıldığı Alanlar

2.3.2.1. Üzüm Çekirdeği ve Kan basıncını Düşürücü Etkisi

Günümüzde kronik hastalıkların birçoğu yaşlanmaya atfedilmiştir. Bir ölçüde proteinlerin ve nükleik asitlerin glikozillenmesi ve serbest radikallerin artması doku hasarına neden olur. Normotansif farelerde 250 ppm üzüm çekirdeği ekstraktı, 5 ppm

krom bağı niasin ve 18 ppm çinko bağı metionin verildiğinde sistolik kan basıncı ve glikozillenmiş hemoglobin (HbA1C) miktarında anlamlı azalmalar görülmüştür. Buna ek olarak lipid peroksidasyonunda ve serbest radikal formasyonunda da azalmaların olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlara göre üzüm çekirdeği ekstraktının krom ve çinko suplementleri ile birlikte üçlü kombinasyonunun uzun dönemli kullanımının sağlığa olumlu etkilerinin olabileceği gösterilmiştir (60)

2.3.2.2. Asetaminofenin Aşırı Dozunun Neden Olduğu Hepatotoksisite ve DNA Hasarına Karşı Korunmada Kullanılması

Asetaminofenin doz aşımının neden olduğu karaciğer toksisitesi ve ölümcül durumlarda üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımının kısa ve uzun dönemli etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada farelere asetaminofenin hepatotoksik dozu olan 400 ve 500 mg/kg verilmiştir. Ardından 3 ya da 7 gün boyunca 100 mg/kg olacak şekilde ağızdan üzüm çekirdeği ekstraktının zehirli olmayan dozları verilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktının asetaminofen kaynaklı mortaliteyi, karaciğer toksisitesini ve karaciğer DNA hasarının bir işaretçisi olan serum alanin aminotransferazı (ALT) anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur. Karaciğer bölümlerinin histopatolojik incelemelerinde üzüm çekirdeği ekstraktının asetaminofen toksisitesinde, apoptotik ve nekrotik karaciğer hücrelerinin yoğunluğunu azalttığı gösterilmiştir (61).

2.3.2.3. Üzüm Çekirdeği ve LDL Kolesterolü Düşürücü Etkisi

Üzüm çekirdeğinin özellikle LDL kolesterolün oksidasyonunu önlemede ve koroner kalp hastalıkları riski taşıyan bireylerin kardiyovasküler hastalıklara karşı korunmasında etkili olabileceği üzerinde durulmaktadır. LDL kolesterol oksidasyonunda ve kardiyovasküler hastalıklarda ciddi risk taşıyan sigara tiryakileri üzerinde yapılan bir araştırmaya göre; üzüm çekirdeği ekstraktı sigara bağımlılarında LDL kolesterolü düşürücü etkiye sahiptir. Sigara bağımlılarında LDL kolesterolün oksidasyon hassasiyeti hakkında yaş ortalaması ellinin üzerinde olan, 2 gruba ayrılmış 24 katılımcı ile yapılan çift-kör bir araştırmada; ilk gruba 75 mg üzüm çekirdeği ekstraktı ve soy-fosfotidilkolin, ikinci gruba 75 mg laktoz ve soy-fosfotidilkolin içeren plasebo verilmiştir. Araştırmanın sonucunda total kolesterol, total trigliserit ve LDL kolesterol seviyelerinde düşüş, HDL kolesterol seviyesinde anlamlı yükselme belirlenmiştir ($p<0,01$ ve $p<0,05$) (62).

2.3.2.4 Üzüm Çekirdeği ve Kardiyoprotektif Özelliği

Serbest radikaller miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarının patogeneğinde çok önemli rol oynarlar. Kalpte iskemik reperfüzyon hasarı sonrasında GSPE nin koruyucu etkinliği değerlendirilen bir araştırmada deney grubuna 3 hafta boyunca 100 mg/kg GSPE verildi. 3 hafta sonra farelerin kalplerinden 2 saatlik reperfüzyonun ardından 30 dakika boyunca geniş çaplı iskemi yapılmıştır. Sol ventriküler fonksiyonları, doku inflamasyon ve nekrozun bir işaretçisi olan kreatin kinaz salınımı ve oksidatif stresin bir işaretçisi olan malondialdehit düzeyleri sürekli olarak takibe alınmış ve miyokardiyal infarktüs şiddeti ölçülmüştür. üzüm çekirdeği ekstraktı ile desteklenmiş grupta iskemi sonrası sol ventriküler fonksiyonların ($dp, dp/dt_{max}$) ve aort kan akışının anlamlı ölçüde düzeldiği; ayrıca üzüm çekirdeği ekstraktı kullanılan grupta kreatin kinaz ve malondialdehit düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktı ile beslenmiş grupta miyokardiyal infarktüs şiddetinin yaklaşık % 25 oranında azaldığı belirlenmiş; bu durum üzüm çekirdeği ekstraktının serbest radikal süpürücü etkisiyle açıklanmıştır (63).

2.3.2.5. Üzüm Çekirdeği ve Pankreatit

Bu çalışmada kronik pankreatit şikayeti olan ve geleneksel tedavilerle şikayetleri çözümlenememiş 2 hastanın semptomları üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımında değerlendirilmiştir.

Vaka 1: 37 yaşında, erkek ve 3 yıllık idiyopatik akut pankreatit hikayesi olan ayda 4-5 kez ve her seferinde 3-7 gün kadar süren ve bu şikayetleri sırasında narkotik analjezik kullanan hastadaki ağrı, ağrı skalası kullanılarak değerlendirildi (NRS=Numerical Rating Scala, 5/10). 100 mg'lık üzüm çekirdeği ekstraktı verilmesinden sonra ağrı skalasındaki 5/10'luk değerle işaretlenen ağrı 7 ay içerisinde yalnızca bir kez oluşmuştur.

Vaka 2: 59 yaşında, kadın, 5 yıllık kronik pankreatik hikayesi olan ve abdominal ağrıları ve kusma şikayeti olan ve ağrı skalasında ağrısını 7/10 olarak değerlendiren hastaya 100 mg'lık üzüm çekirdeği ekstraktı tedavisi uygulandığı sürede 4 ayda hiç kusma şikayeti olmamış ve bu süre zarfında kişi ağrısını 3/10 olarak değerlendirmiştir. Sonuç olarak üzüm çekirdeği ekstraktının bu hastalarda kusma şikayetlerini ve ağrı skala skorlarını azalttığı gözlemlenmiştir (64, 65).

2.3.2.6 Üzüm Çekirdeği ve Böbrek Koruyucu Özelliği

Üzüm çekirdeği ekstraktının koruyucu etkileri asetaminofenin neden olduğu nefrotoksisite ve böbreklerdeki genomik DNA hasarı bakımından değerlendirilmiştir. 24 saatlik 500 mg/kg dozda asetaminofen verilen 3 aylık ICR cinsi erkek farelere 7 gün boyunca 100 mg/kg GSPE verilmiştir. Asetaminofenin tek başına BUN değerini normalden 3 kat arttırdığını, GSPE ile birlikte asetaminofen verilen farelerde BUN değerinin anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Böbrek histopatolojileri, BUN değerindeki ve DNA hasarındaki azalma üzüm çekirdeğinin asetaminofenin nefrotoksik etkilerine karşı koruyucu özelliği olduğunu göstermiştir (61).

2.3.2.7 Üzüm Çekirdeğinin Antimikrobiyal Aktivitesi

Üzüm çekirdeğinde bulunan fenolik bileşikler, tanenler, kateşin, kumarinler ve gallik asit esterlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin olduğu bildirilmektedir. Fenolik bileşikler bitkilerin böcek ve mikroorganizmalara karşı korunma mekanizmalarını düzenler. Tanenler, basit fenoller ve fenolik asitler antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler (66). Kateşin, birçok gram (+) ve gram (-) bakteriye karşı kumarinler ve gallik asitten daha zayıf bir aktivite göstermektedir (67). Tanenlerin antimikrobiyal etkileri mikrobiyal enzimler ve hücre proteinleri ile oluşturduğu komplekslerden kaynaklanmaktadır (66). Tanenlerin antibakteriyal, antifungal ve antiviral etkilerinin olduğu belirtilmektedir (59). Gallik asit ve metil esterlerinin, barsak kökenli birçok patojen bakteriye karşı antibakteriyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır (68).

2.3.2.8. Üzüm Çekirdeği ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Mikroorganizmalar gıda kalitesini, raf ömrünü ve gıda güvenliğini olumsuz yönde etkilemekte, bu etkilerden sakınmak için gıdalara sentetik katkı maddeleri katılmaktadır. Ancak sentetik koruyucu maddelerin tavsiye edilen miktarlardan fazla alınması kanserojen etkilere yol açabilmektedir. Bu nedenle son zamanlarda gıdalarda mikrobiyolojik bozulmaların önlenmesi için çeşitli bitki, baharat ve meyvelerden elde edilen ekstraktların kullanılması üzerinde durulmaktadır. Üzüm çekirdeğinin fenolik bileşiklerce zengin olması, dolayısıyla gıdalarda bozulmaları önleyip onların raf ömrünü arttırabileceği ve gıda endüstrisinde kullanılabileceği düşünülmektedir (39).

2.3.2.9. Üzüm Çekirdeği ve Obezite

Birçok bitkinin çekirdeği yağca zengindir ve çekirdekler diğer biyoaktif bileşenlerin yanı sıra lipaz inhibitörü bileşenleri de içermektedir. Üzüm çekirdeği ekstraktının 1 mg/ml'lik miktarları lipaz ile 5 dakika muamele edildiğinde lipazı %80 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir (69).

2.3.2.10. Üzüm Çekirdeği ve Kanser

Üzüm çekirdeğinin kanser üzerine etkileri ile ilgili araştırmalar son yıllarda oldukça artmıştır. Kaur ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmaya göre; üzüm çekirdeğinde bulunan kimyasallar hücre kültürlerinde ve farelerde bulunan kolorektal tümörde kanser hücrelerinin büyümesini anlamlı derecede baskıladığı ortaya konulmuştur (70).

Araştırmacılar aynı zamanda üzüm çekirdeği ekstratlarının tümörlerde hücre siklusunu donduran ve kanser hücrelerinin kendi kendine yıkımını sağlayan kritik protein üretimini teşvik ettiğini de ortaya koymuşlardır. Ancak üzüm çekirdeği ekstratlarının uzun süreli kullanımı ile ilgili yeterli çalışmalar bulunmadığı için uzun süreli üzüm çekirdeği kullanımı önerilmemekte; üzüm çekirdeğinin kansere karşı klinik kullanımı için birçok çalışmaya gereksinimin olduğu vurgulanmıştır (70).

Agarwal ve arkadaşları, üzüm çekirdeği ekstratlarının cilt kanserine karşı koruyucu etkileri olduğunu bildirmişlerdir (71). Üzüm çekirdeği ekstratlarının prostat kanserinde kanserli hücrelerinin büyümesini engellediği de gösterilmiştir (72).

2.3.2.11. Üzüm Çekirdeği ve Yara İyileşmesi

Son yapılan araştırmalara göre üzüm çekirdeği ekstraktı yara iyileşmesine büyük ölçüde yardımcı olmaktadır. Araştırmacılar yara iyileşmesini ekstraktın bazı bileşenlerinin hasar gören kan damarlarını iyileştirmeye yardımcı olması ve yara çevresindeki patojen bakterileri temizlemeye aracılık eden serbest radikallerin artması ile açıklamışlardır (73).

2.3.2.12. Üzüm Çekirdeği ve Oftalmoloji

Vren et. Al. Üzüm çekirdeği ekstraktının güvenilirliğini ölçmek için ratlar üzerinde yaptıkları 90 günlük oral toksisite çalışmasında klinik bulgular, hematolojik parametreler, organ ağırlıkları, oftalmolojik ölçümlerde veya histopatolojik bulgulara belirgin bir değişiklik olmadığı tespit etmişlerdir (74).

Durakan ve ark. yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktının ratlarda katarakt gelişimini baskıladığını tespit etmişlerdir. Üzüm çekirdeği ekstraktının gıdalarla alımı veya besin takviyesi olarak günlük rutin tüketiminin katarakt başlangıcı ve gelişimine karşı tavsiye edilebileceğini bildirmişlerdir (75).

2.3.3. Sonuçlar

Üzüm çekirdeği ile ilgili yapılan tüm çalışmaların sonucu, üzüm çekirdeği ekstraktının yüksek antioksidan özelliği ile çeşitli dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu özelliğinin olduğunu; üzüm çekirdeği ekstraktının güvenli, yüksek potansiyelli biyoyararlılığı olan serbest radikal temizleyicisi ve antioksidan olduğunu ortaya koymaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 GEREÇLER

1. Spektrofotometre (Thermo Helios Alfa)
2. ELISA okuyucu (Bio-tek)
3. Santrifüj (Heraus)
4. pH metre (Metler Toledo MP120)
5. Vorteks (Velp Scientifica)
6. Hassas terazi (Sartorius BP 121 S)
7. Derin Dondurucu (Profilo)
8. Distile su cihazı (Elektro Mag)
9. Su Banyosu (Nüve)
10. Otomatik Pipet (Gilson 10-100 μ l, 10-1000 μ l)
11. Quartz küvet (Unicam UV VIS Spectrometry)
12. Cam Tüp (5-10 ml)
13. Ependorf tüp (1,5 ml)
14. Vida kapaklı tüp (10 ml)

15. Mezür (100 ml)
16. Balon joje (25, 50, 100, 250 ve 1000 ml)
17. Erlen Mayer (125- 250- 500 ml)
18. Cam Pipet (1, 5, 10, 25 ml)
19. Pipet ucu (100- 1000 µl)
20. Sahli Hemoglobinometresi
21. Mikro santrifüj
22. Mirohematokrit tüpü (Marienfeld)
23. Tüp Tutucu

3.2. KİMYASALLAR

Glutasyon (Merck 104090), sodyum azid (Merck 106688), glutasyon redüktaz (Sigma G-3664), NADPH₂ (Merck 124540), triklorasetik asit (Merck 100.807), 2-tiyobarbitürik asit (Merck 108.180), hidrojen peroksit % 35 (Merck 108600), tersiyer-bütil hidroperoksit (Fluka, 19995), sodyum klorür (Merck 116224), potasyum klorür (Merck 104935), sodyum di-hidrojen fosfat (Merck 106576), sodyum karbonat (Merck 106398), EDTA (Merck 814696), potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104871), potasyum ferro siyanür (Merck, 104973), sodyum bikarbonat (Merck, 106323), amonyum sülfat (Aldrich, 485306), n-butanol (Aldrich 270679), 1.1.3.3. tetraetoksipropan (Sigma, T 9889), nitrat redüktaz (Sigma, N-7265), β-NADPH (Sigma, N-6505), flavinadenodinükleotid (Sigma, F-6625), sulfanilamide (Merck, 111799), N-(1-naftil) etilendiamin (Merck, 106237), sodyum nitrit (Merck, 106549).

3.3. HAYVAN MATERYALİ

Araştırma için Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Komitesi onayı alındı ve Etik Kurul Yönergesine uygun olarak gerçekleştirildi. Çalışmada 96 adet, 0 günlük Ross MP3 ırkı etlik erkek civciv kullanıldı. Hayvanlar tartılarak her bir grupta 12 adet hayvan olacak şekilde 8 gruba ayrıldı. İlk iki gün 24 saat aydınlık, deney sonuna kadar (42. gün) 23 saat aydınlık 1 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma uygulandı. Her grubun koyulduğu bölmelere birer adet yemlik ve suluk konuldu. Civciv bölmelerinin tabanı 8 cm kalınlığında kaba talaş ile kaplanarak ısı yalıtımı sağlandı. Çalışmanın 21. ve 42. günlerinde hayvanların kanat altı venasından heparinli tüplere 5'er ml kan alındı.

3.4. YEM İÇERİKLERİ

Her bir grupta 12 civciv olmak üzere; birinci grup kontrol olarak tutulurken ikinci grup üzüm çekirdeği üçüncü, dördüncü ve beşinci grup sırasıyla lasalosid (100 ppm), salinomisin (60 ppm) ve maduramisin (5 ppm); altıncı gruba lasalosid (100 ppm)+ üzüm çekirdeği, yedinci gruba salinomisin (60 ppm) + üzüm çekirdeği, sekizinci gruba maduramisin (5 ppm) + üzüm çekirdeği, 6 hafta süreyle yemle birlikte verildi. Üzüm çekirdeği katıldığı tüm rasyonlara % 0,5 oranında öğütülmüş olarak ilave edildi. Üzüm çekirdeği tozunun yem katkısı olarak verildiği benzer bir çalışma bulunamaması ve genellikle yem katkı maddelerinin % 0,5–1 oranında katılması sebebiyle (8) bu oranda katılmıştır.

Tablo 3.1. Bazal rasyon içeriği

Yem maddesi	%
Bitkisel Yağ	2,00
Mısır, sarı	57,50
Soya Küspesi, % 48 Protein	27,00
Soya, Tam Yağlı	10,00
Dikalsiyum fosfat	2,20
Kireç Taşı	1,00
Tuz	0,30

Tablo 3.2. Bazal Rasyondaki Besin Maddesi Oranları

Besin Maddesi	Rasyon
Kuru madde, %	90
Ham Protein, %	21.3
Metabolik enerji, kcal/kg	3100
Kalsiyum, %	1,02
Kullanılabilir Fosfor, %	0,47
Sodyum, %	0,14
Metiyonin+ Sistin, %	0,69
Lizin, %	1,17
Treonin, %	0,81
Triptofan, %	0,29
Linoleik asit, %	0,3

3.5. GRUPLAR

Tablo 3.3. Yemlerin içindeki Antibiyotik ve Üzüm Çekirdeği Oranları

Grup	Yem İçeriği
1. Kontrol	Bazal rasyon
2. Üzüm Çekirdeği	Bazal rasyon+ Üzüm çekirdeği (% 0,5)
3. Salinomisin	Bazal rasyon+ Salinomisin (60 ppm)
4. Lasalosid	Bazal rasyon+ Lasalosid (100 ppm)
5. Maduramisin	Bazal rasyon+ Maduramisin (5 ppm)
6.Salinomisin+Üzüm çekirdeği	Bazal rasyon+ Salinomisin (60 ppm)+Üzüm çekirdeği (% 0,5)
7. Lasalosid+Üzüm çekirdeği	Bazal rasyon+ Lasalosid (100 ppm)+Üzüm çekirdeği (% 0,5)
8.Maduramisin+Üzüm çekirdeği	Bazal rasyon+ Maduramisin (5 ppm)+Üzüm çekirdeği (% 0,5)

3. 6. KAN NUMUNELERİNİN ALINMASI

21 ve 42. günlerde hayvanların kanat altı venasından alınan 5 ml kan antikoagülanlı tüplere konuldu. Taze kandan hemoglobin, hematokrit değer ölçümü ve kan hücresi sayımı için frotilerin hazırlanması işlemi gerçekleştirildi. Kan numuneleri 3000 devir/d'da 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen eritrosit 1:1 oranında tampon ile karıştırılarak -18 °C'de derin dondurucuda saklandı.

3.7. NUMUNE ANALİZLERİ

3.7.1 Hematokrit Değer Tayini

Hematokrit değer kılcal tüp yöntemi ile ölçüldü (76–78). 1,4 mm çaplı 75 mm uzunluğunda kılcal tüpler kullanıldı. Kılcal tüpler antikoagülanlı kana eğik olarak daldırılarak $\frac{3}{4}$ oranında kanla dolması sağlandı. Açık olan uç hava gazı alevinde ısıtılarak kapatıldı. Kapatılan tüpler baş ve işaret parmakları arasında iki üç saniye döndürüldü. Bu işlemin bitiminde, iki kılcal tüp karşılıklı gelecek biçimde ve kapalı olan uç dışarı gelecek şekilde santrifüj başlığına yerleştirildi. Tüpler 11.000 devirde 5 dakika döndürüldü. Çıkarılan tüplerde kanın şekilli elemanlarının tüm kana oranı yüzde olarak değerlendirilerek Hematokrit değer elde edildi.

3.7.2 Kan Hücreleri Sayımı

Her hayvandan alınan kan numunesinden birer froti hazırlandı (76–78). Hazırlanan frotiler havada kurutularak üzerlerine 5 ml May Grunwald boyası döküldü. 5 dakika beklendikten sonra üzerlerine 10–15 damla saf su damlatıldı. Tekrar 15 dakika beklendi. Boya döküldükten sonra çeşme suyundan geçirildi havada kurutulup mikroskobun immersiyon objektifinde incelendi. Her bir mikroskop sahasındaki eozonofil, bazofil, nötrofil, lenfositler ve monositler sayıldı. Toplam hücre sayısı 100 oluncaya kadar çeşitli mikroskop sahalarında sayım yapılmaya devam edildi. Hücre sayıları % değerleri olarak elde edildi (78, 79).

3.7.3 Hemoglobin Tayini

Deney hayvanlarından alınan kan numunelerinin hemoglobin miktarı Sahli metodu ile tayin edildi (76).

Metodun prensibi

Hemoglobinin hidroklorik asit ile asit hematine dönüşmesi ve koyu kahverengi-sarı renk alması prensibine dayanır.

Deneyin Yapılması

1. Sahli hemoglobinometresindeki üzeri dereceli tüpe 5 damla %1'lik hidroklorik asit konuldu.
2. Antikoagulanlı kandan Sahli pipetine 20 µl (0.02 ml) işaretine kadar kan çekildi, pipetin etrafı pamukla temizlendi.
3. Pipetteki kan tüpteki hidroklorik asit içine boşaltıldı. Pipet birkaç kere çekip boşaltılarak kanın tümünün asit ile karışması sağlandı. Hemoglobinin hidroklorik asit ile asit hematine dönüşmesi için birkaç dakika beklendi.
4. Tüpteki karışıma damla damla distile su eklendi ve karıştırıldı.
5. Sulandırma işlemine, tüpteki karışımın rengi hemoglobinometrenin her iki yanındaki standart rengi alıncaya kadar devam edildi.
6. Hemoglobinometre tüpündeki sıvının seviyesine uyan hemoglobin % veya gram olarak okundu.

Daha sonra kan numuneleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Plazmalar ayrıldıktan sonra plazmadan nitrik oksit ve malondialdehit tayini yapıldı.

Heparinli kanda plazma ve eritrositler arasında kalan lökosit ve trombosit tabakası otomatik pipetle alınıp atıldıktan sonra dibe çökmüş olan eritrositler, PBS çözeltisi ile yıkanarak santrifüj edildi. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlandı. Son santrifüj sonrası tüpün dibinde kalan eritrosit sedimentinden 0,4 ml alınarak 0,4 ml PBS ile küçük plastik tüplere aktarıldı. Katalaz ve glutasyon peroksidaz tayini için analizler yapılınca kadar derin dondurucuda saklandı (81).

Eritrositler, 0,3 ml karışım üzerinde 1,2 ml buz soğukluğunda tridistile su eklenerek hemoliz edildi. Hemolizatta Ferrosiyanomethemoglobin metoduyla (82) hemoglobin tayini yapıldı.

Kullanılan Reaktif

PBS (Fosfat tamponlu tuz çözeltisi): 8,06 g NaCl (138 mM), 0,201 g KCl (2,7 mM), 1,15 g Na₂HPO₂ (8,1 mM) ve 0,2 g KH₂PO₄ 81,47 mM) bir beherde çözüldükten sonra litrelik balon jojeye aktararak hacim tridistile su ile bir litreye ayarlandı.

3.7.4 Ferrosiyanomethemoglobin Metoduyla Hemoglobin Tayini:

Metodun prensibi

Hemoglobindeki Fe⁺², ferrosiyanür ile Fe⁺³'e okside edilir ve ondan sonra potasyum siyanür eklenmesiyle stabil methemoglobine dönüşür. Siyanomethemoglobinin 540 nm'de ölçülen absorbansı hemoglobin konsantrasyonu ile orantılıdır.

Kullanılan Reaktif

Drabkin reaktifi: 0,2 g K₃Fe(Cn)₆, 0,05 g KCN ve 1,0 g NaHCO₃ tridistile suda çözdürülerek tridistile su ile litreye tamamlandı.

Deneyin Yapılışı

1. Bir deney tüpüne 6,0 ml Drabkin reaktifi konuldu.
2. Üzerine 20 µl hemolizat eklendi ve karıştırıldı.
3. 5 dakika beklendi.
4. Drabkin reaktifi kör olarak kullanılarak 540 nm'de okundu.

3.7.5. Plazma Malondialdehit Tayini

Poliansature yağ asitlerinin oksidasyonu ile oluşan bir ürün olan MDA kısa zincirli bir aldehittir ve poliansature yağ asitlerinin oksidatif parçalanmasını tespit etmek için yararlanılır.

Çalışma şartlarımıza uygunluğu, hassaslığı ve tekrarlanabilirliğinin iyi olması sebebiyle Yoshioka ve arkadaşlarının (83) geliştirdiği metot tercih edildi.

Metodun prensibi

İki molekül tiyobarbitürik asidin (TBA) bir molekül MDA ile asit ortamda sitokiyometrik olarak reaksiyona girerek pembe renkli bir ürün oluşturması esasına dayanır. Oluşan bu bileşik 532–535 nm’de maksimum absorpsiyon verir. Standart olarak 1.1.3.3. Tetraetoksipropen kullanılır.

Kullanılan reaktifler

1. Triklorasetik asit (TCAA) (%20): 200 g triklor asetik asit (TCAA) tridistile suda çözülürülerek hacmi 1 litreye tamamlandı.
2. Tiyobarbitürik asit (TBA) (%0.67): 1.675 g tiyobarbitürik asit tridistile suda çözülerek hacmi 250 ml’ye tamamlandı ve +4 °C’de saklandı.
3. n-Butanol
4. 1.1.3.3. Tetraetoksipropen standardı ($C_{11}H_{24}O_4$): 1.1.3.3. Tetraetoksipropandan 0.494 ml alınarak etanol ile 100 ml’ye tamamlandı. Bu karışımdan 0.1 ml alınarak tridistile su ile 100 ml’ye tamamlandı (= 20 $\mu\text{mol/l}$). Uygun dilüsyonlarda çalışılarak grafik çizildi.

Deneyin Yapılışı

Tablo 3.4. Tablo Plazma MDA’in Tayini için çalışma şeması

Kullanılan maddeler	Kör tüpü	Numune tüpü
Plazma	--	0.5 ml
TCAA çözeltisi	3.0 ml	2.5 ml
TBA çözeltisi	1.0 ml	1.0 ml
30 dakika su banyosunda inkübasyon ve soğutma		
n- Butanol	4.0 ml	4.0 ml

3000 devir/d'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra butanol tabakası başka bir tüpe aktarılarak 535 nm'de absorpsiyon okundu. 1.1.3.3. Tetraetoksipropan kullanılarak hazırlanmış grafikten yararlanılarak okunan absorpsiyonlara karşılık gelen MDA değerleri tespit edildi.

Sonuçlar nmol/ml plazma olarak verildi.

3.7.6. Nitrik Oksit Tayini

Ön hazırlık

Analizde kullanılacak tüm malzemeler 1 gece % 20'lik NO_3 'de (nitrik asit) tutulur. Ardından deiyonize sudan geçirilir ve etüvde kurutuldu (84).

Çözeltiler

- 50 mMol fosfat tampon (pH 7,0)
- 20 mMol fosfat tampon (pH 7,4 veya 7,5)
3,902 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / 500 ml (Asidik) deiyonize suda ve 8,953 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ / 500 ml (Bazik) deiyonize suda çözündürülür ve karıştırılır (Önce bazik madde konulur). Çözeltinin pH'ı ayarlandı.
- % 5,0'lik fosforik asit
- NADPH (200 mikromol/L) 10,0 mg / 10.0 ml, deiyonize suda
- FAD (10 mikromol / L) 10,0 mg / 10 ml, deiyonize suda
- Nitrat redüktaz (5 U / 5,0 ml, deiyonize su içinde)
- Çinko sülfat (300 g / L, deiyonize su içinde)
- NEDD (1,0 mg / ml, deiyonize suda)
- Sülfanilamid (2,0 mg / ml, fosforik asit çözeltisi içinde)
- Griess reaktifi: NEDD ve sülfanilamid çözeltileri 1:1 oranında karıştırılarak taze olarak hazırlandı.
- Potasyum nitrat (1000 mikromol / L)

Analiz prosedürü

- Ependorf tüpleri içine sırasıyla
 - ✓ Numune (25 μ l) (plazma, standart, tampon-kör için)
 - ✓ NADPH (8 μ l)
 - ✓ FAD (1 μ l)
 - ✓ Tampon (126 μ l)
 - ✓ Nitrat redüktaz (40 μ l) kondu ve vortekslendi.
- Tüpler 37 °C’ de 20 dakika inkübe edildi
- Tüplerdeki karışımdan 10 mikrolitresi atıldı
- Tüplere 10 mikrolitre çinko sülfat çözeltisi ilave edildi
- Tüpler 10.000 g’de 5 dakika veya 1000 g’de 15 dakika soğutmalı santrifüjde (+ 4 C) santrifüj edildi.
- Tüplerdeki süpernatantların 50 veya 100 mikrolitresi ELISA mikroleptlerine alındı.
- Kuyucukların üzerine süpermatanttan alınan hacimde Griess Reaktifi ilave edildi (50 veya 100 mikrolitre)
- Mikrolept oda ısısında ve karanlıkta 10 dakika bekletildi.
- Mikrolept ELISA okuyucuda 540 nm’de köre karşı okundu.

Sonuçlar 3.12 -100 μ mol/l konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltilerden elde edilen kalibrasyon grafiğine göre hesaplandı.

3.7.7. Katalaz Aktivitesi Tayini

Luck (85) tarafından geliştirilen ultraviyole tayin metodu modifiye edilerek kullanıldı.

Metodun Prensibi

Uygun tampon içinde bulunan hidrojen peroksitin numunede bulunan katalaz enziminin etkisi ile yıkılması sonucu, bu maddenin 240 nm’de sebep olduğu absorbans azalmasının ölçülmesi esasına dayanır. Absorbansta gözlenen azalma hızı katalaz enzim aktivitesi ile orantılıdır.

Kullanılan Reaktifler

1. Fosfat tamponu (50 mmol: pH: 7.0): 3.522 g KH_2PO_4 ve 5.7968 g Na_2HPO_4 tridistile suda çözülerek 1 litreye tamamlandı. pH 7.0'ye ayarlanarak +4 °C'de saklandı.
2. Fosfat tamponunda H_2O_2 çözeltisi (10 mmol/ml): %35'lik H_2O_2 çözeltisinden 0.13 ml alınarak daha önce hazırlanmış olan 100 ml fosfat tamponu üzerine ilave edildi. Bu karışımın 240 nm'deki absorbansının 0,5 olması gerekir. Okunan absorbans, bu değerden küçük ise H_2O_2 , büyük ise tampon eklenerek absorbansın 0,5 olması sağlandı.

Deneyin Yapılışı

Tablo 3.5. Katalaz aktivitesi tayini için çalışma şeması

Kullanılan maddeler	Kör Küveti	Numune Küveti
Fosfat Tamponu	2.95 ml	--
H_2O_2 çözeltisi	--	2.95 ml
Numune	50 μl	50 μl

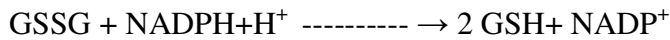
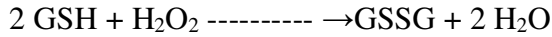
Küvetler alt üst edilerek karışması sağlandı ve zaman geçirmeden spektrofotometredeki yerine yerleştirildi. Spektrofotometreden absorbanstaki azalma takip edildi. 0,45'ten 0,40'a inmesi için geçen süre tespit edildi ve aşağıdaki formülden yararlanılarak k hız sabiti hesaplandı. Absorbansın 0,45'ten 0,40'a inmesi için gerekli sürenin 60 saniyeyi geçmesi durumunda numune daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılarak, çok hızlı düşmesi durumunda dilüe edilerek test tekrarlandı. Numunenin çıkartılmasından hemen önce numune bulunabilecek ve 240 nm'de absorbans verebilecek maddelerin sebep olabileceği absorbans yükselmesini önlemek amacıyla bir başka küvete, içinde H_2O_2 bulunmayan fosfat tamponundan 2.95 ml konuldu ve üzerine 50 μl numune eklendi. Spektrofotometre kör küveti olarak kabul edilen bu küvete göre sıfırlandı. Sonuçta absorbansın 0.45'ten 0.40'a inmesi için geçen süre tespit edilerek hemoglobin miktarı tayin edildi.

3.7.8. Glutasyon Peroksidaz Tayini

Testin özgünlüğü, tekrarlanılabilirliği ve referans metot olması sebebiyle Paglia ve Valentine'nin (86) geliştirdiği metot kullanıldı.

Testin Prensibi

Peroksidaz kullanılarak Glutasyon (GSH), redükte form olan GSSG'ye dönüştürülür. Reaksiyonun geriye çevrilmesi Glutasyon Redüktaz (GR) enzimi tarafından katalizlenen $\text{NADPH} + \text{H}^+$ kullanan bir reaksiyonla gerçekleştirilir. Bu reaksiyonda GSH miktarı sabit kalır.



Kullanılan Reaktifler

1. Na- Fosfat- Buffer (pH = 7.0 100 mmol/l): 9 g Na_2HPO_4 ve 7 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 500 ml tridistile suda eritildi ve 500 ml hacme tamamlandı. pH 7.0'a ayarlandı, +4 °C'de saklandı.
2. Redükte Glutathion (20 mmol/l): 30.7 mg Redükte Glutathion 5 ml tridistile suda eritildi. 1 normal NaOH ile pH'sı 6.0'a ayarlandı. Testten önce taze olarak hazırlandı.
3. EDTA (10 mmol/l): 372 mg EDTA 100 ml tridistile suda eritildi ve +4 °C'de saklandı.
4. Na- Azid (NaN_3) (20 mmol/l): 130 mg Na- Azid 100 ml suda eritildi ve +4 °C' de saklandı.
5. Glutathion redüktaz (10 U/ml): 150 μl enzim üzerine 8.85 ml tridistile su eklenerek çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.
6. $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (3 mmol/l): 13.5 mg $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 5 ml fosfat buffer içerisinde eritildi. Çalışmadan önce taze olarak hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

Tablo 3.6. Glutathion Peroksidaz Çalışma Tablosu

Kullanılan maddeler	Kör	Numune
Fosfat buffer	1 ml	1 ml
EDTA	0.1 ml	0.1 ml
NaN ₃	0.1 ml	0.1 ml
NADPH+H ⁺	0.1 ml	0.1 ml
Redükte Glutathion	0.1 ml	0.1 ml
Glutathion redüktaz	0.2 ml	0.2 ml
Numune	0.05 ml distile su	0.05 ml hemolizat
İki- üç dakika 37 °C’de sıcak su banyosunda inkübasyon		
t- BOOH	0.2 ml	0.2 ml

Her bir test için Eppendorf spektrofotometrede 366 nm optik filtre kullanıldı ve cihazın sıfır ayarları yapıldıktan sonra kör okumaları ve numune okumaları yapıldı. Spektroya bağlı kaydediciden 1 dakikada meydana gelen absorbans düşmesi hesaplandı. Absorbansta meydana gelen düşmeye bağlı olarak formülden enzim miktarı tayin edildi.

3.8 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistik analizleri SPSS 10,0, for Windows paket programında gerçekleştirildi. Gruplar arası önemliliğin tespitinde tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Önemli grupların belirlenmesinde ise Duncan testi yapıldı ($p < 0.05$ ’e göre).

4. BULGULAR

4.1. LİPİD PEROKSİDASYONUNA AİT BULGULAR

MDA: Kontrol (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen gruplarda (Grup 2) 21. gün MDA değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. İlaç verilen gruplarda salinomisin ve maduramisin verilen gruplardaki (grup 3 ve grup 5) MDA değerlerinde kontrol grubuna (grup 1) göre önemli ölçüde yükselme belirlendi. Kontrol grubu ile ilaç+üzüm çekirdeği verilen gruplardaki MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. İlaç verilen gruplar (grup 3, 4 ve 5) ile ilaç+üzüm çekirdeği verilen grupların (grup 6, 7 ve 8) MDA değerlerinde sadece salinomisin verilen grupla salinomisin+üzüm çekirdeği verilen grup arasında önemli bir değişim olduğu ve bu değişimin azalma yönünde seyrettiği görüldü (Tablo 4.1).

42. gün MDA değerlerinde (Tablo 4.2) ise kontrol ve üzüm çekirdeği verilen gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. Salinomisin, lasalosid ve maduramisin verilen gruplardaki (Grup 3, 4 ve 5) MDA düzeyinde kontrol grubuna göre önemli yükselme gözlemlendi. İlaç+üzüm çekirdeği gruplarından salinomisin+üzüm çekirdeği (Grup 6) ve lasalosid+üzüm (Grup 7) çekirdeği grubunun MDA değerlerindeki düşüş kontrol grubuna oranla önemsizdi. Kontrol grubu (Grup 1) ile maduramisin+üzüm (Grup 8) çekirdeği grubu arasındaki MDA düzeyleri arasındaki farkın önemli olduğu ve farkın artış yönünde olduğu gözlemlendi. Salinomisin ile

salinomisın+üzüm çekirdeği ve maduramisın ile maduramisın+üzüm çekirdeği verilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Lasalosid+üzüm çekirdeği grubu MDA düzeyinin lasalosid grubuna göre azaldığı belirlendi ($P<0.05$).

NO: 21. gün NO değerlerinde (Tablo 4.1) kontrol (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. İlaç verilen gruplardaki NO değerlerinde, salinomisın verilen gruba (Grup 3) kontrol grubu (grup 1) arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmadı. Lasalosid ve maduramisın (Grup 4 ve 5) verilen gruplarda NO değerlerinin yükseldiği gözlemlendi. Kontrol ile ilaç+üzüm çekirdeği verilen gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P<0.05$).

42. gün NO değerlerinde de (Tablo 4.2) kontrol (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmedi. Kontrol ve ilaç grupları (Grup 3, 4 ve 5) arasındaki fark istatistiksel olarak önemliydi ve kontrole göre artış yönündeydi. Kontrol grubu ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları (Grup 6, 7 ve 8) arasındaki fark önemsiz bulundu. İlaç grupları ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P<0.05$).

CAT :21. Gün CAT değerleri (Tablo 4.1) arasındaki fark, kontrol grubu (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplarda istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Kontrol grubu ile ilaç gruplarına (Grup 3, 4, 5) ait CAT enzimi değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemliydi ve kontrol grubuna göre bu fark azalma yönünde seyretti. Kontrol grubu ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları (Grup 6, 7 ve 8) arasındaki CAT enzim aktivitesinde, sadece salinomisın+üzüm çekirdeği verilen grupta (Grup 6) istatistiksel olarak önemli azalma olduğu dikkati çekti ($P<0.05$).

42. Gün CAT değerleri (Tablo 4.2) arasındaki fark da kontrol grubu (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplarda istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Kontrol grubu ile ilaç gruplarına (Grup 3, 4, 5) ait CAT enzimi değerleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemliydi ve bu fark azalma yönündeydi. Maduramisın+üzüm (Grup 8) çekirdeği ve lasalosid+üzüm çekirdeği gruplarındaki CAT aktivitelerinde kontrole göre azalma gözlemlendi. Salinomisın+üzüm çekirdeği grubu (Grup 6) CAT aktivitesinin salinomisın grubuna göre yükseldiği; aynı değişimin maduramisın+üzüm çekirdeği (Grup 8) ve maduramisın (Grup 5) gruplarında da olduğu belirlendi. Lasalosid (Grup 4) ile lasalosid+üzüm çekirdeği (Grup 7) grupları arasında farkın ise önemsiz olduğu gözlemlendi ($P<0.05$).

GSH-Px : 21. günde kontrol grubu (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplara ait GSH-Px düzeyleri (Tablo 4.1) arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Kontrol ile ilaç verilen gruplar (Grup 3, 4 ve 5) arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ve her üç grupta GSH-Px enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük seyrettiği belirlendi. Kontrol ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları (Grup 6, 7 ve 8) arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulundu. İlaç grupları ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları arasındaki GSH-Px enzim aktiviteleri arasındaki fark da önemsiz bulundu ($P<0.05$).

42. günde kontrol grubu (Grup 1) ve üzüm çekirdeği verilen (Grup 2) gruplara ait GSH-Px düzeyleri (Tablo 4.2) arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Kontrol ile ilaç verilen gruplar (Grup 3, 4 ve 5) arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ve her üç grupta da GSH-Px miktarı kontrol grubuna göre daha düşüktü. Kontrol ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları (Grup 6, 7 ve 8) arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz bulundu. Yine ilaç ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($P<0.05$).

Tablo 4.1. 21. gün MDA, NO düzeyleri ve CAT, GSHPX enzim aktiviteleri

	MDA (nmol/ml)	NO (nmol/ml)	CAT (U/mgHb)	GSHPx (U/mgHb)
Grup 1	2,54±0,67 ^{ab}	39,96±9,24 ^a	0,09±0,03 ^d	0,29±0,13 ^c
Grup 2	2,41±1,02 ^{ab}	41,43±8,10 ^a	0,08±0,02 ^{cd}	0,28±0,13 ^{bc}
Grup 3	3,49±1,19 ^c	47,69±4,98 ^{ab}	0,04±0,02 ^a	0,16±0,07 ^a
Grup 4	3,21±0,77 ^{bc}	53,17±14,02 ^{bc}	0,05±0,02 ^{ab}	0,19±0,09 ^{ab}
Grup 5	3,50±0,94 ^c	57,13±14,06 ^c	0,06±0,02 ^{abc}	0,18±0,13 ^{ab}
Grup 6	2,29±0,99 ^a	43,82±4,35 ^a	0,06±0,01 ^{abc}	0,22±0,10 ^{abc}
Grup 7	3,07±0,83 ^{abc}	47,83±6,64 ^{ab}	0,07±0,01 ^{bcd}	0,24±0,07 ^{abc}
Grup 8	2,93±0,73 ^{abc}	47,10±2,96 ^{ab}	0,07±0,02 ^{bcd}	0,22±0,06 ^{abc}

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;

Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;

Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ($P<0.05$).

Tablo 4.2. 42. gün MDA, NO düzeyleri ve CAT, GSHPX enzim aktiviteleri

	MDA (nmol/ml)	NO (nmol/ml)	CAT (U/mgHb)	GSHPx (U/mgHb)
Grup 1	2,45±0,58 ^a	39,96±7,69 ^{ab}	0,09±0,01 ^c	0,31±0,15 ^c
Grup 2	2,36±0,46 ^a	38,44±3,19 ^a	0,10±0,03 ^c	0,29±0,15 ^{bc}
Grup 3	3,74±1,15 ^c	49,30±7,91 ^{cd}	0,05±0,01 ^{ab}	0,15±0,05 ^a
Grup 4	3,47±1,12 ^{bc}	50,53±14,26 ^d	0,06±0,01 ^{abc}	0,18±0,03 ^{ab}
Grup 5	4,03±0,90 ^c	47,64±13,24 ^{cd}	0,05±0,01 ^a	0,22±0,06 ^{ab}
Grup 6	3,17±1,32 ^{abc}	42,31±8,62 ^{abcd}	0,08±0,02 ^{de}	0,24±0,16 ^{abc}
Grup 7	2,71±0,92 ^{ab}	43,14±8,13 ^{abcd}	0,07±0,01 ^{cd}	0,28±0,13 ^{bc}
Grup 8	3,35±0,93 ^{bc}	41,62±4,65 ^{abc}	0,07±0,01 ^{bcd}	0,27±0,13 ^{bc}

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;

Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;

Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

4.2. HEMATOLOJİK BULGULAR

HB : 21. gün alınan kan numunelerinde kontrol grubu (Grup 1) ile üzüm çekirdeği katılan yemle beslenen gruplar (Grup 2) arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ve fark azalma yönündeydi. Kontrol grubu ile ilaç katılan yemle beslenen gruplar (Grup 3, 4 ve 5) arasında fark istatistiksel olarak önemsizdi. Kontrol grubu ile ilaç+üzüm çekirdeği grupları arasındaki fark lasalosid+üzüm çekirdeği grubu (Grup 7) arasında önemsiz bulundu. Salinomisin+üzüm çekirdeği ve maduramisin+üzüm çekirdeği (Grup 6 ve 8) grupları HB değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı görüldü. Salinomisin ile salinomisin+üzüm çekirdeği grupları Hb düzeyleri arasındaki fark önemsizken; lasalosid+üzüm çekirdeği grubunda lasalosid verilen gruba göre artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi. Maduramisin grubu Hb düzeyinde maduramisin+üzüm çekirdeği grubuna (Grup 8) göre azalma gözlemlendi (Tablo 4.3).

42 gün boyunca üzüm çekirdeği verilen grubun (Grup 2) Hb değerinde kontrol grubuna (Grup 1) göre önemli bir yükselme gözlemlendi. Kontrol ile salinomisin ve lasalosid grupları (Grup 3 ve 4) arasında fark önemsizken, maduramisin grubu (Grup 5) Hb değerinin kontrol grubuna göre yükseldiği görüldü. Kontrol grubu ile ilaç+üzüm

çekirdeği grupları (Grup 6, 7 ve 8) Hb düzeylerinde önemli bir fark bulunmadı ($P>0.05$)(Tablo 4.4).

HTC: 21. gün üzüm çekirdeği grubu HTC değeri (Tablo 4.3) ile kontrol grubu değerleri arasındaki fark önemsiz görüldü. Salinomisin ve maduramisin (Grup 3 ve 4) HTC değerlerinin kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi. Salinomisin+üzüm çekirdeği (Grup 6) HTC değerinin kontrole göre istatistiksel olarak önemli oranda azaldığı; lasalosid+üzüm çekirdeği (Grup 7) ve maduramisin+üzüm çekirdeği (Grup 8) gruplarında ise istatistiksel olarak önemli bir değişimin olmadığı gözlemlendi. Salinomisin (Grup 3) ile salinomisin+üzüm çekirdeği (Grup 6) ve lasalosid (Grup 4) ile lasalosid+üzüm çekirdeği (Grup 7) gruplarının HTC değerleri arasındaki fark önemsiz bulunurken; maduramisin+üzüm çekirdeği grubu (Grup 8) değerinin maduramisin grubuna (Grup 5) göre önemli oranda yükseldiği görüldü.

42. gün HTC değerlerinde (Tablo 4.4) gruplar arasında önemli bir farkın olmadığı belirlendi ($P<0.05$).

EOZİNOFİL : 21 ve 42. gün alınan kan numunelerinin eozinofil sayıları üzüm çekirdeği, ilaç ve üzüm çekirdeği+ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermedi (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

BAZOFİL : 21 ve 42. gün alınan kan numunelerinin bazofil sayıları üzüm çekirdeği, ilaç ve üzüm çekirdeği+ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermedi (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

NÖTROFİL : 21 ve 42. gün alınan kan numunelerinin nötrofil sayıları üzüm çekirdeği, ilaç ve üzüm çekirdeği+ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermedi (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

LENFOSİT : 21 ve 42. gün alınan kan numunelerinin lenfosit sayıları üzüm çekirdeği, ilaç ve üzüm çekirdeği+ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermedi (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

MONOSİT : 21 ve 42. gün alınan kan numunelerinin eozinofil sayıları üzüm çekirdeği, ilaç ve üzüm çekirdeği+ilaç gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermedi (Tablo 4.5 ve Tablo 4.6).

Tablo 4.3. 21. gün HB ve HTC değerleri

Grup	Hemoglobin 21. gün	Hematokrit 21. gün
Grup 1	8,52±1,21 ^{cd}	31,31±2,82 ^b
Grup 2	6,89±0,68 ^{ab}	31,91±4,01 ^b
Grup 3	7,52±0,86 ^{bc}	27,29±2,58 ^a
Grup 4	7,70±2,08 ^{bc}	32,71±5,53 ^b
Grup 5	7,42±1,32 ^{bc}	27,05±5,75 ^a
Grup 6	7,19±0,64 ^{ab}	28,23±2,53 ^a
Grup 7	9,02±1,64 ^d	34,05±2,51 ^b
Grup 8	6,26±0,84 ^a	31,49±2,63 ^b

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;
 Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;
 Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Tablo 4.4. 42. gün HB ve HTC değerleri

Grup	Hemoglobin 42. gün	Hematokrit 42. gün
Grup 1	9,36±0,68 ^a	35,85±3,15
Grup 2	10,71±1,28 ^b	37,81±1,98
Grup 3	9,94±0,95 ^{ab}	35,19±3,38
Grup 4	8,89±0,93 ^a	33,67±5,55
Grup 5	10,65±1,92 ^b	35,00±3,47
Grup 6	10,03±2,09 ^{ab}	35,57±5,53
Grup 7	8,78±1,48 ^a	35,97±5,68
Grup 8	9,01±0,95 ^a	33,84±2,99

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;
 Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;
 Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

^{a,b}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Tablo 4.5. 21. gün Lökosit tipleri (%)

21. gün	Eozinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
Grup 1	2,50±1,91	17,25±10,30	28,25±4,03	56,25±10,65	2,25±2,87
Grup 2	1,50±1,29	11,75±1,70	19,25±5,73	66,00±8,60	4,00±2,30
Grup 3	3,75±3,09	14,00±5,16	22,00±6,32	57,00±14,39	3,75±2,06
Grup 4	4,00±2,70	12,00±4,69	18,25±4,03	59,50±3,41	3,50±1,73
Grup 5	5,00±1,41	15,00±5,03	24,00±5,09	56,25±4,78	3,25±1,89
Grup 6	3,50±1,91	18,75±11,47	17,50±9,43	62,25±10,21	3,50±2,08
Grup 7	4,00±1,82	12,50±5,00	21,25±2,21	52,75±8,84	5,25±,95
Grup 8	3,75±1,25	13,00±3,36	21,25±9,42	49,75±8,65	5,00±2,16

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;

Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;

Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

Tablo 4.6. 42. gün Lökosit tipleri (%)

42. gün	Eozinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
Grup 1	3,50±2,38	13,25±5,73	29,00±7,39	54,25±4,34	3,50±3,00
Grup 2	2,50±1,91	19,50±5,25	30,00±8,48	44,00±16,08	6,50±10,50
Grup 3	2,75±3,20	16,00±4,89	18,75±5,61	59,25±6,70	2,25±1,70
Grup 4	2,50±1,73	13,00±4,76	22,50±11,12	50,00±5,88	8,25±12,60
Grup 5	2,00±2,44	12,25±4,78	29,75±6,94	57,50±13,91	2,00±2,30
Grup 6	2,25±2,06	17,75±6,44	22,25±8,18	53,75±6,39	3,50±2,38
Grup 7	4,50±1,91	21,00±4,76	20,00±1,63	42,50±24,13	5,00±2,58
Grup 8	2,25±2,06	17,75±6,44	22,25±8,18	50,75±5,85	3,50±2,38

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;

Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;

Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

4.3. CANLI AĞIRLIK ARTIŞI VE YEMDEN YARARLANMAYA İLİŞKİN BULGULAR

Canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmanın 42 günde değerlendirildiği çalışmamızda, canlı ağırlık artışı yönünden kontrol grubu (Grup 1) ile üzüm çekirdeği grubu (Grup 2) arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olmadığı belirlendi. Canlı ağırlık artışı yönünden kontrol grubu ve iyonofor katkılı yemle beslenen gruplar (Grup 3, 4 ve 5) arasında; kontrol grubu ve iyonofor antibiyotik+üzüm çekirdeği verilen gruplar (Grup 6, 7 ve 8) arasında da istatistiksel açıdan önemli farklılığın olmadığı gözlemlendi. Üzüm çekirdeği verilen grupla diğer deneme grupları karşılaştırıldığında, iyonofor antibiyotik verilen gruplarda (Grup 3, 4, 5), salinomisin+üzüm çekirdeği ve lasalosit+üzüm çekirdeği verilen gruplarda (Grup 6 ve 7) canlı ağırlık artışının yükseldiği ve bu yükselmenin önemli olduğu ($p < 0.05$) görüldü. İyonofor antibiyotik ve üzüm çekirdeğinin bir arada verildiği gruplar canlı ağırlık artışı yönünden birbiriyle karşılaştırıldığında, değişimlerin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi (Tablo 4.7).

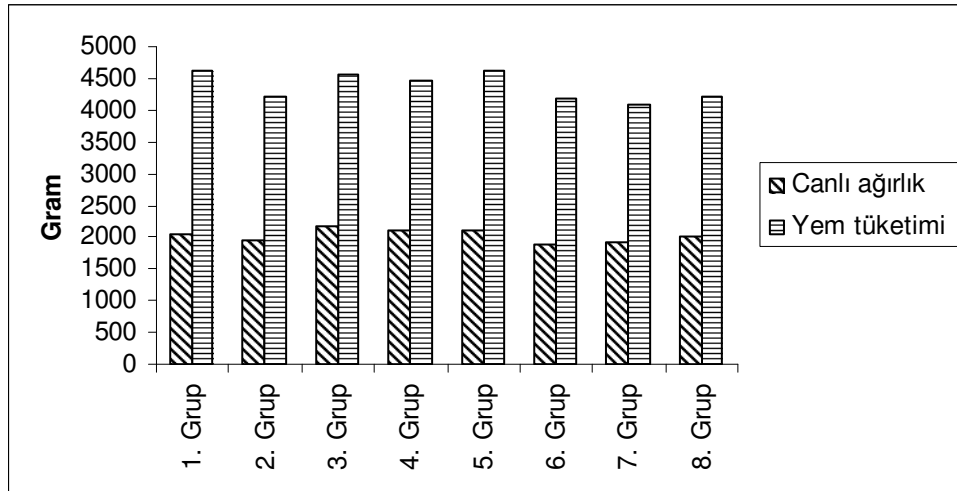
Tablo 4.7’de görüldüğü gibi 42 gün boyunca üzüm çekirdeği verilen gruptaki yemden yararlanma oranı kontrol grubuna göre artış göstermektedir (% 5). Salinomisin, lasalosid ve maduramisin verilen gruplarda da (grup 3, 4 ve 5) kontrole göre (grup 1) yemden yararlanmanın hafif düzeyde arttığı (sırasıyla % 5.3, 7.4 ve 4.4), bu artışın en fazla salinomisin grubunda olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde iyonofor grubu antibiyotiklerle üzüm çekirdeğinin bir arada verildiği gruplarda da (Grup 6, 7 ve 8) kontrole göre (grup 1) yemden yararlanma oranında hafif artışlar olduğu (sırasıyla % 2.2, 6.9 ve 8.3) ; en yüksek yemden yararlanma oranının maduramisin+üzüm çekirdeği verilen grupta olduğu gözlenmektedir. İyonofor verilen gruplarla (Grup 3,4 ve 5) iyonofor+üzüm çekirdeği verilen gruplar (Grup 6, 7 ve 8) karşılaştırıldığında; maduramisin+üzüm çekirdeği verilen grupta maduramisin verilen gruba göre yemden yararlanma yüzdesinde artış (% 4.1), salinomisin verilen gruba göre salinomisin+üzüm çekirdeği verilen grupta yemden yararlanmada azalma (% 3.2), lasalosid verilen gruba göre lasalosid+üzüm çekirdeği verilen grupta ise yemden yararlanmada hafif bir azalma (% 0.6) tespit edildi. Üzüm çekirdeği verilen grupla (Grup 2) iyonofor antibiyotik+üzüm çekirdeği verilen gruplar (Grup 6, 7 ve 8) karşılaştırıldığında; salinomisin+üzüm çekirdeği verilen grupta yemden yararlanmada azalma gözlenirken

(% 2.9), lasalosid+üzüm çekirdeği ve maduramisin+üzüm çekirdeği verilen gruplarda yemden yararlanmada artış olduğu belirlenmiştir (sırasıyla % 1.9 ve 3.4).

Tablo 4.7. 42. günde canlı ağırlık (g), yem tüketimi (g) ve yemden yararlanma

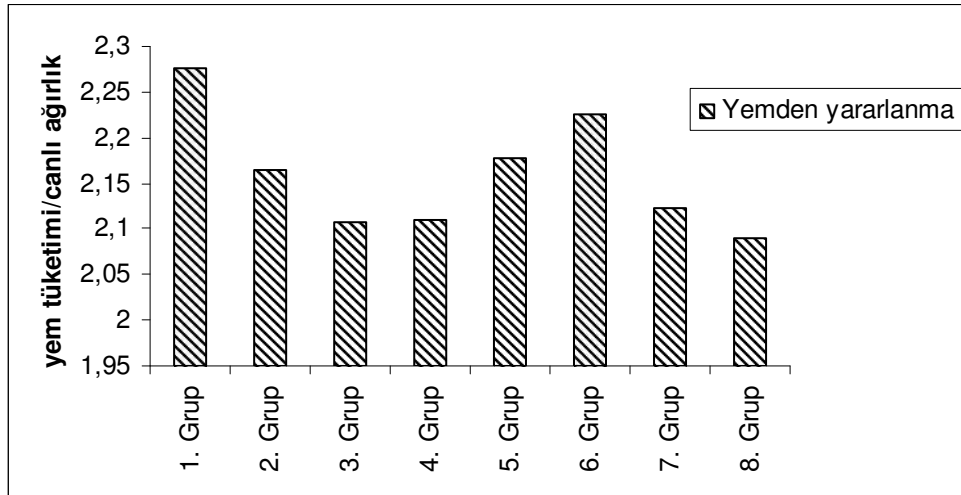
Grup	Canlı ağırlık artışı (g)	Yem tüketimi (g)	Yemden yararlanma kabiliyeti [yem tüketimi (g) /CA artışı (g)]
1. Grup	2032,50±270,06 ^{ab}	4629	2,277
2. Grup	1941,66±158,49 ^a	4203	2,164
3. Grup	2116,66±175,29 ^b	4566	2,157
4. Grup	2122,50±131,00 ^b	4480	2,110
5. Grup	2119,16±198,29 ^b	4617	2,179
6. Grup	1884,16±206,60 ^a	4196	2,227
7. Grup	1931,25±211,69 ^a	4098	2,122
8. Grup	2012,08±170,92 ^{ab}	4206	2,090

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;
Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;
Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.



Grafik 4.1. Canlı ağırlık artışı ve yem tüketimi

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;
Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;
Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.



Grafik 4.2. Yemden yararlanma

Grup 1, kontrol; Grup 2, üzüm çekirdeği; Grup 3, salinomisin; Grup 4, lasalosit;

Grup 5, maduramisin; Grup 6, salinomisin+ üzüm çekirdeği; Grup 7, lasalosit+ üzüm çekirdeği;

Grup 8, maduramisin + üzüm çekirdeği.

^{a,b,c,d}. Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Üzüm çekirdeği ekstraktı ile yapılan akut ve subkronik oral toksisite çalışmalarında (87) 2 ve 4 g/kg akut oral doz çalışmasında mutajenite gözlenmemiştir. %0,002, 0,2 ve 2 g/kg dozlarda 90 gün boyunca ratlara uygulanan üzüm çekirdeği ekstraktı ekstresinin toksik etkiler göstermediği belirlenmiştir. Subkronik toksisite çalışmalarında diyet içinde %2'lik üzüm çekirdeği ekstraktı (erkek; 1410 mg/kg vücut ağırlığı, günde, dişide; 1501 mg/kg vücut ağırlığı karşılık gelen doz) uygulanması sonrası herhangi bir yan etki gözlenmemiştir. Üzüm çekirdeği ekstraktı için LD₅₀ (ortalama ölüm dozu) değeri erkek ve dişi ratlara akut toksisite çalışmasında uygulanan 4 g/kg'dan daha yüksek bulunmuştur. Özetle proantosiyanidinler nontoksik, nonmutajenik ve nonkarsinojenik olarak kabul edilmektedirler. Bu çalışmada da etçi piliçlere 42 gün boyunca % 0,5 oranında rasyona katılarak verilen üzüm çekirdeği ekstresinin lipid peroksidasyon ve hematolojik parametrelerde herhangi bir olumsuz etkiye yol açmadığı; hatta üzüm çekirdeği verilen gruptaki piliçlerin yemden yararlanma oranının (2,164) kontrol grubuna göre (2,277) arttığı belirlendi.

İyonofor antibiyotikler özellikle et tipi piliçler olmak üzere, tavuk yetiştiriciliğinde yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Karboksilik iyonoforlar olarak da bilinen bu gruptan bileşikler, çeşitli metallerle yağda çözünebilen bileşikler oluşturmak suretiyle, kolaylıkla biyolojik zarlardan geçebilirler. Ancak öngörülenden daha yüksek düzeylerde

kanatlı yemlerine katıldıklarında, çeşitli elektrolit maddeleri ile suyun aktif taşınmasına ve dolayısıyla metabolizmalarının bozulmasına, sonuç olarak zehirlenmelere sebep olurlar. Alınan ilaç miktarına göre hayvanlarda değişik derecelerde ve niteliklerde subklinik ve klinik zehirlenmeler kaçınılmaz olabilir (88).

İyonoforlarla zehirlenme olaylarının sağaltımında bugün için özel bir antidot ve tedavi yöntemi de yoktur. Ancak vitamin E ve selenyum gibi antioksidanlar çeşitli dokularda (kalp kası ve isleket kaslarında) otooksidasyon olayını önleyerek koruyucu yönde etki oluşturmakta ve birbirinin etkisini tamamlamaktadır (89).

İyonofor grubu antibiyotiklerin kanatlılarda zehirliliğine ilişkin bazı çalışmalar bulunmaktadır:

Singh ve Gupta (90) 5 ve 10 ppm oranında maduramisin katılmış yemlerle 21 gün süreyle beslenen civcivlerde büyüme oranının yavaşladığını tespit etmişlerdir. 10 ppm maduramisin içeren yem verilen civcivlerde ikinci haftada sulu dışkı, depresyon, sersemlik ve tüylerde karışıklık tespit edilirken bu belirtiler diğer grupta (5 ppm maduramisin) üçüncü haftada oraya çıkmıştır. Her iki grupta da 14. günde hemoglobinde azalma ve 10 ppm maduramisin içeren yemle beslenen grupta 21. günde total eritrosit sayısı ve şekilli hücre hacminde azalma bildirmişlerdir.

Arun ve ark (91) 5 ve 8 ppm dozda 6 hafta boyunca maduramisin verilen etçi civcivlerdeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, 8 ppm verilen grupta inkoordinasyon, uyuşukluk, bacaklarda güçsüzlük, ishal, yem alımında azalma ve kilo kaybı gözlemlenmiştir. Nekropsi bulgularında iskelet ve kalp kası, akciğerler, böbrek, karaciğer, bağırsaklar ve bursada yaygın lezyonlar; hematoloji bulgularında ciddi makrositik anemi; biyokimyasal parametrelerde ise serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fostataz ve laktat dehidrogenaz aktivitesi ve üre, kreatinin ve kolesterol seviyesinde yükselme, total protein, albumin ve globulin seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. 5 ppm oranında maduramisin içeren yemle beslenen grupta ise parametrelerde belirgin değişikliklerin olmadığı belirtilmiştir.

Yarsan (92) monensinin yüksek miktarlarda (220 ppm ve 330 ppm) verildiğinde etlik civcivlerde iskelet ve kalp kasındaki hasarın göstergesi olarak serum CPK ve AST etkinliğinin yükseldiğini; monensinin hücre zarlarında lipid peroksidasyonun önemli belirteçlerinden biri olarak kabul edilen MDA seviyesini artırdığını; sonuç olarak

yüksek dozda monensine maruz kalan hayvanların iskelet ve kalp kasında dejeneratif değişikliklerin oluştuğunu belirlemiştir.

Braunius (93) iyonofor grubu antikoksidyal ilaçların meydana getirdiği zehirlenmelerin felç ve kalitesiz karkas oranında artış gibi semptomları artırdığını bildirmiştir.

İyonofor grubu ilaçların yukarıda belirtilen etkileri yanında, hücrede özellikle sodyum ve kalsiyum birikimine yol açabilen olaylar sonucu, özellikle noradrenalin gibi nöromediyatörlerin salıverilmesine, hücre içi yükseltgenme olaylarının hızlanmasına ve böylece etkin oksijen gruplarının açığa çıkması sonucu kalp ve iskelet kası başta olmak üzere doku ve organlarda nekrozla sonuçlanabilen dejeneratif bozuklukların gelişmesine yol açabilmektedirler (88).

Lipid Peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu membran lipid yapısını değiştirerek hücrenin yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır. Normalde düşük düzeyde tüm hücre ve dokularda meydana gelir (94). İnsan ve hayvanlarda serbest radikaller birincil olarak hastalık nedeni olabildiği gibi bazı hastalıklarda da ikincil olarak ortaya çıkmakta; diyabet, kanser, yaşlanma ve reperfüzyon hasarı gibi birçok patolojik süreçte önemli rollerinin olduğu (10, 95); bazı ilaçların toksik etki mekanizmalarından birisinin oksidatif stresi uyarmaları olduğu (96) bildirilmektedir.

Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde en çok kullanılan yöntem malondialdehit düzeyinin tespittir. Malondialdehit yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü olmamasına karşın, reaktif oksijen türlerinin hücresel membranlarla etkileşiminden kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun en önemli belirteci olarak kabul edilmektedir (28, 97). Nitrik oksit süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşturmaktadır ki oluşan son madde hücre membranında lipid peroksidasyonu başlatarak hücre hasarına neden olmaktadır. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) oksijen ve suya parçalar, böylece hücreleri H_2O_2 'ye bağımlı oksidatif hasara karşı korur. Hücre membranlarında bulunan doymamış yağların, peroksitler tarafından oksitlenmesi glutasyon peroksidaz tarafından önlenmekte ve böylece hücre fonksiyonlarının devamlılığı sağlanmaktadır. Belirtilen nedenlerden dolayı, biyolojik sıvılar ve dokulardaki MDA ve NO düzeyleri ile CAT ve GSH-Px

enzim aktivitelerindeki normale göre olan değişimler, oksidan-antioksidan dengedeki bozulmanın göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada, kontrol grubuna göre salinomisin verilen grupta 21. gün MDA değerlerinde yükselme, eritrosit CAT ve GSH-Px enzim aktivitesinde azalmanın görülmesi; 42. gün MDA ve NO düzeylerindeki yükselme, CAT ve GSH-Px enzim aktivitesindeki azalma salinomisinin lipid peroksidasyonu uyardığını göstermektedir. Çalışmada 42. gün MDA ve NO değerlerinin 21. güne göre yükselmesi; GSH-Px aktivitesinin ise azalması, salinomisinin lipid peroksidasyona yol açıcı etkilerinin süreyle orantılı bir şekilde şiddetlendiğini göstermektedir. Salinomisinin lipid peroksidasyona yol açıcı etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır: Mezes ve ark (4) etçi piliçlere 28 gün boyunca yemle 60 mg/kg dozda verilen salinomisinin karaciğer MDA düzeyinde yükselmeye, GSH-Px aktivitesinde ise azalmaya yol açtığını; Dworschak ve Prohaszka (98) yüksek dozda salinomisin verilen domuzlarda kan MDA düzeyinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçlarımız daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

İyonofor grubu antibiyotiklerin yüksek dozda kullanımının bazı hematolojik parametreler üzerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir (80,94). Bu çalışmada salinomisin verilen etçi piliçlerde yalnızca 21. gün hematokrit değerinde kontrole göre azalma dikkat çekicidir. Diğer parametrelerde (hemoglobin, eozinofil, bazofil, nötrofil, lenfosit ve monosit) ise istatistiksel olarak önemli değişimler gözlenmemiştir ki bu durum, tavsiye dozunda (60 ppm) 42 gün boyunca yeme katılarak verilen salinomisinin hematolojik parametreler üzerinde önemli istenmeyen etkileri olmadığını göstermektedir.

Lasalosid etlik piliç yemlerine 75-125 ppm arasında katılarak devamlı verilen bir antikoksidial ilaçtır. Normal dozlarda, iyonofor antibiyotiklerin en gvenlisidir, ancak yüksek dozlarda verildiğinde (115-150 ppm) etlik civcivlerde bacaklarda zayıflama ve ataksi, dışkının sulanmasına ve sürgüne sebep olabilmektedir (88, 99, 100). Bu çalışmada, lasalosid verilen grupta (grup 4) kontrol grubuna göre, 21. gün MDA düzeylerinde anlamlı bir yükselme görülmezken, 42. gün MDA değerlerinde yükselme, 21 ve 42. gün NO değerlerinde artış, 21. ve 42. gün CAT aktivitesinde azalma, Gsh-Px düzeylerinde ise her iki dönemde de azalma belirlendi. Bu bulgular ışığında 100 ppm düzeyinde etçi piliçlere verilen lasalositin de lipid peroksidasyonunu uyardığı sonucuna

varılmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları, lasalosit verilen piliçlerdeki 21. ve 42. gün değerleri arasında önemli bir değişimin olmadığını ortaya koymaktadır ki bu sonuç, lasalositin neden olduğu lipid peroksidasyonu şiddetinin verilme süresi ile orantılı olarak artmadığını göstermektedir.

Lasalositin hematokrit değerler üzerine etkisi irdelendiğinde, HB ve HTC değerlerinde kontrole göre önemli bir değişimin olmadığı; yine kan eozinofil, bazofil, nötrofil, lenfosit ve monosit oranlarında kontrole göre önemli değişimin olmadığı görülmektedir. Bu bulgular etçi piliçlere 100 ppm dozunda 21 ve 42 gün süre ile yeme katılarak verilen lasalositin hematolojik değerlere yönelik önemli istenmeyen etkilerinin bulunmadığını göstermektedir.

Maduramisın kanatlı yemlerine 5 ppm düzeyinde katılarak devamlı verilen bir antikoksidiyal ilaçtır. İlacın sağaltım indeksi dardır, yeme 12.5 ppm düzeyinde katıldığında gelişme geriliğine yol açabilir. Maduramisinin kanatlılardaki zehirliliği ile ilgili çalışmalarda;

Singh ve Gupta (90) 5 ve 10 ppm oranında maduramisın katılmış yemlerle 21 gün süreyle beslenen civcivlerde büyüme oranının yavaşladığını tespit etmişlerdir. 10 ppm maduramisın içeren yem verilen civcivlerde ikinci haftada sulu dışkı, depresyon, sersemlik ve tüylerde karışıklık tespit edilirken bu belirtiler diğer grupta (5 ppm maduramisın) üçüncü haftada oraya çıkmıştır

Arun et. Al. (91) 5 ve 8 ppm dozda 6 hafta boyunca maduramisın verilen etçi civcivlerdeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada, 8 ppm verilen grupta inkoordinasyon, uyuşukluk, bacaklarda güçsüzlük, ishal, yem alımında azalma ve kilo kaybı gözlemlenmiştir. Nekropsi bulgularında iskelet ve kalp kası, akciğerler, böbrek, karaciğer, bağırsaklar ve bursada yaygın lezyonlar; biyokimyasal parametrelerde ise serum alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fostataz ve laktat dehidrogenaz aktivitesi ve üre, kreatinin ve kolesterol seviyesinde yükselme, total protein, albumin ve globulin seviyelerinde azalma gözlemlenmiştir. 5 ppm oranında maduramisın içeren yemle beslenen grupta ise parametrelerde belirgin değişikliklerin olmadığı belirtilmiştir

Maduramisinin lipid peroksidasyona etkileri ile ilgili bir çalışma bulunmamakla birlikte, diğer iyonoforlarda olduğu gibi maduramisinin de adrenal kromafin hücrelerinden kateşolamin salınmasına, kateşolamin transportuna ve kateşolaminlerin bozunmasına

bağlı olarak serbest radikaller şekillendirmesi muhtemeldir (97, 98). Araştırmamızda, kontrol grubuna göre maduramisinin 21. ve 42. gün MDA ve NO değerlerinde artış; CAT ve GSH-Px düzeylerinde azalma belirlenmiştir. Bu bulgular normal dozda (5 ppm) kullanılan maduramisinin hidroperoksitler ve NO kaynaklı lipid peroksidasyonuna yol açtığını ortaya koymaktadır.

Maduramisinin hematolojik parametreler üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Singh ve Gupta (90) civcivlere yemle 5 ve 10 ppm verilen maduramisinin 14. günde kan hemoglobin seviyesinde azalmaya; 10 ppm maduramisin içeren yemle beslenen grupta 21. günde total eritrosit sayısında ve şekilli hücre hacminde azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. Arun et al (91) civcivlere 6 hafta boyunca 8 ppm düzeyinde verilen maduramisinin şiddetli makrositik anemiye yol açtığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise, salinomisin ve lasalosit verilen gruplarda olduğu gibi maduramisin verilen gruplarda da lökosit tiplerinin yüzde oranlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli değişimlerin olmadığı; yalnızca 42. gün hemoglobin değerinin kontrole göre önemli düzeyde arttığı ve 21. gün hematokrit değerlerinin azaldığı gözlemlendi. 21. gün hematokrit değerlerindeki azalma daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Ancak 42. günde hematokrit değeri kontrol grubuna yaklaşmaktadır. Bu bulgu ile birlikte 21. günde düşen hemoglobin seviyesinin 42. günde tekrar yükselmesi, maduramisinin verilme süresi ve civcivlerin ırksal farklılıklarına bağlı olabileceği gibi, vücudun maduramisinin olumsuz etkilerine karşı gösterdiği bir savunma mekanizması olarak da değerlendirilebilir.

Üzüm çekirdeğinin antioksidan etkili olduğu ve organizmada gelişen lipid peroksidasyonu azalttığı yapılan birçok araştırma ile ortaya konulmuştur. Wang ve ark (101) deneysel *E. tenella* enfeksiyonu oluşturulan civcivlerde üzüm çekirdeği ekstraktının koksidiyoz kaynaklı barsak hasarını iyileştirdiğini, kanatlı ölümlerini azalttığını ve civcivlerde canlı ağırlık kazancını arttırdığını belirlemişler; bu etkileri üzüm çekirdeğinin koksidiyozca oluşan lipid peroksidasyona karşı antioksidan özellik göstermesi ile açıklamışlardır. Ancak üzüm çekirdeğinin iyonofor grubu antibiyotiklerle oluşan lipid peroksidasyona karşı etkileriyle ilgili bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada bu amaçla üzüm çekirdeği ile birlikte iyonofor grubu antibiyotik verilen gruplarla, yalnızca iyonofor grubu antibiyotik verilen grupları karşılaştırdık. 21. gün salinomisin+üzüm çekirdeği verilen grupta MDA düzeyinde salinomisin verilen gruba

göre istatistiksel olarak önemli azalmanın olduğu; NO düzeyindeki azalma; katalaz ve GSH-Px düzeyinde artışın ise istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir ($p>0.05$). Özellikle MDA düzeyindeki değişimden hareketle, üzüm çekirdeğinin salinomisine oluşan lipid peroksidasyona karşı kısmen koruyucu etkinlik gösterdiği söylenebilir. Üzüm çekirdeği ile birlikte salinomisin verilen grupta 42. gün MDA ve NO düzeyleri ile GSH-Px aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişim bulunmamakta; yalnızca CAT aktivitesinde önemli bir yükselme dikkat çekmektedir ($p<0.05$). Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) oksijen ve suya parçalayarak, hücreleri H_2O_2 kaynaklı oksidatif hasara karşı korur. Bu bulgu, üzüm çekirdeğinin, piliçlerde salinomisine oluşması muhtemel H_2O_2 kaynaklı oksidatif hasara karşı koruyucu etkinliğinin olduğunu göstermektedir.

Üzüm çekirdeği+lasalosit verilen grupla sadece lasalosit verilen grup karşılaştırıldığında, üzüm çekirdeğinin 21. ve 42. günde MDA ve NO seviyelerinde önemli olmayan azalma; CAT ve GSH-Px aktivitelerinde ise yine önemli olmayan yükselme gözlenmektedir ($p>0.05$). Bu bulgular, piliçlere yemle birlikte % 0.5 oranında verilen üzüm çekirdeğinin lasalositçe oluşturulan lipid peroksidasyona karşı koruyucu etkisinin yetersiz olduğunu ortaya koymaktadır.

Üzüm çekirdeği+maduramisin grubu (Grup 8) ile maduramisin verilen gruplarda (Grup 5), üzüm çekirdeğinin sadece 21. gün NO değerini önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Üzüm çekirdeği+maduramisin grubu 42. gün değerlerinde yalnızca CAT aktivitesinde yükselme görülmüştür. Kontrol grubu ile maduramisin verilen grupta da maduramisinin NO düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir yükselmeye yol açtığı belirlenmişti. Üzüm çekirdeği+maduramisin verilen grupta 21. gün NO düzeyindeki azalma ve 42. gün CAT aktivitesinde yükselme, bu maddenin özellikle NO kaynaklı lipid peroksidasyona karşı etkili olduğunu, üzüm çekirdeğinin tükenme periyoduna giren CAT enziminin sentezini indüklediğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada sağaltım dozlarında iyonofor grubu verilen gruplarda 42. günün sonunda kontrol grubuna göre yemden yararlanma oranının artışı olduğu gözlenmektedir (salinomisinde % 5.3, lasalositte % 7.4 ve maduramisinde % 4.4). Ayrıca iyonofor antibiyotiklerle üzüm çekirdeğinin birlikte verildiği gruplarda (Grup 6, 7 ve 8) kontrole göre (Grup 1) yemden yararlanmanın arttığı görülmektedir. Canlı ağırlık artışı yönünden bir değerlendirme yapıldığında ise, sadece salinomisin, lasalosid ve

maduramisin verilen gruplarda (Grup 3, 4 ve 5) üzüm çekirdeği verilen gruba göre (Grup 2) canlı ağırlık artışında istatistiksel olarak önemli yükselmenin olduğu dikkat çekmektedir. Harms ve Buresh (102) etçi civcivlere yemle birlikte nispeten zehirli dozda verilen salinomisin (88 ppm) canlı ağırlık ve yem tüketiminin sırasıyla % 10 ve % 13 oranında azaldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada salinomisin ve diğer iyonoforlar normal sağaltım dozunda yeme katılarak etçi piliçlere verilmiştir (Grup 3, 4 ve 5). Bu durum iyonoforların normal dozlarda yemden yararlanmayı hafif düzeyde artırdığını, zehirleyici dozlarda ise yemden yararlanmayı azalttığını ortaya koymaktadır. Keza, normal dozlarda (60-66 ppm) yeme katılarak etçi piliçlere verilen salinomisin yemden yararlanma ve canlı ağırlık kazanma oranları üzerinde belirgin olumlu etki yaptığı; belirtilen olumlu yönleri nedeniyle et-tipi piliç yemlerine koksidiyoza karşı karma yemlere 60–66 ppm düzeyinde katılmak suretiyle sürekli verilebileceği bildirilmektedir (2, 7).

Yarsan (89) yapmış olduğu çalışmada 220 ve 330 ppm düzeylerinde yeme ilave edilen monensinin iştahsızlık ile beraber yem tüketiminde azalma oluşturduğunu, bunun sonucunda canlı ağırlık kazancının azaldığını gözlemlemiştir. Monensinin 110 ppm’lik miktarına maruziyet sonucunda canlı ağırlık kazancında önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular da Harms ve ark. (102) tarafından belirtilen bulgularla uyum içerisindedir. Araştırmacı vitamin E ve selenyum gibi antioksidanların monensinle birlikte verilmesinin bu iyonofor antibiyotik tarafından meydana getirilen istenmeyen etlilerinin önlenmesinde faydalı olduğu sonucuna varmıştır. Bu çalışmada benzer şekilde antioksidan etkinliği bulunan üzüm çekirdeği aynı amaçla kullanılmıştır.

Üzüm Çekirdeği, yapılan çalışmalarla herhangi bir yan etkisi belirlenmemiş, son derece güvenli bir besin takviyesi olarak kabul edilmektedir. Antioksidan etki başta olmak üzere birçok farmakolojik etkilere sahip proantosiyanidinleri içeren üzüm çekirdeği bu özelliği ile organizmada hücre zarlarını güçlendirir ve hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Bu araştırmada da 42 gün süre ile % 0.5 oranında yeme katılarak etçi piliçlere verilen üzüm çekirdeğinin lipid peroksidasyon ve hematolojik parametreler üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin bulunmadığı ve üzüm çekirdeğinin salinomisin, lasalosid ve maduramisince şekillenen lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

İyonofor grubu antibiyotiklerin özellikle yüksek dozlarda hücrede özellikle sodyum ve kalsiyum birikimine yol açabilen olaylar sonucu hücre içi yükseltgenme olaylarının hızlanmasına ve böylece etkin oksijen gruplarının açığa çıkmasına, doku ve organlarda nekrozla sonuçlanabilen dejeneratif bozuklukların gelişmesine yol açabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmayla iyonofor antibiyotiklerden olan salinomisin, lasalosid ve maduramisinin normal sağaltım dozlarında dahi lipid peroksidasyonu tetiklediği ortaya konuldu.

Bu araştırmayla sonuç olarak, etçi piliçlere 42 gün süre ile % 0.5 oranında yeme katılarak verilen üzüm çekirdeğinin lipid peroksidasyon ve hematolojik parametreler üzerine herhangi bir olumsuz etkiye yol açmadığı; etçi piliçlere sağaltım dozlarında yeme katılarak verilen salinomisin, lasalosid ve maduramisinin özellikle 42 gün süreyle verilmede lipid peroksidasyona yol açtığı; salinomisin, lasalosid ve maduramisinle birlikte verilen üzüm çekirdeğinin bazı lipid peroksidasyon ve hematolojik parametreler üzerine iyileştirici etkiler gösterdiği belirlendi.

6. KAYNAKLAR

1. Adams HR. Chemoteraphy of parasitic diseases. In: Veterinary pharmacology and therapeutics. Iowa State University, Iowa, 1995: 969–982
2. Şanlı Y. Antikoksidial İlaçlar: Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri, Özkan Matbaacılık, Ankara, 1999:961–964
3. Şener S. Veteriner Farmakoloji. İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi, İstanbul, 2006:174–177
4. Mezes M, Salyi G, Banhidi G, Szeberenyi S. Effect of acute salinomycin- tiamulin toxicity on lipid peroxide and antioxidant status of broiler chicken. Acta Vet Hung 1992;40 (4):251-7
5. Szucs G, Tamási V, Laczay P, Monostory K. Biochemical background of toxic interaction between tiamulin and monensin. Chem Biol Interact. 2004 Mar 15; 147(2): 151-61.
6. Islam KM, Afrin S, Khan MJ, Das PM, Hassan MM, Valks M, Burch DG, Pesti GM. Compatibility of a combination of tiamulin plus chlortetracycline with salinomycin in feed during a long-term co-administration in broilers. Poult Sci 2008; 87(8):1565–1568
7. Şanlı Y, Kaya S. Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri. Feryal Matbaacılık. Ankara, 1991: 681–682.
8. Şanlı Y. Kaya S. Veteriner İlaç Rehberi ve Uygulamalı Bilgiler El Kitabı, Medisan Yayınevi, Yayın No, 16, Ankara, 1994: s: 363–402

9. Oehme FW, Pickrell JA. An analysis of the chronic oral toxicity of polyether ionophore antibiotics in animals. *Vet Hum Toxicol.* 1999; 41(4): 251–257. Review
10. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* (2nd ed). Clarendon Press, Oxford 1989, pp 10, 73–128, 247–249
11. Mc Cord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/ antioxidant balance. *Clin biochem* 1993; 26: 351–357
12. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence. *Lancet* 1994; 344: 721–724
13. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med* 1980; 93: 480–489
14. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984; 219: 1–14
15. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease, free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412–426
16. Cadenas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 79–110
17. Czapski G. Reaction of OH^- . In: Colowick SP, Kaplan NO (eds). *Methods Enzymol.* Academic Press Inc. New York, San Fransisco, London 1984; 105: 209–215
18. Groor H. Reactive oxygen species in tissue injury. *Hepatogastroenterology* 1994; 41: 328–332
19. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991; 91(3C): 31–38. Review
20. Bast A, Haenen GR, Doelman CJA. Oxidants and antioxidants: State of the art. *Am J.Med* 1991; (Suppl 3C): 2–13
21. Dargel R. Lipid peroxidation a common pztrogenetic mechanism? *Exp Toxic Pathol* 1992; 44: 169–181
22. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem SCI* 1990; 15: 129–135
23. Clemens MR, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids* 1987; 45: 251–268
24. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 181–200

25. Clavel JP, Emerit J, Thuiller A. Lipid peroxidation and free radicals. Role in cellular biology and pathology. *Pathol Biol* 1985; 33: 61–69
26. Durak İ, Kaçmaz M, Çimen MY, Büyükoçak S, Elgün S, Öztürk HS. The effects of cyclosporine on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in rabbit hepatic tissues. *Transpl Immunol* 2002; 10: 255–258
27. Masulmah M, Fairuz AH, Gapor MT. Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats. *Asia Pac J Clin Nutr* 2002; 11: 448-451
28. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stres. *Life Sci* 1991; 48: 301–309
29. Halliwell B, Gutteridge JMC. Lipid peroxidation: a radical chain reaction. In: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford, 1989; Pp: 139–187.
30. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit, biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Palme Yayıncılık, Ankara. 2003
31. Tunçtan B, Abacıoğlu N. Biyolojik örneklerde nitrik oksit ölçümü: Diazotizasyon yöntemi. *FABAD J* 1998; 23: 161–170
32. Benzer F, Ozan S, Fasciola hepatica ile Enfekte Koyunlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzimler ve Nitrik Oksit Düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27: 657-661
33. Henderson LM, Chappel JB, Jones OTG. Internal pH changes associated with the activity of NADPH oxidase of human neutrophils. *Biochem J* 1988; 251: 563-567
34. Klebanoff SJ, Waltersdorph AM, Rosen H. Antimicrobial activity of myeloperoxidase. *Methods Enzymol* 1982; 105: 399–403
35. Andrews PC, Parnes C, Krinsky NI. Comparison of myeloperoxidase and hemi-myeloperoxidase with respect to catalysis, regulaiton, and bactericidal activity. *Arch Biochem Biophys* 1984; 228: 439–442
36. Reed DJ. Regulation of reductive processes by glutathione. *Biochem Phamacol* 1986; 35: 7–13
37. Yarsan E. Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. *YYÜ Vet Fak Derg* 1998; 9(1-2): 89-95
38. Soyer Y, Koca N, Karadeniz F. Organic acid profile of Tukish white grapes and grape juices. *Journal of Food Composition and Analysis* 2003; 16 (5): 629–636

39. Sagdic O, Ekici L. 2005. Phenolic compounds and bioactivities of grape (*Vitis vinifera*) and its seed. *Journal of Hasad Food* 21 (244) 30–34
40. Yılmaz Y ve Toledo RT. Health aspects of functional grape seed constituents *Trends in Food Science & Technology* 2004; 15(9) :422–433
41. Kaya S. Beşeri hekimlikte kullanılan tıbbi bitkiler: Üzüm. *Tıbbi botanik ve tıbbi bitkiler*. Medisan Yayınevi. Ankara 2008: 239
42. Souquet JM, Cheynier V, Brossaud F, Moutounet M. Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry* 1996; 43(2); 509–512
43. Saucier C, Mirabel M, Daviaud F, Longieras A, Glories Y. Rapid fractionation of grape seed proanthocyanidins. *J Agric Food Chem*. 2001; 49(12): 5732–5735
44. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG.. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 2000; 148: 187–197
45. Arts IC, Hollman PC. Polyphenols and Disease risk in Epidemiologic Studies. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(1 Suppl): 317–325
46. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004;79(5): 727–47. Review
47. Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81(1 Suppl): 223-229. Review
48. Jimenez-Ramsey LM, Rogler JC, Housley TL, Butler LG, Eklin RG. Absorption and distribution of ¹⁴C-labeled condensed tannins and related sorghum phenolics in chickens, *J Agric Food Chem* 1994; 42; 963–967
49. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998;56(11): 317–33. Review
50. Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992;32(1): 67–103. Review.
51. Suzuki N. Antioxidative activity of some biologically active compounds with active oxygen species. 1993; 6: 21–27
52. Jovanovic SV, Steenken S, Tosic M, Marjanovic B, Simic MG. 1994. Flavonoids as antioxidants. *J Am Chem Soc* 1994; 116: 4846–4851
53. Rice-Evans C. Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem* 2001 ;8(7): 797–807. Review.

54. Rice-Evans C, Spencer JP, Schroeter H, Rechner AR. Bioavailability of flavonoids and potential bioactive forms in vivo. *Drug Metabol Drug Interact* 2000;17(1–4):291–310
55. Rice-Evans C. Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants? *Biochem Soc Symp.* 1995;61: 103–116. Review
56. Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, Rice-Evans C. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch Biochem Biophys* 1995; 322(2): 339–346
57. Chen ZY, Chan PT, Ho KY, Fung KP, Wang J. Antioxidant activity of natural flavonoids is governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. *Chem Phys Lipids* 1996; 79(2): 157–163
58. Udaya FS, Wanasundara N, Amarowicz R. Natural antioxidants from low-pungency mustard flour. *Food Research International* 1994; 27(5) : 489–493
59. Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y. Polyphenolics in grape seeds-biochemistry and functionality. *J Med Food.* 2003 Winter;6(4): 291–299. Review
60. Pruess HG, Motamarri S, Echard B. Chromium, zinc and grape seed extract (flavonoids) can overcome age-related increases in SBP of normotensive rats. *J Am Coll Nut* 1997; 16: 481
61. Ray SD, Kumar MA, Bagchi D. A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases in vivo Bcl-XL expression and prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell death in mouse liver. *Arch Biochem Biophys.* 1999 Sep 1;369(1): 42–58
62. Vigna GB, Costantini F, Aldini G, Carini M, Catapano A, Schena F, Tangerini A, Zanca R, Bombardelli E, Morazzoni P, Mezzetti A, Fellin R, Maffei Facino R. Effect of a standardized grape seed extract on low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in heavy smokers. *Metabolism.* 2003;52(10): 1250–1257
63. Sato M, Maulik G, Ray PS, Bagchi D, Das DK. Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidin against ischemic reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31(6):1289–1297
64. Banerjee B, Trivedi M, Bagchi D. Beneficial effect of grape seed proanthocyanidin extract in the treatment of chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 1653
65. Banerjee B, Bagchi D. Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract in the treatment of chronic pancreatitis. *Digestion* 2001; 63(3): 203–206

66. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12(4):564–582. Review
67. Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Planta Med* 1997;63(6): 508–510
68. Ahn J, Grün IU, Mustapha A. Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts in vitro and in ground beef. *J Food Prot.* 2004; 67(1): 148–155
69. Moreno DA, Ilic N, Poulev A, Brasaemle DL, Fried SK, Raskin I. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition* 2003;19(10): 876–879
70. Kaur M, Singh RP, Gu M, Agarwal R, Agarwal C. Grape Seed Extract Inhibits In vitro and In vivo Growth of Human Colorectal Carcinoma Cells, *Clinical Cancer Research.* 2006 October 15; 12: 6194–6202
71. Agarwal C, Singh RP, Agarwal R. Grape seed extract induces apoptotic death of human prostate carcinoma DU145 cells via caspases activation accompanied by dissipation of mitochondrial membrane potential and cytochrome c release. *Carcinogenesis.* 2002; 23(11): 1869-1876
72. Neuwirt H, Arias MC, Pühr M, Hobisch A, Culig Z. Oligomeric proanthocyanidin complexes (OPC) exert anti-proliferative and pro-apoptotic effects on prostate cancer cells. *Prostate.* 2008; 68(15): 1647–1654
73. Khanna S, Venojarvi M, Roy S, Sharma N, Trikha P, Bagchi D, Bagchi M, Sen CK. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radic Biol Med.* 2002; 33(8): 1089–1096
74. Wren AF, Cleary M, Frantz C, Melton S, Norris L. 90-day oral toxicity study of a grape seed extract (IH636) in rats. *J Agric Food Chem* 2002; 50(7): 2180–2192
75. Durukan AH, Evereklioğlu C, Hürmeriç V, Kerimoğlu H, Erdurman C, Bayraktar MZ, Mumcuoğlu T. Ingestion of IH636 grape seed proanthocyanidin extract to prevent selenite-induced oxidative stress in experimental cataract. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32(6): 1041-1045.
76. Yılmaz K, Otlı A. Veteriner hematoloji el kitabı. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 1989: 50–51
77. Campbell TW. Avian Hematology. In: *Avian Hematology and Cytology.* Iowa State University, Ames, 1995: 3-19
78. Harvey JW. Micro Hematocrit Evaluation. In: *Atlas of Veterinary Hematology.* W.B. Saunders Company, Philadelphia. 2001: 6–7

79. Yılmaz B. Fizyoloji. Feryal Matbaacılık. Ankara, 2000: 58–63
80. Yaman K. Fizyoloji. Ceren Basım Yayın. Bursa. 1999: 96–99
81. Winterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med* 1975; 55: 337–341
82. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspect of haematology, In: Fundamentals of Clinical Chemistry, Ed. Tiez NW. Saunders WB. Philadelphia, 1987; 803-804
83. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135: 372–376
84. Feelisch M, Stamler JS. Methods in nitric oxide research. John Wiley & Sons Ltd, England, 1996, 491–497
85. Lück HS. Catalase. In: Methods in Analysis. Bergmeyer HU Ed: Methods in Analysis. Academic Pres, London, 1995.
86. Paglia DE, Valente WN. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, 1967: 70, 158-169
87. Ray S, Bagchi D, Lim PM, Bagchi M, Gross SM, Kothari SC, Preuss HG, Stohs SJ. Acute and long-term safety evaluation of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2001 Mar-Apr;109(3–4):165-197
88. Şanlı Y. Veteriner klinik toksikoloji. Medipress Matbaacılık (2. Baskı). Ankara 2002
89. Yarsan E. Monensin ile vitamin E ve selenyumun etlik piliçlerde, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve bazı mineral madde değerleri üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1998; 22(1): 53-63
90. Singh T, Gupta RP. Clinico-haematological and mineral studies on experimental maduramicin toxicity in chickens. *Vet Parasitol* 2003;116(4): 345–353
91. Arun KHS1, Manjunath HS, Reddy KS, Reddy R, Kalakumar B. Effect of subacute doses of Maduramycin in Broiler Chicks. *Online Journal of Veterinary Research* ; 7: 91-98
92. Yarsan E. Monensin ile vitamin E ve selenyumun etlik piliçlerde birlikte ve ayrı ayrı verilmesinin etlik piliçlerde enzim etkinlikleri ve histopatolojik parametrelere etkileri. *Turk J of Vet and Anim Sci* 1998; 22(1); 53–63
93. Braunius WW. Poisoning due to ionophore anticoccidial drugs in poultry. *Tijdschr Diergeneeskde* 1989; 114(18);933-938

94. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A, Baybaş S. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Lipid Peroksidasyonunun İncelenmesi. *Düşünen Adam: Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi* 2005; 18: 129–135
95. Gani H, Seyfikli Z, Çelik VK, Akkurt İ, Abadoğlu Ö. The effects of biomass exposure on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in Turkish female groups in rural areas. *Toraks Dergisi* 2002; 1: 13–18
96. Kehrer JP. Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rew Toxicol* 1993; 23: 21–48
97. Giray B. İnsektisitlerin lipid peroksidasyon yapıcı etkileri ve bu etkinin kalsiyum kanal blokörleri ve ksantin oksidaz inhibitörleri ile değiştirilmesi, H.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Bilim Uzmanlığı Tezi. 1993; 19–40
98. Dworschák E, Prohászka L. The effect of improper feeding on the lipid peroxidation of meat animals. *Z Ernährungswiss* 1986; 25(2): 96–102
99. Kaya S. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, Ed: Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Medisan Yayınevi, Ankara 2002; 385-401
100. Novilla MN. The veterinary importance of the toxic syndrome induced by ionophores. *Vet Hum Toxicol* 1992; 34(1): 66–70.
101. Wang ML, Suo X, Gu JH, Zhang WW, Fang Q, Wang X. Influence of grape seed proanthocyanidin extract in broiler chickens: effect on chicken coccidiosis and antioxidant status. *Poult Sci* 2008; 87(11): 2273–2280
102. Harms RH, Buresh RE. Influence of salinomisin on performance of broiler chicks. *Poult Sci* 1987; 66(1): 51–54

ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Kayseri ili, Kocasinan ilçesine bağlı Yuvalı köyünde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri’de tamamladı. 1988 yılında Atatürk Üniversitesi Veteriner fakültesine girdi. 1993 yılında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldu. Askerlik hizmetini yedek subay olarak 1995 yılında Burhaniye Garnizonunda tamamladı. Altı yıl süreyle Nevşehir ve Kayseri’de serbest veteriner hekim olarak çalıştı. 2001 yılında Erciyes Üniversitesi Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulunda öğretim görevlisi kadrosu ile çalışmaya başladı. 2003 yılında Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Alanında Yüksek lisans derecesi aldı. Halen evli ve üç çocuk babasıdır.