



**AYAK HASTALIKLI VE SAĞLIKLI BROYLERLERDE
BAZI DOKULARIN ANTİOKSİDAN METABOLİZMA
VE AYAK KEMİK DOKUSUNUN HİSTOPATOLOJİK
YÖNDEN İNCELENMESİ**

Sefa KÖSEOĞLU

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halit İMİK**

Yüksek Lisans Tezi-2019

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

**AYAK HASTALIKLI VE SAĞLIKLI BROYLERLERDE
BAZI DOKULARIN ANTİOKSİDAN METABOLİZMA VE
AYAK KEMİK DOKUSUNUN HİSTOPATOLOJİK
YÖNDEN İNCELENMESİ**

Sefa KÖSEOĞLU

**Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halit İMİK**

**ERZURUM
2019**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**AYAK HASTALIKLI VE SAĞLIKLI BROYLARLARDA
BAZI DOKULARIN ANTİOKSİDAN METABOLİZMA VE
AYAK KEMİK DOKUSUNUN HİSTOPATOLOJİK
YÖNDEN İNCELENMESİ**

Sefa KÖSEOĞLU

Tez Savunma Tarihi : 26.08.2019

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Halit İMİK (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mehmet GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Recep GÜMÜŞ (Sivas Cumhuriyet Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki Jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Duygu ARIKAN
Enstitü Müdürü

**Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2019**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanatlılarda Beslenmeyle İlgili Ayak Hastalıkları	3
2.1.1. Tibial Diskondroplazi	4
2.1.2. Raşitizm (Rickets).....	5
2.1.3. Gut	6
2.1.4. Perozis.....	7
2.2. Antioksidan Savunma Sistemi	8
2.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	8
2.2.2. Katalaz (CAT).....	8
2.2.3. Glutatyon (GSH).....	8
2.2.4. Lipid Peroksidasyonu (LPO)	9
3. MATERYAL VE METOT.....	10
3.1. Hayvan Materyali ve Deney Grupları.....	10
3.2. Ortam Koşulları ve Hayvan Barınağı	10
3.3. Yem ve Beslenme	10
3.4. Doku Örneklerinin Alınması	11

3.5. Biyokimyasal Analizler	12
3.5.1. Antioksidan Parametrelerinin Tespiti	12
3.5.1.1. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü	12
3.5.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçümü	13
3.5.1.3. Total Glutasyon (GSH) Miktarının Ölçümü	13
3.5.1.4. Lipid Peroksidasyon (LPO) Miktarının Ölçümü	14
3.6. Histopatolojik Analizler.....	14
3.7. İstatistik Analizler.....	14
4. BULGULAR.....	15
4.1. Histopatolojik Bulgular.....	15
4.2. Dokuların Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Değerleri	18
4.3. Dokuların Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Değerleri.....	19
4.4. Dokuların Total Glutasyon (GSH) Miktarı Değerleri	20
4.5. Dokuların Lipid Peroksidasyon (LPO) Miktarı Değerleri	21
5. TARTIŞMA.....	23
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	29
KAYNAKLAR	30
EKLER	38
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	38
EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	39
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	40
EK-4. DİĞER FORMLAR.....	41

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezin her aşamasında yardım ve desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Halit İMİK'e en içten saygı, muhabbet ve şükranlarımı sunarım.

Tez kapsamında, biyokimyasal analizlerde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Serkan EROL'a (Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi), histopatolojik incelemelerde yardımcı olan Prof. Dr. Kübra Asena TERİM KAPAKİN'e (Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi), hayvan beslemesi ve materyal temini kısmında yardımcı olan çiftlik personeli Nabi CENGİZ'e (Atatürk Üniversitesi, Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi), desteğini, anlayışını esirgemeyen iş arkadaşlarım ve yöneticilerim (Aktifbank Yatırım A.Ş - N Kolay Ödeme Kuruluşu A.Ş.), yoğun eğitim dönemim boyunca sabrı ve bu sürecin her aşamasında yanımda olan eşime ve aileme teşekkür ederim.

Sefa KÖSEOĞLU

ÖZET

Ayak Hastalıklı ve Sağlıklı Broylerlerde Bazı Dokuların Antioksidan Metabolizma ve Ayak kemik Dokusunun Histopatolojik Yönden İncelenmesi

Amaç: Bu çalışmada sağlıklı ve ayak hastalıklı broylerlerden alınan böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokuları biyokimyasal olarak antioksidan metabolizma yönünden ve ayak kemik dokusu da histopatolojik olarak incelenerek meydana gelen değişikliklerin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışma, Ayak Hastalıklı Grup (AHG) ve Sağlıklı Grup (SG) olmak üzere iki grup halinde yürütülmüştür. Araştırmanın her grubunda 10 adet olmak üzere toplam 20 hayvan kullanılmıştır. Uygun ortamda kesilen hayvanlardan alınan böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ile glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyon (LPO) miktarları uygun yöntemler kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca ayak kemik dokusunda histopatolojik incelemeler yapılmıştır.

Bulgular: Ayak hastalıklı grubun böbrek dokusunda CAT aktivitesi ($p<0,01$), GSH ($p<0,05$) ve LPO miktarlarının arttığı tespit edilmiştir ($p<0,01$). Yine AHG'nin but dokusunda CAT aktivitesi ve LPO miktarının arttığı ($p<0,01$), SOD aktivitesinin azaldığı ($p<0,05$) ve GSH miktarının ise değişmediği belirlenmiştir ($p>0,05$). Göğüs dokusunda ise AHG'nin SOD aktivitesi, GSH ve LPO miktarlarının arttığı ($p<0,01$), CAT aktivitesinin ise azaldığı görülmüştür ($p<0,01$). Ayak Hastalıklı Grubun kalp dokusunda CAT aktivitesi ile GSH miktarının arttığı ($p<0,01$), SOD aktivitesinin azaldığı ($p<0,01$) ve LPO miktarının değişmediği belirlenmiştir ($p>0,05$). Ayrıca AHG'nin karaciğer dokusunda SOD aktivitesi ($p<0,05$) ile GSH miktarının azaldığı ($p<0,05$) ve LPO miktarlarının arttığı ($p<0,01$), CAT aktivitesinin ise değişmediği görülmüştür ($p>0,05$).

Sonuç: Ayak hastalıklı hayvanların tibial-tarsal kemik dokusunun tam olarak şekillenmediği, böbrek, kalp, karaciğer, but ve göğüs eti dokularında antioksidan aktivitelerin önemli oranda değiştiği, dikkat çeken en önemli bulguların başında ise özellikle but ve göğüs eti dokularında LPO'nun çok yüksek olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Ayak hastalığı, Broyler

ABSTRACT

Investigation of Antioxidant Metabolism Some in Tissues and Histopathological Changes of Leg Bone Tissue Obtained from Leg Disease and Healthy Broilers

Aim: The aim of this study was to determine the changes in kidney, thigh, chest, heart and liver tissues taken from healthy and leg disease broilers in terms of biochemical antioxidant metabolism and histopathological examination of foot bone tissue.

Material and method: The study was conducted in two groups: Leg Disease Group (AHG) and Healthy Group (SG). A total of 20 animals (10 animals) were used in each group. The amount of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities, glutathione (GSH) and lipid peroxidation (LPO) in kidney, thigh, chest, heart and liver tissues from animals slaughtered in the appropriate medium were determined using appropriate methods. Histopathological investigation of the leg bone tissue was also performed.

Results: The CAT activity, GSH and LPO levels were found to be increased in kidney tissue of the leg diseased group ($p < 0.01$). SOD activity ($p < 0.05$) and LPO level decreased ($p < 0.01$), CAT activity increased ($p < 0.01$) and GSH level did not change ($p > 0.05$) in drumstick tissue of AHG group. SOD activity, GSH and LPO levels increased ($p < 0.01$), CAT activity decreased ($p < 0.01$) in breast tissue of AHG group. CAT activity and GSH level increased ($p < 0.01$), SOD activity decreased ($p < 0.01$) and LPO level did not change ($p > 0.05$) in heart tissue of AHG group. When liver tissue was investigation, SOD activity ($p < 0.05$) and GSH level decreased ($p < 0.05$), and LPO level increased ($p < 0.01$), CAT activity did not change ($p > 0.05$).

Conclusion: It was determined that the tibial-tarsal bone tissue of the leg diseased animals was not fully formed, antioxidant activities were significantly changed in kidney, heart, liver, thigh and chest meat tissues, and LPO was very high especially in thigh and breast meat tissues.

Key Words: Antioxidant, Leg Disease, Broilers

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AHG	:	Ayak Hastalıklı Grup
CAT	:	Katalaz
Ca	:	Kalsiyum
Cl	:	Klor
Cu	:	Bakır
DTNB	:	Ditiyobisdinitrobenzoik Asit
EDTA	:	Etilendiamin tetraasetik Asit
Fe	:	Demir
GSH	:	Glutasyon
GPx	:	Glutasyon Peroksidaz
HE	:	Hematoksilen Eozin
HCL	:	Hidroklorik Asit
H₂O₂	:	Hidrojen Peroksit
K	:	Potasyum
KCl	:	Potasyum Klorür
LPO	:	Lipid Peroksidasyonu
MDA	:	Malondialdehit
mMg	:	Magnezyum
mg	:	Miligram
µg	:	Mikrogram
µl	:	Mikrolitre
ml	:	Mililitre
mmol	:	Milimol
Na	:	Sodyum

NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
nM	:	Nanometre
O₂	:	Oksijen
O₂^{·-}	:	Süperoksit Radikali
P	:	Fosfor
p	:	Önem Seviyesi
ppm	:	Milyonda Bir Kısım
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygene Species)
SG	:	Sağlıklı Grup
SLS	:	Sodyum Lauryl Sülfat
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
T-AOC	:	Total Antioksidan Kapasite
TD	:	Tibial Diskondroplazi
Zn	:	Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 4.1. Ayak hastalıklı broylerler	16
Şekil 4.2. Ayak kemik dokularının mikroskopik histopatolojik görüntüleri.....	17
Şekil 4.3. Dokulardaki ortalama CAT aktivitesi	18
Şekil 4.4. Dokulardaki ortalama SOD aktivitesi	19
Şekil 4.5. Dokulardaki ortalama GSH miktarı	21
Şekil 4.6. Dokulardaki ortalama LPO miktarı	22



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Yemin kimyasal bileşimi ve içeriği	11
Tablo 4.1. Gruplar arasındaki CAT enzim aktivitesinin değerleri.....	18
Tablo 4.2. Gruplar arasındaki SOD enzim aktivitesinin değerleri.....	19
Tablo 4.3. Gruplar arasındaki GSH miktarının değerleri.....	20
Tablo 4.4. Gruplar arasındaki LPO miktarının değerleri	21



1. GİRİŞ

Hayvansal ürünler toplumun sağlıklı ve dengeli beslenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Özellikle beyaz etin kırmızı ete göre maliyeti daha az olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. Talepteki bu artış gıda alanında kanatlı eti ve yumurta üretiminde önemli gelişmeler olmasına sebep olmuştur. Günümüzde yetiştirilen broylerler daha önceki yıllarda yetiştirilen broylerlerle karşılaştırıldığında hızla gelişmeleri ve yemden yararlanma oranlarının yükselmesi nedeniyle ortalama 2,5 kg kesim ağırlıklarına ortalama olarak 40 günlük yaşta gelmektedir.¹ Ancak bu hedefe ulaşma sürecinde hızlı üretim ve gelişim verim açısından olumlu olurken kanatlı hayvanlarda strese neden olarak çeşitli sorunları beraberinde getirmiştir. Bu sorunlardan biride kanatlı sektöründe görülen ayak hastalıklarıdır ve ayak hastalıkları kanatlı endüstrisinde önemli ölçüde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kanatlılarda görülen ayak hastalıklarının ortaya çıkmasında birçok faktörün etkili olduğu bilinmektedir. Ayak hastalıklarına bazen virüs, parazit, bakteriler neden olurken bazen de olumsuz çevre şartları, yanlış veya yetersiz beslenme neden olmaktadır. Ancak yapılan araştırmalarda bu etkenler arasında en önemlisinin yanlış veya yetersiz beslenmenin olduğu bildirilmiştir.²

Kanatlı sektöründe özellikle broyler yetiştiriciliğinde yıllar içerisinde meydana gelen yukarıda saydığımız hızlı büyüme oranı, iyileşen yemden yararlanma oranı ve kısalan besi süresi için ticari hibritler kullanılmaktadır. Kullanılan bu hibritlerde yürütülen ıslah çalışmaları ile bahsedilen özellikler her geçen gün geliştirilmektedir.³ Bu özelliklerde meydana gelen olumlu özellikler maalesef hayvan sağlığı yönünden olumsuzlukları da beraberinde getirmiştir. Hayvanlardan elde edilen verim yükseldikçe hayvanlarında besin ihtiyaçları arttığı gibi duyarlılıkları da değişmiştir. Bu yüzden verim yönünden yüksek özelliklere sahip bu hayvanların daha özel beslenmeleri gerektiği gibi

barındıkları alanlarında hem hijyen hem de fiziki şartlar açısından iyileştirilmesi gerekir.^{4,5}

Kanatlı sektöründe hem genetik ıslah alanında hem de bakım besleme alanında geliştirilen yeni teknikler üretimi ve verimi olumlu etkilerken hayvanlar üzerinde fizyolojik stres oluşturmaktadır. Bu nedenle hayvanlarda hızlı büyümenin neden olduğu bu olumsuzlukların etkilerini önlemek veya azaltmak için özellikle beslenme yönünden hayvanlara daha fazla özen gösterilmesi gerekmektedir.^{6,7}

Bu çalışma, sağlıklı ve ayak hastalıklı broylerlerin çeşitli dokularındaki antioksidan metabolizması ve histopatolojik yapısının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Ayrıca elde edilecek bilgiler doğrultusunda beslenme yönünden bazı tedbirler alınarak meydana gelecek ekonomik kayıpların azaltılmasına yönelik önerilerde bulunulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanatlılarda Beslenmeyle İlgili Ayak Hastalıkları

Kanatlılarda görülen ayak problemleri önemli ekonomik kayıplara ve refah bozukluklarına yol açmaktadır. Kanatlılarda ayak hastalıklarının ortaya çıkmasına neden olan çok sayıda faktör vardır. Bu faktörler içerisinde, genetik⁸, mikrobiyal etkenler (virüs, parazit ve bakteri)², hijyen⁸, toksinler, yem, yaş, cinsiyet, fiziksel aktivite⁹ anti nutrisyonel faktörler², endokrin sistem¹⁰, çevre şartları, tırnak kırılması gibi fizyolojik nedenlerin yanı sıra yanlış veya yetersiz beslenmenin etkili olduğu bilinmektedir.⁸ Ancak şimdiye kadar ortaya çıkan ayak hastalıklarının çoğunun etiyolojisi tam olarak açıklanamamakla birlikte² özellikle başta broylerler olmak üzere tüm kanatlılarda hızlı büyümeye bağlı olarak ortaya çıktığı belirtilmiştir.^{9,11,12} Yine bu nedenlerin yanında beslenmenin de ayak hastalıklarının oluşmasında önemli rol oynadığı söylenebilir.⁸ Yapılan bazı araştırmalarda kanatlarda görülen ayak hastalıklarının beslenme ile azaltıldığı ve kısmen tedavi edildiği belirtilmiştir.^{8,13,14}

Ayak hastalıkları verim kaybına neden olduğu gibi birçoğu ölümle de sonuçlanabilir. ABD’de iskelet problemlerinin yılda 120 milyon dolar zarara neden olduğu^{15,16,17} ve bunun içerisinde ayak hastalıklarının sebep olduğu ekonomik kayıpların 80 milyon dolara mal olduğu tahmin edilmektedir.^{8,18} Yine Türkiye’de yapılan bir araştırmada bir broyler sürüsünün %15’inde bacak anormalliklerine rastlanılmıştır.¹³ Ayak hastalıkları büyük ekonomik kayıplara neden olduğu için üzerinde birçok araştırma yapılmış ve kanatlılarda beslenme ile ilişkili olarak ortaya çıkan hastalıkların başında Tibial diskondroplazi (TD), Perosiz, Gut, Raşitizm (Rikets) hastalıklarının olduğu belirtilmiştir.^{19,20}

2.1.1. Tibial Diskondroplazi

Tibial diskondroplazi ilk olarak 1965 yılında Leach ve Nesheim tarafından tibiatarsus ve tarsometatarsus'un proksimal metafizlerinde anormal kıkırdak gelişimi olarak tanımlanmıştır.²¹ Etiyolojisi kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik bozukluklar, beslenme yöntemi^{2,22,23}, beslenme hataları ve eksikleri⁸ gibi nedenleri içine alan karmaşık ve birbirine bağlı faktörler sonucu ortaya çıktığı belirtilmiştir.² Yine minerallerin, vitaminlerin ve amino asitlerin doğrudan ve dolaylı yünden etkilerinin olduğu, minerallerin emilimi, kullanım miktarları ve birbirleriyle etkileşimlerinin hastalığın ortaya çıkmasında rol oynadığı söylenebilir.^{8,24}

Daha çok hızlı büyüyen türlerde görülen TD^{2,9} yaygın olarak broylerlerde, hindilerde¹¹ ve ördeklerde görülen bir büyüme plağı hastalığıdır.^{22,23} Anormal kıkırdak gelişiminin en önemli sebebinin hızlı büyüme sonucu kıkırdak dokusunun bu büyümeye ayak uyduramamasının olduğu belirtilmiştir.²⁵ Tavuklarda %30, hindilerde %90 oranında TD görülürken¹⁰, leghorn gibi yavaş büyüyen türlerde bu hastalığın şekillenmediği bildirilmiştir.¹⁵ Hastalığın daha çok ilk haftalık yaşlarda şekillendiği ve erkeklerin dişilere göre daha çok etkilendiği de belirtilmiştir.²¹

Bu hastalığın tanısında semptom olarak hayvanlarda durgunluk, tavuklarda 4 haftalık yaştan sonra hindilerde ise 10 haftalık yaştan sonra yürümede isteksizlik görülürken²³, hayvanların genellikle göğüsleri üzerinde yattığı¹⁵ ve hareket ettiklerinde anormal yürüyüş gösterdiği görülür.² Yine topallık, bacaklarda şişme ve eklemlerde yumuşama da görülmektedir.²² Hayvanlar da bu semptomlar ortaya çıktığında yem tüketimi azalır ve verimin düşerek ekonomik kayıplar ortaya çıkar. Broylerde ayak problemleri içerisinde yalnızca TD'nin sebep olduğu ekonomik kayıplar %30'a çıkmaktadır.^{22,26} ABD'de her yıl broylerlerde %27 oranında TD görüldüğü¹⁵ ve 1983

yılında ABD kanatlı endüstrisine yalnızca TD'nin sebep olduğu zarar yaklaşık olarak 200 milyon dolara ulaştığı bildirilmiştir.²³

Tibial diskondroplazi yakalanan hayvanlarda lezyonlar kemik içerisindeki epifiz ve metafiz bölgelerini bağlayan bölüm olan büyüme plakalarında görülmektedir.^{21,23} Büyüme plakalarındaki endokondral kemikleşmenin temel fizyolojik olayları; kondrosit çoğalması, hücre dışı matriks üretimi, vaskülerizasyon, matriks yıkımı, matriks kalsifikasyonu ve primer kemik oluşumudur.²³ Lezyonlar genellikle bir ile üçüncü haftalarda şekillenir.¹⁵ Makroskopik olarak tarsal kemikğin epifiz tabakasından metafizin içine doğru uzanan, metafizin proksimal bölgesinin sağında veya solunda yada her iki tarafında anormal opak bir kırıldak kütesinin oluştuğu görülmektedir.^{2,15,21,22} Lezyonlar normal kırıldak dokusundan kolayca ayırt edilebilir yapıdadır.¹² Lezyonlar normal hipertofik kondrositlere göre morfolojik ve histokimyasal farklılık göstermektedir.²⁵ Histopatolojik bulgulara lezyonlarda bulunan kondrositlerin normal hipertofik kondrositler gibi tam olgunlaşmadığı²², beklenen boyutlara göre %40 oranında gelişmiş prehipertofik (geçiş) kondrositleri olduğu görülmektedir.^{23,25} Lezyonlar içerisindeki kondrositlerde Ca ve P oranının, alkalın fosfataz, karbon anhidraz, bazik fibroblast büyüme faktörü, osteonectin, osteopontin, beta büyüme faktörü de dahil olmak üzere bir dizi proteinin normale nazaran TD lezyonlarında daha az bulunduğu bildirilmiştir.²⁵

2.1.2. Raşitizm (Rickets)

Raşitizm, genç ve gelişmekte olan kanatlılarda kemik kalınlaşması ve kemik büyüme plaklarındaki kötü minerilazasyon ile karakterize bir metabolizma hastalığıdır.²⁷⁻

²⁹ Raşitizm, genel olarak diyetlerdeki vitamin D3, kalsiyum (Ca), Fosfor (P) oranlarının yetersiz olması veya Ca/P oranının dengesiz olması sonucu ortaya çıkmaktadır.^{27,29}

Bazen uygun olmayan yemlerin tüketilmesi raşitizmi tetikleyebilirken genellikle epifiz alanının genişlemesine bazen de yumuşak kemiğin deformesine neden olur.²⁷

Semptom olarak raşitizm şekillenen kanatlılarda yürümekte zorluk, dengesiz yürüme, ayakta dururken bacaklarda bükülme, ayak bileklerinde zayıflık ve hareket ederken kanatlarından destek alma gibi durumlar görülmektedir. Ayrıca bu olgular sonucu besin kaynaklarına ulaşamayan kanatlılarda açlık sonucu ölüm şekillendiği bildirilmiştir.²⁷ Patolojik lezyonlara dayanarak hipokalsemik ve hipofosfatematik iki farklı raşitizm tipi gözlemlenmiştir.^{27,30} Hipokalsemik raşitizmde kemik uçlarındaki büyüme plakaları kalınlaşarak süngerimsi hal alırken kondrosit hücrelerinde de anormallikler meydana gelmektedir.^{27,30} Hipofosfatematik raşitizmde ise kemik uçlarındaki bu anormallikler hipokalsemiye göre daha az belirgindir.³⁰ Hipokalsemik tipi diyetlerde vitamin D3 ve Ca eksikliğinden veya P fazlalığından kaynaklanırken hipofosfatematik tipi daha çok diyetlerdeki P eksikliği veya orantısızlığından kaynaklanmaktadır.^{27,30}

2.1.3. Gut

Gut, dokularda ürik asit ve anormal ürat birikmesi ile sonuçlanan metabolik bir bozukluktur.^{31,32} Kuşlarda en sık görülen ölümcül hastalıklardan olan gut visseral ve artiküler olarak iki ayrı formda ortaya çıkmaktadır ve her iki formda da tofi adı verilen kireçli beyaz yapılar mevcuttur.³² Bu yapıların bacak ve kanat eklemlerinde, subkutan dokularda ve ayak tabanında ödemlerle seyreden şişlikler oluşturan formu artiküler gut, plazmada artan ürik asidin perikartta, iç organların serozaların da ve böbreklerin üzerinde birikmesi ile karakterize olan formu ise visseral guttur.³³ Visseral gut artiküler guta oranla daha ölümcül ve daha yaygındır.^{31,32} Visseral gut akut olarak kabul edilirken, sinsi ve erken evrelerde tespit edilmesi oldukça zordur.^{32,34} Multifonksiyonel bir hastalık olan gut daha çok enfeksiyöz, beslenme, toksik veya muhtemelen bu etkilerin hepsinin ortak bir sonucu olup böbrek hasarına bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.^{32,34}

Gutun besinsel veya metabolik nedenleri arasında yemde protein, kalsiyum ve tuzun fazla olması, fosfor seviyesinin düşük, Ca-P düzeyleri arasındaki dengesizlik, aşırı üre kullanımı ile yemin A ve D vitaminleri yönünden eksik olması sayılabilir. Yine uzun süreli yetersiz su alımı ve ardından bazı ilaçların (antibiyotik) aşırı dozda uygulanması genellikle guta neden olur. Ayrıca mikotoksinler ve fitotoksinler ile kontamine olan yemlerin tüketilmeside bu hastalıkta etkilidir. Kümeslerde sıcaklığın ve amonyak konsantrasyonunun yüksek olması da guta yol açarak mortaliteyi artırmaktadır. Ayrıca primer infeksiyöz nefrit, bronşit virüsü, influenza virüsü ve kriptosporidiumunda guta neden olduğu literatürde bildirilmiştir.^{32,34}

2.1.4. Perozis

Perozis, bacak kemiklerinin kısalması, diz eklemlerinin genişlemesi, tibianın distal ucunun veya metatarsalın proksimal ucunun bükülmesi sonucu koronerlerden gastrokinemius tendonunun kayması ile karakterize edilen bir hastalık olarak tanımlanır.³⁵ Perozisin yaygın olarak kullanılan diğer adı ise kaymış tendon hastalığıdır.³⁶ Kanatlılarda kemik deformeleri ile karakterize olan perozis, inorganik fosfat, kalsiyum fosfat veya diğer kalsiyum tuzlarının yüksek tüketimi, düşük mangan alımı ve kolin veya çeşitli besinlerin eksikliği ile ilişkili bir hastalıktır.^{35,36}

Peroziste genellikle ilk görülen semptom hayvanın çömelme pozisyonunda uzun süreler boyunca dinlenmesidir. Tibia kemikleri incelendiğinde hafif bir şişlik olduğu görülebilir ve birkaç gün içerisinde eklemlerin kayda değer bir biçimde büyüdüğü, bazen ciltte mavimsi-yeşilimsi döküntülerin olduğu görülür.³⁷ Perozisli kuşların kemikleri fark edilir derecede daha kısa ve normalden daha kalındır.³⁶ Ayrıca, radyolojik olarak incelendiğinde tarsometatarsus ve tibia kemiklerinde ilk zamanlar hafif kavisin olduğu (deforme bacak kemikleri) görülür.³⁷ Bu hastalıkta şekillenen deformiteler beş gün veya daha erken evrelerde görülebilirken, bir ila dört haftalıkken oldukça net olarak görülür.

İki bacakta bükülmüş olabilir veya tek bacakta da asimetric bükülebilir, bazen iki bacak aynı yöne bazen de zıt yöne bükülebilir. Kemiklerin mikroskopik incelemesinde eklem kıkırdağında veya büyüme plaklarında lezyonlar görülmemiştir.³⁵

2.2. Antioksidan Savunma Sistemi

Antioksidan savunma sistemi ya da antioksidanlar, organizmada oksidasyon işlemleri sonucunda ortaya çıkan serbest radikalleri ve bunların zararlarını azaltan veya önleyen maddeler olarak bilinirler.³⁸ Antioksidanlar, genel olarak endojen ve eksojen olarak sınıflandırıldığı gibi doğal ve doğal olmayan yada enzimatik veya enzimatik olmayan şeklinde de sınıflandırılmaktadırlar.³⁹⁻⁴²

2.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Organizmayı serbest radikallere karşı ilk koruyan savunma hattını oluşturur.^{42,43} Endojen ve enzimatik antioksidanlar sınıfına giren süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizler.^{44,45} Süperoksit dismutazın beş farklı formu olmak ile birlikte vücutta en fazla bulunanı bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren CuZn-SOD formudur.⁴⁶

2.2.2. Katalaz (CAT)

Hidrojen peroksiti su ve oksijene indirgeyen katalaz (CAT), her alt birimi bir hem grubu ve bir Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) molekülü içeren dört protein alt biriminden oluşur.^{45,47} Endojen ve enzimatik antioksidanlar sınıfından olan CAT enzimi, büyük oranda peroksizomda ve daha az miktarda sitoplazmada bulunur.⁴⁸ Yine karaciğer ve eritrositler yüksek miktarda, beyin, kalp ve iskelet kasları ise düşük miktarlarda katalaz içerir.⁴⁹

2.2.3. Glutasyon (GSH)

Endojen ve enzimatik olmayan antioksidanlar sınıfından olan glutasyon (GSH), büyük çoğunluğu karaciğerde olmak üzere vücutta sistein, glisin ve glutamattan sentezlen bir

tripeptittir.^{50,51} Yaklaşık olarak % 85-90'ı sitoplazmada bulunan GSH, bazen sitoplazmada sentezlendikten sonra mitokondri, peroksizomlar ve endoplazmik retikulumda da bulunabilir.⁵² Glutasyon doğrudan serbest radikalleri temizlemesinin yanında glutasyon peroksidaz (GPx) ile birlikte enzimatik etki göstererek lipid peroksitleri ve hidrojen peroksitleri detoksifiye eder ya da singlet oksijen ve hidroksi radikallerini temizler.^{43,51}

2.2.4. Lipid Peroksidasyonu (LPO)

Organizmada meydana gelen oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edilen lipid peroksidasyonu (LPO), serbest radikallerin membranlardaki doymamış yağ asitlerine saldırması sonucu oluşur ve membran proteinlerinin zarar görmesine neden olur.⁵³ Membran proteinlerine verilen hasar, membran geçirgenliğini, enzimlerin ve reseptörlerin aktiviteleri ile hücrelerin aktivasyonunu azaltır.⁵⁴

3. MATERİYAL VE METOT

Çalışma T.C. Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Veteriner Fakültesi Bilim Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar Sayısı: 2019 / 10).

3.1. Hayvan Materyali ve Deney Grupları

Çalışmada hayvan materyali olarak günlük yaşta 500 adet ticari broylerler (Ross 308) kullanıldı. Bir haftalık yaştan itibaren ortaya çıkmaya başlayan ve farklı günlük yaşlarda farkedilen ayak hastalıklı hayvanlar farkedildikleri andan itibaren mortaliteyi önlemek amacıyla aynı ortamda farklı kafeslere alınarak yem ve suya erişimleri etkilenmeyecek şekilde beslendi.

Ortalama 28 günlük yaşa ulaştıklarında 10 adet ayak hastalıklı ve 10 adet sağlıklı olmak üzere toplam 20 adet ticari broyler rastgele seçilerek deney grupları oluşturuldu. Denemede, ayak hastalıklı broyler grubu (AHG) ve sağlıklı broyler grubu (SG) olmak üzere 2 grup oluşturuldu.

3.2. Ortam Koşulları ve Hayvan Barınağı

Bu çalışma ve Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapıldı.

Broylerler 10'arlı gruplar halinde 120x105x90 cm ölçülerinde olan yer kafeslerinde barındırıldı. Ortam sıcaklığı 14. güne kadar 33 °C'de sonrasında ise 22 °C sabit tutuldu. Hayvanlara günlük 23 saat ışık, 1 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma programı uygulandı. Suluk olarak nipel sistem (3 nipel/kafes), yemlik olarak ise plastik askılı yemlikler kullanıldı.

3.3. Yem ve Beslenme

Çalışma boyunca hayvanlara düzenli olarak her gün 07:30 ve 17:00 saatlerinde günde iki kez yemleme yapıldı (tüketilmeyen yemler alınarak yerine yenisi tartılarak verildi). Yem ve su hayvanlara ad libitum olarak uygulandı. Hayvanlara çalışmanın 1-

21. günleri arası başlangıç rasyonu, 22-28. günler arası ise büyütme-bitirme rasyonu verildi (Tablo 3.1.). Uygulanan rasyonlar NRC önerisine göre (1994)⁵⁵ formüle edildi ve besinsel bileşimi AOAC'a göre (2005)⁵⁶ belirlendi.

Tablo 3.1. Yemin kimyasal bileşimi ve içeriği

	Başlangıç Rasyonu (1-21. günler)	Büyütme-Bitirme Rasyonu (22-28. günler)
<i>Malzemeler g / kg</i>		
Mısır	514,6	562
Buğday kepeği	15	15
Soya küspesi (%44)	393,5	316,5
Soya yağı	31,8	66
Tuz	2,7	2,8
Kalsiyum karbonat	9,6	8,6
Sodyum bikarbonat	2,8	2,7
Dicalcium fosfat	21,1	17,3
L-lisin HCL	0,8	0,6
L-treonin	0,7	0,9
Vit-min. premix *	5	5
DL-metiyonin	2,4	2,6
<i>Hesaplanan değerler</i>		
Metabolize edilebilir enerji, MJ/kg	12,22	13,4
Ham protein, %	22,21	19,21
Lizin %	1,19	1,02
Metiyonin %	0,57	0,52
Kalsiyum %	0,96	0,81
Fosfor %	0,64	0,56
Eter ekstresi%	3,48	5,65
Ham selüloz %	2,8	2,65

3.4. Doku Örneklerinin Alınması

Ortalama 28 günlük yaşa ulaşan sağlıklı ve ayak hastalıklı broylerler arasından rastgele seçilen 10'ar adet broyler uygun ortamda kesilerek karaciğer, kalp, böbrek, but ve göğüs eti dokularından yeterli miktarda örnekler alındı. Alınan doku örnekleri steril petri kaplarına konularak biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 °C de muhafaza edildi.

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Antioksidan Parametrelerinin Tespiti

Her bir hayvanın böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularından 25mg tartılarak alındı. Her bir analiz için tampon çözeltiden üzerine 2,5 ml eklendi ve 1/100 oranında seyreltildi. Dokuların enzim aktivitelerini belirlemek için 72 saat içerisinde doku homojenatları ve doku homojenatlarından alınan süpernatantlarda Total glutatyon düzeyi (GSH), Katalaz (CAT), Lipid peroksidasyon düzeyi (LPO) ve Süperoksit dismutaz (SOD) tespit edildi. Tüm analizlerde ölçümler oda sıcaklığında yapıldı.

Doku Homojenatlarının Bileşimi

Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer doku homojenatları aşağıdaki şekilde hazırlandı;

GSH: 50 mM, pH 7.4, Tris – HCL

CAT: 50 mM, pH 7.8, %1 Triton X-100 içeren Fosfat Tamponu

LPO: %10 KCI

SOD: 50 mM, pH 7.8, 10 mM EDTA içeren Fosfat Tamponu

Hazırlanan bu homojenatlar sonra homojenizatörde 10 dakika süreyle buz üzerinde homojen hale getirildi. Homojenatlar bir süzgeç kağıdından süzülüp sonra soğutmalı santrifüjde her enzim için belirtilen hızla 4°C de santrifüj edildi. Elde edilen bu süpernatantlarda gerekli biokimyasal ölçümler gerçekleştirildi. ^{57,58}

3.5.1.1. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında Katalaz (CAT) aktivitesi Aebi⁵⁷ nin belirttiği kurallara göre analiz edilmiştir.

Dokuların her birinden 25mg alınarak üzerlerine 2,5 ml 50 mM K-fosfat tamponu (pH 7.8) eklendi ve sonra homojenize edildi. Oluşan homojenat 18000g'de 4°C'de 60 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar CAT aktivitesi ölçümünde enzim kaynağı olarak

kullanıldı. Kuvartz spektrofotometre küveti içerisine son konsantrasyonu 20 mM olacak şekilde H₂O₂ çözeltisinden 1.5 ml konularak numune çözeltisinden 1.5 ml ilave edildiği anda kronometre çalıştırıldı. Kuartz küvet alt üst etme sonrası spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 15 saniye aralıkla 3 dakika süreyle ölçülerek absorbans azalması kaydedildi.

3.5.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ölçümü Sun ve ark.⁵⁹ kullandığı yöntemle göre yapılmıştır.

Dokular homojenize edildikten sonra 18.000 devirde 1 saat santrifüj edildi. Cam bir spektrofotometre küvetine 2450 µl ölçüm karışımı (0,3 mM ksantin, 0,6 mM EDTA, 150 µM NBT, 0,4 M Na₂CO₃, 1,2 g/L BSA), 500 µl supernatant, 50 µl ksantin oksidaz eklendikten sonra karıştırılarak yaklaşık 20 dakika inkubasyona bırakıldı ve 100 µl 0,8 mM CuCl₂ ilave edilerek reaksiyon sonlandırıldı ve sonra her bir dokunun ölçümleri alındı.

3.5.1.3. Total Glutasyon (GSH) Miktarının Ölçümü

Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında Total glutasyon (GSH) analizleri Sedlak ve ark.⁶⁰ belirttiği kurallara göre yapıldı.

Bu analiz için doku örneklerinden 25 mg alınarak üzerlerine 2,5 ml 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) eklenerek homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar 12000g 4°C de 10 dk santrifüjlendi ve süpernatantlar GSH miktarlarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüplerinin içerisine 1500 µl tampon çözeltisinden (0,2 mM EDTA ihtiva eden 200 mM Tris-HCl, pH:8,2), 500 µl süpernatant, 100 µl DTNB ve 7900 µl metanol eklenerek örnekler vortekste çalkalandı. Daha sonra hazırlanan bileşimler 37°C'de 30 dakika bekletildikten sonra ölçüm analizleri yapıldı.

3.5.1.4. Lipid Peroksidasyon (LPO) Miktarının Ölçümü

Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında Lipid peroksidasyon (LPO) analizi Ohkawa ve ark.⁶¹ belirttiği yöntemlere göre gerçekleştirilmiştir.

Analiz için böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularından alınan 25 mg doku örneklerin her birinin üzerine 2,5 ml %10 KCl eklenerek homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, 500g 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi ve elde edilen süpernatantlar LPO miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Kapaklı deney tüplerine 250 µl homojenat, 100 µl %8 sodyum lauryl sülfat (SLS), 750 µl %20 asetik asit, 750 µl %0,08 TBA ve 150 µl saf su ilave edilerek vortekslendi. Bu çözeltiler 100°C’de 1 saat süreyle bekletildikten sonra üzerine 2,5 ml n-bütanol eklendikten sonra ölçüm analizi gerçekleştirildi.

3.6. Histopatolojik Analizler

Çalışmada 28 günlük yaşta kesilen sağlıklı ve ayak hastalıklı broylerlerin ayaklarındaki kemik dokusunun histopatolojik olarak değerlendirilebilmesi için hayvanlarının ayaklarının proksimal ve tibiotarsal eklemlerinden doku örnekleri alındı. Alınan doku örnekleri önce %10’luk nötr tamponlu formalin ile sabitlendi. Daha sonra örnekler %36’lık formik asit ve %6,8’lik sodyum formatta dekalsifikasyona uğratıldı. Numuneler sabitlenerek (post-fix) parafine gömüldü. Sonra numunelerden 5µm kalınlıkta kesitler alınarak rutin olarak hematoksisilen eozin (HE) ile boyandı. Son olarak hazırlanan bu numuneler ışık mikroskobu altında incelendi.

3.7. İstatistik Analizler

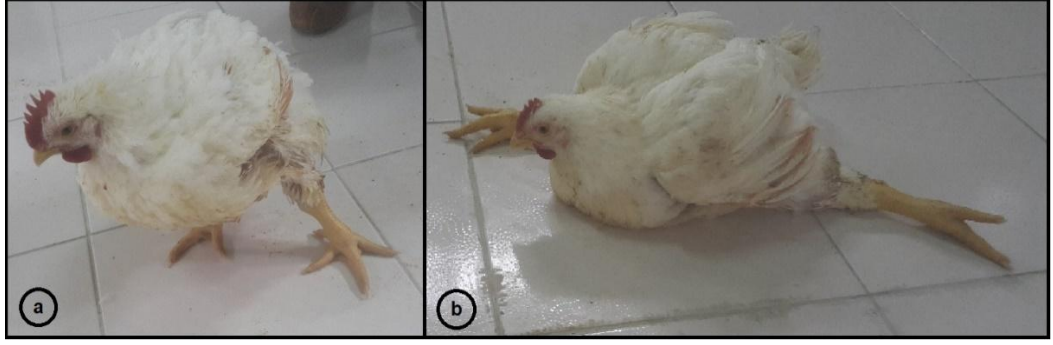
Çalışmada biyokimyasal analizler sonucu elde edilen veriler SPSS 22⁶² yazılımı kullanılarak değerlendirme yapıldı. Veriler tek yönlü varyans analizi T-Testi testi kullanılarak analiz edildi. Veri sonuçları ortalamaları $\pm$ standart hataları ile ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık değerlendirmeler için $P < 0,05$ ve $P < 0,01$ değerleri seçilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada ilk haftadan itibaren ortaya çıkmaya başlayan ayak hastalıklı grup (AHG) ile sağlıklı gruptaki (SG) hayvanlardan alınan doku örneklerinde histopatolojik tespitler yapıldı. Yine böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularında yapılan Total glutatyon düzeyi (GSH), Katalaz (CAT), Lipid peroksidasyon düzeyi (LPO) ve Süperoksit dismutaz (SOD) değerleri tespit edildi.

4.1. Histopatolojik Bulgular

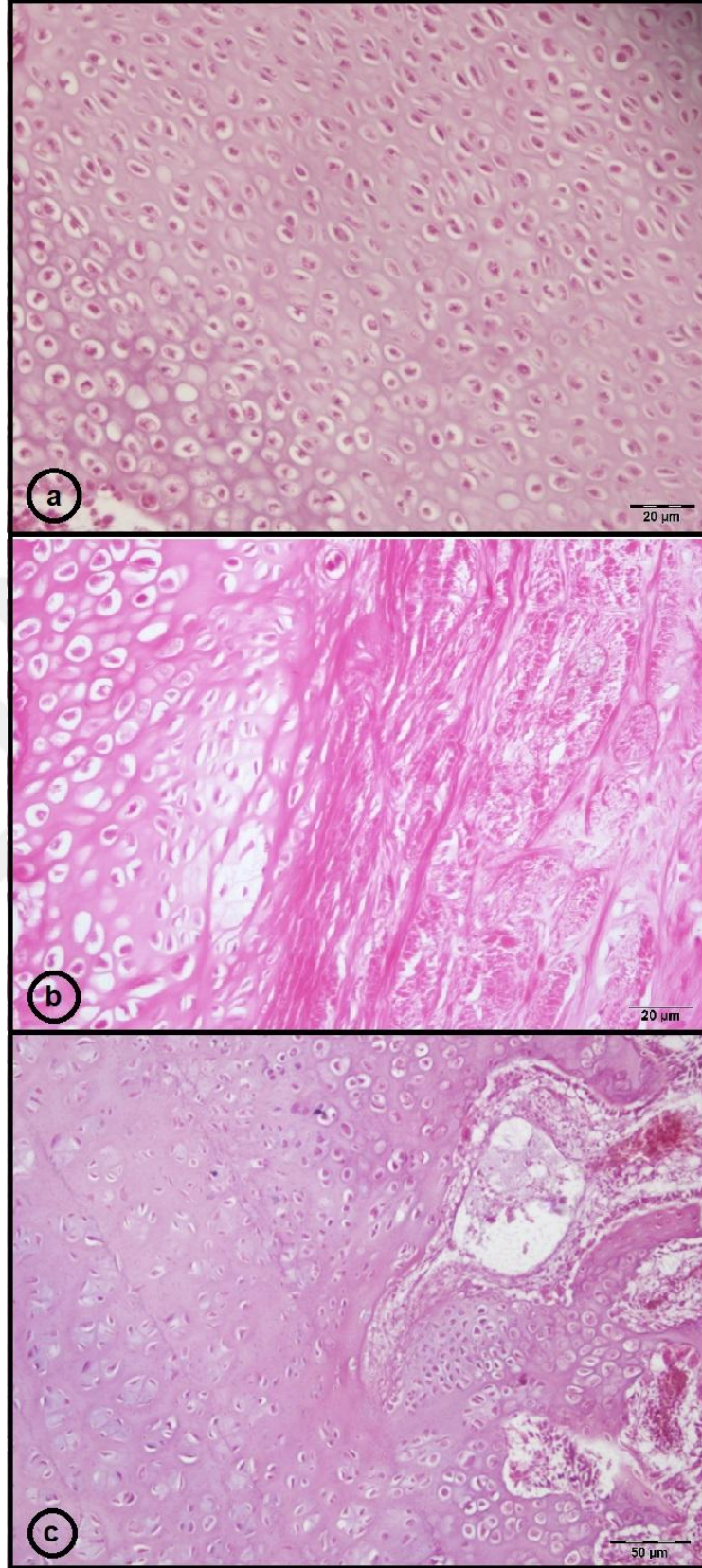
Makroskobik incelemelerde ayak hastalıklı broylerlerin ilk bakışta normal ayakta duruş pozisyonunu koruyamama yürürken zorlanma bir ya da iki ayağını hiç kullanamama veya tamamen yerde göğsü üzerinde yatma eğiliminde olduğu belirlenmiştir. Daha dikkatli bakıldığında ise tibiotarsal eklemlerde kalınlaşma, şişlik ve dokunulduğunda yumuşama olduğu izlenildi (Şekil 4.1.). Kesimden sonra ise hayvanların tibiotarsal kemiğin epifiz tabakasından metafiz tabakasının içine doğru uzanan opak beyaz veya donuk beyaz denilecek renkte anormal kıkırdak tabakalarına da rastlanıldı.



a: Ayakta duruş pozisyonunu koruyamama kalınlaşmış tibiotarsal eklemler
b: Her iki ayağında kullanamayan ayak hastalıklı broyler

Şekil 4.1. Ayak hastalıklı broylerler

Mikroskopik incelemede ise, sağlıklı broylerlerde histopatolojik bulgulara rastlanmaz iken (Şekil 4.2.) ayak hastalıklı broylerlerde tibiotarsal kemiklerin epifizyal büyüme tabakalarındaki belirgin bir şekilde seyreden bulgular; aşırı hipertofisi artmış kondrositler, olgunlaşmamış kondrositler olduğu tespit edildi, ayrıca aynı bölgede kan damarı bakımından fakir nekrotik kondrosit yamalarının olduğu da tespit edildi (Şekil 4.2.).



a: Sağlıklı broylerlerin ayak kemik dokusunun kondrosit görünümü. HE., Bar: 20 µm
b: Ayak Hastalılı broylerlerin ayak kemik dokusunun kondrosit görünümü HE., Bar: 20 µm
c: Ayak Hastalılı broylerlerin ayak kemik dokusunun kondrosit görünümü HE., Bar: 50 µm

Şekil 4.2. Ayak kemik dokularının mikroskopik histopatolojik görüntüleri.

4.2. Dokuların Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Değerleri

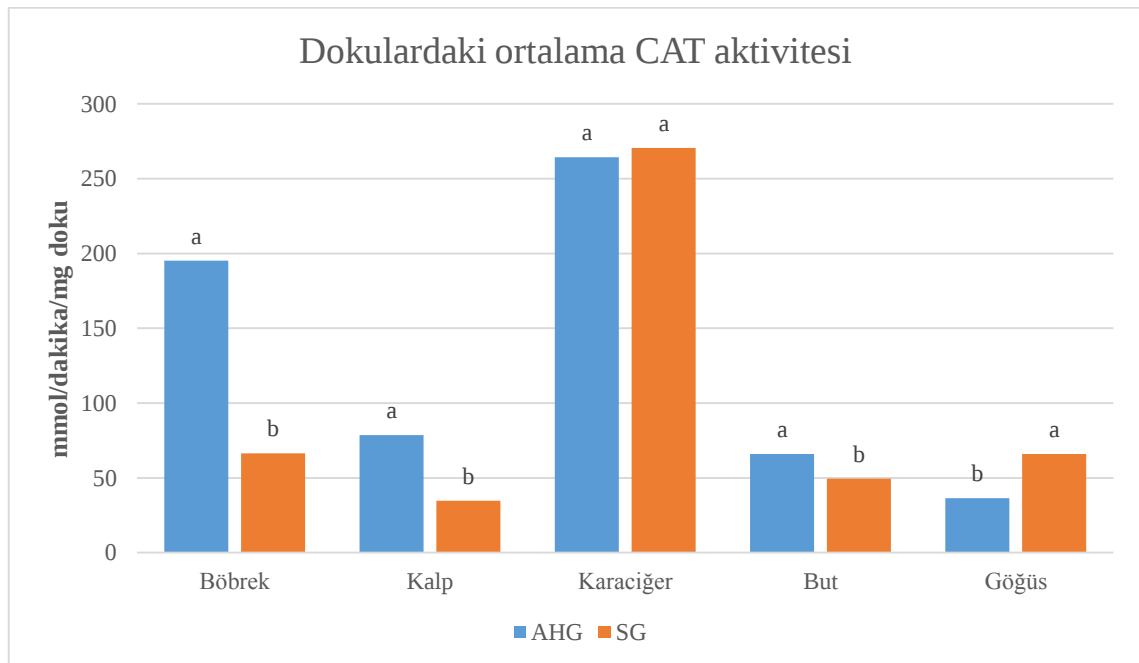
Böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularının CAT aktivitesi Tablo 4.1 ve Şekil 4.3’de verilmiştir. Ayak hastalıklı grubun böbrek, but ve kalp dokularındaki CAT aktivitesinin sağlıklı gruba göre önemli miktarda arttığı ($p<0,01$), fakat ayak hastalıklı grubun göğüs dokusunun CAT aktivitesi sağlıklı gruba göre önemli oranda düşük olduğu belirlendi ($p<0,01$). Karaciğer dokusunda CAT aktivitesi bakımından AHG ile SG’de elde edilen bulgularının benzer olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.1. Gruplar arasındaki CAT enzim aktivitesinin değerleri

Dokular	Gruplar		p
	AHG	SG	
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	
Böbrek	195,229±15,841	66,396±4,796	**
Kalp	78,680±9,495	34,721±7,589	**
Karaciğer	264,366±19,458	270,660±22,370	ÖD
But	66,019±6,829	49,442±8,540	**
Göğüs	36,345±3,566	65,990±8,349	**

* = $p<0,05$, ** = $p<0,01$, ÖD = Önemli Değil, n=10

$\bar{X}$: Ortalama, SH: Standart hata



Şekil 4.3. Dokulardaki ortalama CAT aktivitesi

4.3. Dokuların Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesi Değerleri

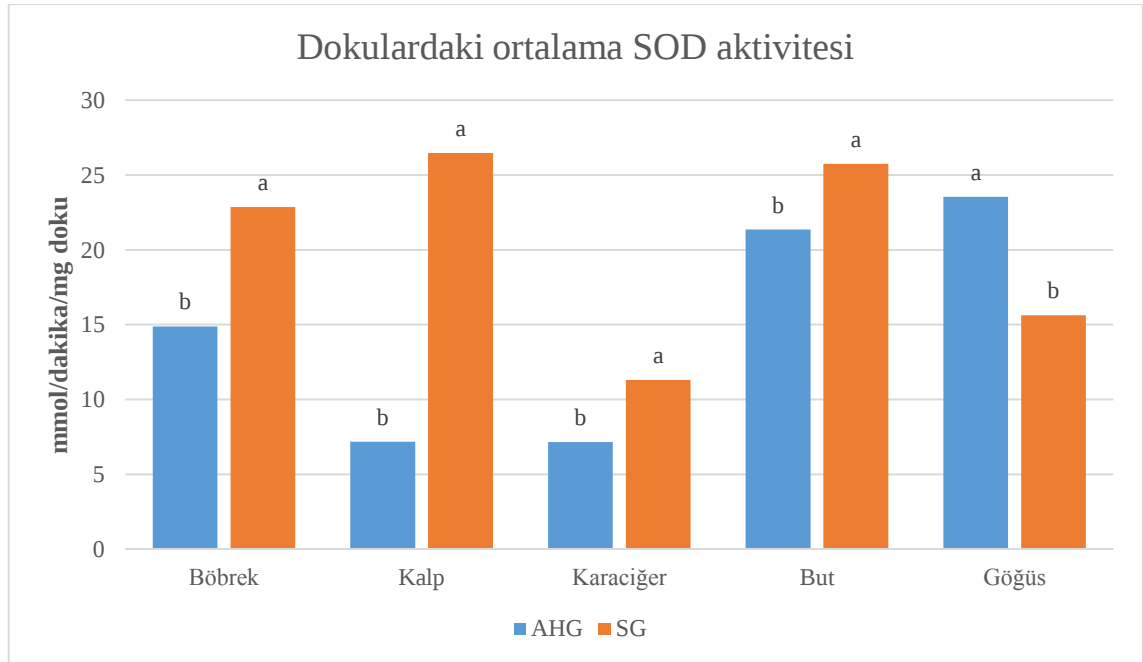
Araştırmada incelenen böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularının SOD aktiviteleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.4’de verilmiştir. Ayak hastalıklı hayvanların böbrek, but, kalp ve karaciğer dokularının SOD aktiviteleri sağlıklı hayvanların dokularına göre önemli oranda düştüğü ($p<0,05$), göğüs dokusunda ise yükseldiği görülmüştür ($p<0,01$).

Tablo 4.2. Gruplar arasındaki SOD enzim aktivitesinin değerleri

Dokular	Gruplar		p
	AHG	SG	
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	
Böbrek	14,885±0,515	22,857±1,503	**
Kalp	7,179±1,295	26,473±0,496	**
Karaciğer	7,150±0,899	11,312±3,409	*
But	21,360±3,290	25,754±1,290	*
Göğüs	23,545±0,379	15,624±1,843	**

* = $p<0,05$, ** = $p<0,01$, ÖD = Önemli Değil, n=10

$\bar{X}$: Ortalama, SH: Standart hata



Şekil 4.4. Dokulardaki ortalama SOD aktivitesi

4.4. Dokuların Total Glutasyon (GSH) Miktarı Değerleri

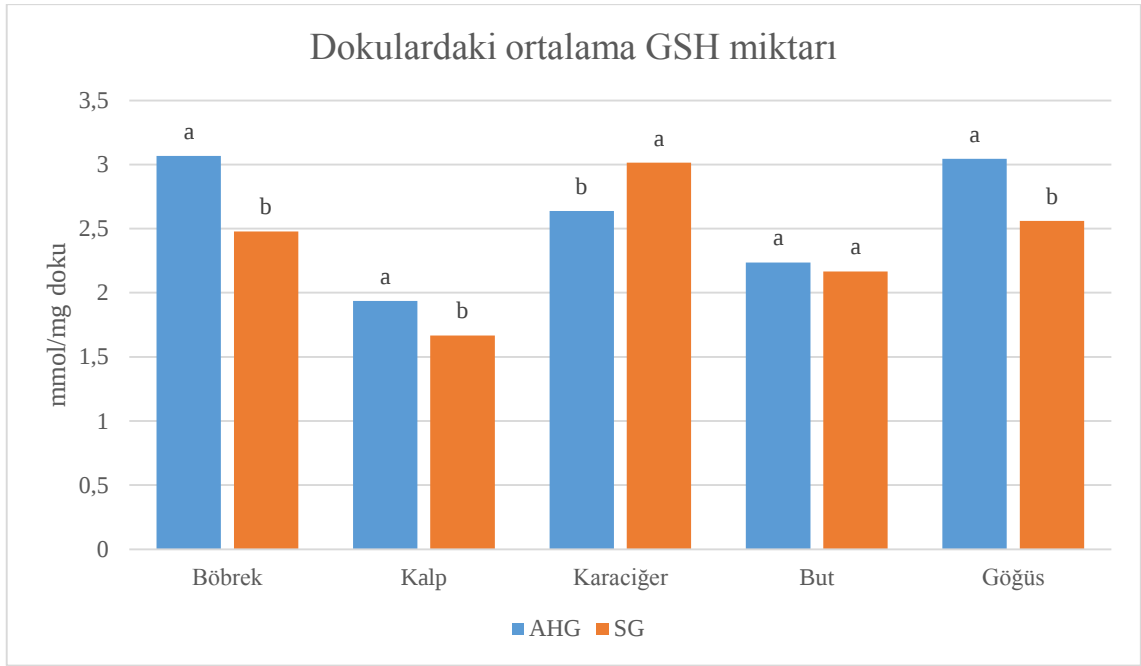
Ayak hastalıklı ve sağlıklı hayvanlardan alınan böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokuların GSH miktarı Tablo 4.3 ve Şekil 4.5’de verilmiştir. Yapılan analizde AHG ve SG but dokusunun GSH oranlarının benzer olduğu belirlenmiştir ($p>0,05$). A ayak hastalıklı ve sağlıklı hayvanların böbrek, göğüs ve kalp dokularında GSH miktarının önemli oranda farklı olduğu tespit edildi ($p<0,01$). Buna göre ayak hastalıklı grubun böbrek, göğüs ve kalp dokusun GSH miktarları sağlıklı gruptan, sağlıklı grubun karaciğer dokularındaki GSH miktarının ise ayak hastalıklı gruptan önemli oranda yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.3. Gruplar arasındaki GSH miktarının değerleri

Dokular	Gruplar		p
	AHG	SG	
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	
Böbrek	3,068±0,240	2,477±0,077	*
Kalp	1,936±0,173	1,667±0,074	**
Karaciğer	2,639±0,161	3,015±0,394	*
But	2,236±0,134	2,165±0,093	ÖD
Göğüs	3,044±0,220	2,560±0,138	**

* = $p<0.05$, ** = $p<0.01$, ÖD = Önemli Değil, n=10

$\bar{X}$: Ortalama, SH: Standart hata



Şekil 4.5. Dokulardaki ortalama GSH miktarı

4.5. Dokuların Lipid Peroksidasyon (LPO) Miktarı Değerleri

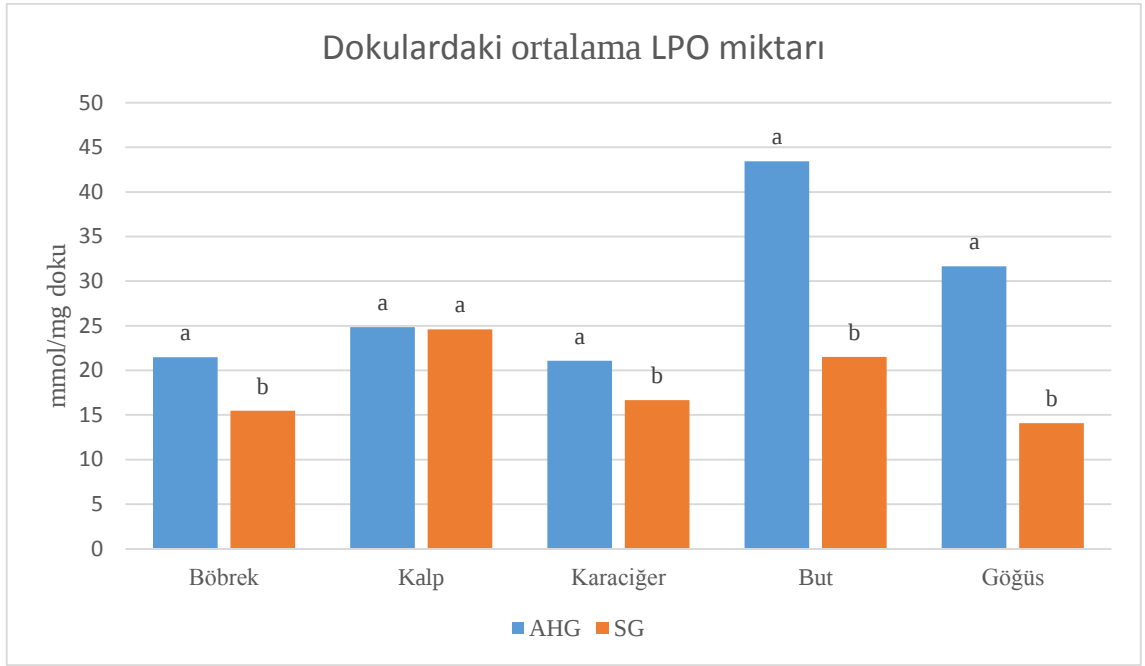
Araştırmada grupların böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularının LPO miktarı Tablo 4.4. ve Şekil 4.6.'de verilmiştir. Yapılan analizlerde grupların kalp dokularındaki LPO miktarları benzer bulunmuştur. Ancak böbrek, but, göğüs ve karaciğer dokuları arasında önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Buna göre ayak hastalıklı grubun but, göğüs, karaciğer ve böbrek dokularındaki LPO oranları sağlıklı gruptan önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. ($p<0,01$).

Tablo 4.4. Gruplar arasındaki LPO miktarının değerleri

Dokular	Gruplar		p
	AHG	SG	
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	
Böbrek	21,467±1,359	15,467±0,985	**
Kalp	24,853±2,242	24,587±1,832	ÖD
Karaciğer	21,067±2,005	16,667±1,270	**
But	43,440±1,139	21,493±2,276	**
Göğüs	31,680±4,035	14,080±0,694	**

* = $p<0.05$, ** = $p<0.01$, ÖD = Önemli Değil, n=10

$\bar{X}$: Ortalama, SH: Standart hata



Şekil 4.6. Dokulardaki ortalama LPO miktarı

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde nüfus artışına paralel olarak besin ihtiyacı ve dolayısıyla ete olan ihtiyaçta artmıştır. Bu alanda yapılan genetik ve beslenme ile ilgili çalışmalar broylerlerin kesim ağırlığına ulaşma süresini kısaltmış ve yemden yararlanma oranları iyileştirilmiştir. Ancak bu hızlı üretim ve gelişim çeşitli sorunları da beraberinde getirmiştir. Bu sorunların en önemlilerinden biride ayak ile ilgili ortaya çıkan problemlerdir. Broyler yetiştiriciliğinde görülen ayak hastalıkları kanatlı endüstrisinde önemli ölçüde ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Yapılan araştırmalarda ABD’de sadece ayak hastalıklarının sebep olduğu ekonomik kayıpların 80 milyon dolara ulaştığı^{15,19}, Türkiye’de ise broyler sürülerinin %15’inde bacak anormalliklerine rastlanıldığı bildirilmiştir.¹³ Broylerler de ortaya çıkan ayak hastalıklarının birçok faktöre bağlı olduğu bilinmektedir. Bu faktörlerin başında hızlı gelişen ırk olarak bilinen genetik faktörler, beslenmelerinde kullanılan rasyonun besin madde bileşiminin yetersiz veya dengesiz olması, hastalıklar, toksinler, antibesinsel faktörler, yaş, cinsiyet, fiziksel aktiviteler, endokrin sistem ve çevre şartları ile ilgili faktörler gelmektedir. Ayak problemlerinin genel olarak hızlı gelişen et tipi kanatlılarda görülmesi genetik faktörleri ön plana çıkarmaktadır. Ayak hastalıklarının görülmesi için genetik faktörlerin dışında diğer faktörlerden en az birin daha olması gerekir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ayak hastalıklarının özellikle kemik dokusunun histolojik olarak tam gelişmemesi sonunda olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kemik dokusunun gelişme için en başta kalsiyum ve fosfor olmak üzere mineral metabolizması üzerine durulmuştur. Bu çalışmada bugüne kadar yeteri kadar üzerinde durulmayan but ve göğüs kasları ile karaciğer, böbrek ve kalp dokularındaki antioksidan metabolizmaları ayrıntılı olarak incelenerek etiyolojisinin belirlenmesine katkıda bulunmaya çalışılmıştır.

Broyler yetiştiriciliğinde ırkların hızlı gelişmesi birçok hassasiyeti de yanında getirmiştir. Bu hassasiyet özellikle dokuların gelişme ve metabolizmalarının farklı olmasından dolayı önemlidir. Kas dokusu hızlı gelişirken, kemik dokusu bu hızlı gelişmeye her zaman uyum sağlayamaz. Diğer deyimle kemik dokusu tam olarak gelişimini sağlayamaz. Buradan kas dokusunun ve kemik dokusunun metabolizmalarının farklı olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca kemik dokusunun yetiştirme esnasında oluşan herhangi bir olumsuz faktörden daha kolay etkilendiği ve bunda ayak problemlerine neden olabileceği bilinmektedir. Bu çalışmada aynı şartlarda yetiştirilen ve beslenen ayak hastalıklı ve sağlıklı hayvanların kemik dokuları histopatolojik olarak incelendi (Şekil 4.2). Ayak hastalıklı gruptaki hayvanların tibiotarsal kemiklerin epifizyal büyüme tabakalarında görülen aşırı hipertrofi artmış kondrositler, olgunlaşmamış kondrositlerin oluşması, ayrıca aynı bölgede kan damarı bakımından fakir nekrotik kondrosit yamalarının olması, aynı bulguların sağlıklı hayvanlarda görülmemesi literatür bulgularla desteklenmektedir.^{21,22} Hayvanların ayaklarında değişik derecelerde oluşan problemler verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu çalışmada kullanılan hayvanlardan iki adetinin resimleri Şekil 4.1.' de verilmiştir.

Ayak hastalıkları oluştuğunda özellikle TD vakalarında bacak kemiklerinde histopatolojik olarak değişimler şekillenmektedir. Yapılan bir çalışmada tibia kemiğinde yapılan incelemede TD'li hayvan gruplarında kan damarlarının genişlediği, hücrelerde apoptozis ve daralma ile düzensiz kondrosit kolonlarının görüldüğü bildirilmiştir.⁶³ Yine İmik ve ark. (2012)²² yaptığı çalışmada TD'li hayvanların tibiotarsal eklem dokusunda histopatolojik olarak dejeneratif değişiklikler, kondrositlerde hipertrofinin baskın olduğu, urat kristalleri ve kalsifikasyonun ise olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada da hastalığın hayvanların tek bacağına veya her iki bacağına da olduğu, hayvanların

ayakta duramaması veya güçlükle durduğu görülmektedir. AHG grubundaki hayvanların kemik dokularında yapılan histopatolojik inceleme sonucunda tibiotarsal kemiğin epifiz tabakasından metafiz tabakasının içine doğru uzanan opak beyaz veya donuk beyaz denilecek renkte anormal kıkırdak tabakaları TD’li hayvanların literatürdeki makroskobik lezyonlarına uygun niteliktedir.^{21,22} Mikroskobik olarak ise tibiotarsal kemiklerin epifizyal büyüme tabakalarında kan damarından fakir bölgeler, hipertofisi artmış kondrositler ve olgunlaşmamış kondrositlerin oluşuda TD’yi ilk olarak keşfeden ve anormal kıkırdak gelişimi olarak tanımlayan Leach ve Nesheim (1965)²¹ bahsettikleri lezyonlarla benzerlik göstermektedir. Çalışmadaki histopatolojik bulgulara bakıldığında literatürde genelde beslenme ile ilişkilendirilmiş ayak hastalıklarının etiyolojisi ile birçok noktada benzerlik gösterdiği görülmektedir.^{21,22} Bu durum da makroskobik ve mikroskobik incelemeler sonucunda elde ettiğimiz bulgular amacımıza uygun bir çalışma yaptığımızı göstermektedir.

Kanatlılarda en çok görülen ayak hastalıklardan biri olan TD’nin etiyolojisini açıklamak için çoğunluğu mineral metabolizması ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. Ancak antioksidan metabolizma üzerine yapılan çalışmalar yok denecek kadar az veya yoktur. Praul ve ark. (2000)²⁵’nın yapmış olduğu çalışmada 3 farklı t re 21 gün boyunca düşük kalsiyumlu diyet uygulanmış ve değerlendirme sonucunda epifizyal büyüme plağındaki genlerin mutasyonu sonucu paratiroit hormonu ve paratiroit hormon reseptörlerinin etkilenmesi ile kıkırdak dokudaki kondrosit aktivitesini değiştirdiği ve değişimin kısmen de TD başlatabildiği ileri sürülmüştür. Yine Shim ve ark. (2012)⁶⁴ hızlı ve yavaş büyüyen tavuk ırkları arasında yaptığı çalışmada hızlı büyüyen ırklarda TD insidansının daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Yine TD ile ilgili yapılan birçok çalışmada rasyonun anyon-katyon dengesi, vitamin ve mineral dengesinin bu hastalık üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu yönde yapılan bir çalışmada rasyondaki Na/K oranının

4.9-3.6 arasında olduğunda TD oluşumunun etkilenmediği, ancak rasyondaki Cl seviyesi 2.4 gr/kg'ı geçtiğinde TD lezyonlarının şekillendiği bildirilmiştir.⁶⁵ Yine Rondon ve ark. (1999)⁶⁶ broylerlerde yaptıkları çalışmada 1-21. günlerde rasyonda Na düzeyinin artırılmasının TD oluşumunu azalttığını belirtmişlerdir. Bir diğer araştırmada TD tanısı konan hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre serum kalsiyum ve fosfor seviyelerinin önemli oranda azaldığı ancak, serum Mg, Fe, Na, K ve Cl düzeylerinin her iki grupta da benzer olduğu bildirilmiştir.²²

Broyler ırkı hayvanlarda görülen ayak hastalıklarının oluşmasında etkili olan faktörün (hangi faktör olursa olsun) strese neden olduğu ve bu durum ise ayak hastalıklarının oluşum veya şiddetini artırarak hastalığın oluşum mekanizmasını hızlandığını söyleyebiliriz. Bu nedenle bu çalışmada stres ile ayak hastalıkları ilişkilendirilerek; stres üzerinden antioksidan metabolizma etiyolojisi açıklanmaya çalışılmıştır. Herhangi bir nedene bağlı olarak ortaya çıkan stres faktörleri hayvanlarda oksidan-antioksidan arasındaki dengeyi bozabilmektedir. Broylerlerde meydana gelen ayak hastalıkları da hayvanlarda strese neden olarak bu denge üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Nitekim yapılan çalışmalarda broylerler strese girdiklerinde ve yürüyüş bozuklukları arttıkça kan kortikosteron konsantrasyonunun yükseldiği belirtilmiştir.⁶⁷⁻⁶⁹ Kanda kortikosteron konsantrasyonunun artması strese karşı verilen hormonal yanıt olarak kabul edilebilir.⁷⁰ Hayvanlar strese maruz kaldıklarında üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) CAT, SOD ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi antioksidan enzimler tarafından uzaklaştırılmaktadır.⁷¹ Nitekim yapılan bu çalışmada ayak hastalıklı hayvanlarda organizmada oluşan stresin etkilerini azaltmada görevli antioksidan enzimlerden CAT aktivitesinin böbrek, but ve kalp dokularında yüksek bulunması bu bilgiler tarafından desteklenmektedir. Fakat göğüs dokusunda CAT aktivitesinin düşük bulunması muhtemelen hayvanın duruş pozisyonu ile ilgili olabileceği şeklinde

yorumlanabilir. Karaciğer dokusunda CAT aktivitesinin benzer bulunması ise muhtemelen metabolik olarak uyum sağladığını göstermektedir. Çalışmada elde edilen SOD bulgularına bakıldığında AHG'de göğüs dokusu hariç diğer dokularda düşük olmasını hayvanların strese metabolik olarak uyum sağlayabilmek için bu enzimi kullandığının göstergesidir diye belirtebiliriz. Göğüs dokusunda yüksek olmasını ise muhtemelen hayvanın duruş pozisyonu ile ilgili olabileceği düşüncesindeyiz. GSH miktarına baktığımız zaman but dokusunda benzer bulunurken, böbrek, kalp ve göğüs dokularında yüksek olması ilgi çekicidir. Bunun nedeni ise organizmada oksidatif stresin artması üzerine böbrek, kalp ve göğüs dokularındaki GSH miktarlarını uyarması sonucunda yükselmiştir. Kalp dokusunun LPO seviyesi her iki grupta benzer olmasına rağmen, AHG'nin böbrek, karaciğer, but ve göğüs eti dokularında LPO'nun yüksek bulunması bu dokularda oksidatif stresin olduğunu göstermektedir. Bu bilgiler literatür bilgileri ile doğrulanmaktadır.⁶³ Mahmood ve ark. (2018)⁶³ broylerde yaptıkları çalışmalarında 7 günlük yaştaki hayvanların karaciğer dokusunda kontrol grubu ile TD'li grup arasında total antioksidan kapasite (T-AOC) seviyesi bakımından fark olmadığı ancak 10, 14 ve 18 günlük yaştaki hayvanlarda T-AOC seviyesinin TD'li grupta önemli oranda azaldığını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada TD'li grupta 7, 10, 14 ve 18 günlük yaştaki broylerlerin karaciğer dokusunda SOD ve GSH-Px aktivilerinin önemli oranda azaldığını, malondialdehit (MDA) miktarının ise arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlara benzer olarak yapılan bu çalışmada 28 günlük yaştaki ayak hastalıklı broylerlerin karaciğer dokusunda SOD aktivitesi ile GSH miktarının azaldığı görülmüştür. Yine LPO miktarı Mahmood ve ark.(2018)⁶³ yaptığı çalışmaya benzer bu çalışmada ayak hastalıklı broyler grubunda böbrek, karaciğer, but ve göğüs dokularında arttığı, fakat kalp dokusunda benzer olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramasında ayak hastalıklarının broylerde antioksidan metabolizma üzerine etkilerini gösteren çalışma sayısının

oldukça kısıtlı sayıda olmasından dolayı elde edilen bulguların karşılaştırılması tam olarak yapılamamıştır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ayak hastalıklı ve sağlıklı broylerlerin böbrek, but, göğüs, kalp ve karaciğer dokularındaki antioksidan metabolizmadaki farklılıklar ile kemik dokusunda histopatolojik değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılan bu tez çalışmasında elden edilen sonuçları şu şekilde sıralayabiliriz;

Ayak hastalıklı ve sağlıklı hayvanların kemik dokularının histopatolojik olarak yapıları incelenmiş ve değişiklikler görülmüştür.

Ayak hastalıklı grubun antioksidan metabolizması sağlıklı gruba göre olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

Yine AHG grubunun but dokusunda SOD aktivitesinin azaldığı, CAT aktivitesi ve LPO miktarının arttığı, GSH miktarının ise değişmediği belirlendi.

Göğüs dokusu incelendiğinde ayak hastalıklı grubun SOD aktivitesi, LPO ve GSH miktarlarının arttığı ($p<0,01$), CAT aktivitesinin ise azaldığı tespit edildi.

Ayak hastalıklı grubun kalp dokusunda CAT aktivitesi ile GSH miktarının arttığı, SOD aktivitesinin azaldığı ve LPO miktarının ise değişmediği belirlendi.

Karaciğer dokusu incelendiğinde SOD aktivitesi ve GSH miktarının azaldığı, LPO miktarının arttığı ve CAT aktivitesinin ise değişmediği görüldü.

Böbrek dokusunda ise SOD aktivesi azalırken, CAT aktivesi, LPO ve GHS miktarı arttığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda broyler yetiştiriciliğinde ayak hastalıklarını azaltmak için rasyona mineral dengesi yanında antioksidanlar ilave edilmesi durumunda ayak hastalıklarının oluşum mekanizmalarına etkisini belirlemek amacıyla yeni çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Shen S, Berry W, Jaques S, Pillai S, Zhu J. Differential expression of iodothyronine deiodinase type 2 in growth plates of chickens divergently selected for incidence of tibial dyschondroplasia. *Animal genetics*, 2004, 35:114-118.
2. Waldenstedt L. Nutritional factors of importance for optimal leg health in broilers: A review. *Animal feed science and technology*, 2006, 126:291-307.
3. Knowles TG, Kestin SC, Haslam SM, Brown SN, Green LE, Butterworth A, Pope SJ, Pfeiffer D, Nicol, CJ. Leg disorders in broiler chickens: prevalence, risk factors and prevention. *PloS One*, 2008, 3:1545.
4. McKay JC, Barton NF, Koerhuis ANM, McAdam J. The challenge of genetic change in the broiler chicken. *BSAP Occasional Publication*, 2000, 27:1-7.
5. Scahaw. The welfare of chickens kept for meat production (broilers). Scientific Committee in Animal Health and Animal Welfare. European Commission Health and Consumer Protection Directorate General Brussels Belgium. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scah_out39_en.pdf. 21 March 2000.
6. Cook JKA. Avian pneumovirus infections of turkeys and chickens. *The Veterinary Journal*, 2000, 160:118-125.
7. Guler HC, Yalcin S. Effects of lighting program and phisical activity on body weight, bone strenght and incidence of tibial dyschondroplasia (TD) in broilers. *XXII World Poult. Congr. Turkey, Book of abst.* 2004, 314.
8. Houshmand M, Azhar K, Zulkifli I, Bejo MH, Meimandipour A, Kamyab A. Effects of non- antibiotic feed additives on performance, tibial dyschondroplasia incidence and tibia characteristics of broilers fed low- calcium diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2011, 95:351-358.

9. Angel R. Metabolic disorders: limitations to growth of and mineral deposition into the broiler skeleton after hatch and potential implications for leg problems. *Journal of Applied Poultry Research*, 2007, 16:138-149.
10. Derakhshanfar A, Kheirandish R, Alidadi S, Bidadkosh A. Study of long effects of administration of aspirin (acetylsalicylic acid) on bone in broiler chickens. *Comparative Clinical Pathology*, 2013, 22:1201-1204.
11. Dinev I. Leg weakness pathology in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 2012, 49:63-67.
12. Leach JrRM, Monson OE. Tibial dyschondroplasia 40 years later. *Poultry science*, 2007, 86:2053-2058.
13. Khan SH, Shahid R, Mian AA, Sardar R, Anjum MA. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler diets on the performance and tibial dyschondroplasia. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2010, 94:584-593.
14. Ospina- Rojas IC, Murakami AE, Duarte CRA, Sakamoto MI, Aguihe PC, Pozza, PC, Santos TC. Tibiotarsus bone characteristics and tibial dyschondroplasia incidence of broilers fed diets supplemented with leucine and valine. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102:768-776.
15. Deniz G. Broylerlerde tibial diskondroplazi ve besleme ile ilişkisi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2001, 20:181-185.
16. Cook ME. Skeletal deformities and their causes: introduction. *Poultry Science*, 2000, 79:982-984.
17. Sullivan TW. Skeletal problems in poultry: estimated annual cost and descriptions. *Poultry Science*, 1994, 73:879-882.

18. Coto C, Yan F, Cerrate S, Wang Z, Sacakli P, Halley JT, Wiernusz CJ, Martinez A, Waldroup PW. Effects of dietary levels of calcium and nonphytate phosphorus in broiler starter diets on live performance, bone development and growth plate conditions in male chicks fed a corn-based diet. *International Journal of Poultry Science*, 2008, 7:101-109.
19. Julian RJ. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry—a review. *The Veterinary Journal*, 2005, 169:350-369.
20. González-Cerón F, Rekaya R, Aggrey SE. Genetic relationship between leg problems and bone quality traits in a random mating broiler population. *Poultry Science*, 2015, 94:1787-1790.
21. Leach JrRM, NesheimMC. Nutritional, genetic and morphological studies of an abnormal cartilage formation in young chicks. *The Journal of Nutrition*, 1965, 86:236-244.
22. Imik H, Terim Kapakin KA, Gümüş R, Kapakin S, Kurt A. The effect of tibial dyschondroplasia on metabolic parameters in broiler chickens. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2012, 59:271-277.
23. Orth MW, Cook ME. Avian tibial dyschondroplasia: a morphological and biochemical review of the growth plate lesion and its causes. *Veterinary Pathology*, 1994, 31:403-414.
24. Karamüftüoğlu Ş, and Kocabağlı, N. effects of various calcium levels and anionic salts on blood acid-base balance, growth performance and development of tibial dyscondroplasia in broilers. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2001, 25:7-14.
25. Praul CA, Ford BC, Gay CV, Pines M, Leach RM. Gene expression and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 2000, 79:1009-1013.

26. Yalçın S, Molayoğlu HB, Baka M, Genin O, Pines M. Effect of temperature during the incubation period on tibial growth plate chondrocyte differentiation and the incidence of tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 2007, 86:1772-1783.
27. Dinev I. Comparative pathomorphological study of rickets types in broiler chickens. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 2012, 3:1-10.
28. Verma DS. Mycotoxins affect bone structure and leg weakness. *World Poultry*, 2006, 22:35-37.
29. Wise DR. Skeletal abnormalities in table poultry- A review. *Avian Pathology*, 1975, 4:1-10.
30. Lacey DL, Huffer WE. Studies on the pathogenesis of avian rickets. I. Changes in epiphyseal and metaphyseal vessels in hypocalcemic and hypophosphatemic rickets. *The American Journal of Pathology*, 1982, 109:288.
31. Damodarn S, Viswanathau S, Mohalingam P. Gout In Cage And Aviary Birds. *Indian Veterinary Journal*, 1978, 55:193-194
32. Bulbule NR, Kapgate SS, Chawak MM. Infectious causes of gout in chickens. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 2014, 2:255-260.
33. Ergün A, Tuncer ŞT, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A, Saçaklı P. *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Kitabı*, Genişletilmiş 7. Baskı. 2017, S:541-558.
34. Guo X, Huang K, Tang J. Clinico-pathology of gout in growing layers induced by high calcium and high protein diets. *British Poultry Science*, 2005, 46:641-646.
35. Julian RJ. Valgus-varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. *The Canadian Veterinary Journal*, 1984, 25:254.
36. Clifcorn LE, Elvehjem CA, Hart EB. The development of a ration for the study of perosis in chicks. *Poultry Science*, 1938, 17:28-32.

37. Titus HW. Perosis, or deforming leg weakness, in the chicken. *Poultry Science*, 1932, 11:117-125.
38. Aslan R, Dündar Y. Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar. *İnsizyon Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi*, 1999, 2:134-42.
39. Kasnak C, Palamutoğlu, R. Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 2015, 3:226-234.
40. Taner G. Serbest radikallere karşı antioksidan savunma. *Bilim Teknik*, 2005, 113: 453.
41. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 2008, 4:89.
42. Sen S, Chakraborty R, Sridhar C, Reddy YSR, De B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2010, 3:91-100.
43. Sen S, Chakraborty R. The role of antioxidants in human health. In: Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy. *American Chemical Society*, 2011, 1-37.
44. Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, 36:718-744.
45. Is Y, Woodside JV. Antioxidant in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 2001, 54:176-186.
46. Baskin SI, Salem H. Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC. Taylor and Francis, 1997, 26-35.
47. Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF. The function of catalase-bound NADPH. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, 262:660-666.

48. Limón-Pacheco J, Gonshebat ME. The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2009, 674:137-147.
49. Garewal HS. Antioxidants and disease prevention. *Florida: CRC Press LLC*, 1997, 3-19.
50. Aslan R, Şekeroğlu MR, Bayıroğlu F. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrel antioksidan savunma. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1995, 2:137-142.
51. Maher P, Lewerenz J, Lozano C, Torres JL. A novel approach to enhancing cellular glutathione levels. *Journal of Neurochemistry*, 2008, 107:690-700.
52. Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD. Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry*, 2014, 79:1562-1583.
53. Welker TL, Congleton JL. Effect of dietary α -tocopherol+ ascorbic acid, selenium, and iron on oxidative stress in sub-yearling Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2009, 93:15-25.
54. Maritim AC, Sanders A, Watkins III JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2003, 17:2438.
55. National Research Council, *Nutrient requirements of poultry*. National Academies Press, 1994.
56. Chemists Association of Official Analytical; Horwitz W. Official methods of analysis. *Vol. I. 15th ed. AOAC, Arlington, VA*, 1990, 489.

57. Aebi H. Catalase in vitro. In: Methods in enzymology. *Academic Press*, 1984, 121-126.
58. Abdel-Wahab MH, Arafa HM, El-Mahdy MA, Abdel-Naim AB. Potential protective effect of melatonin against dibromoacetonitrile-induced oxidative stress in mouse stomach. *Pharmacological Research*, 2002, 46:287-293.
59. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 1988, 34:497-500.
60. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 1968, 25:192-205.
61. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95:351-358.
62. SPSS. Statistical Packages for the Social Sciences 20th ed. IBM: Chicago. 2011.
63. Mehmood K, Zhang H, Iqbal MK, Rehman MU, Li K, Huang S, Shahzad M, Nabi F, Iqbal M, Li, J. Tetramethylpyrazine mitigates toxicity and liver oxidative stress in tibial dyschondroplasia chickens. *Pakistan Veterinary Journal*, 2018, 38: 76-80.
64. Shim MY, Karnuah AB, Anthony NB, Pesti GM, Aggrey SE. The effects of broiler chicken growth rate on valgus, varus, and tibial dyschondroplasia. *Poultry Science*, 2012, 91:62-65.
65. Karunajeewa H, Barr DA, Fox M. Effect of dietary phosphorus concentration and electrolyte balance on the growth performance of broiler chickens. *British Poultry Science*, 1986, 27:601-612.
66. Oviedo-Rondón EO, Murakami A, Martins E. Sodium and chloride nutritional requirements for young broiler chickens (1 to 21 days of age). In *Poultry Science Association Annual Meeting, 88th Annual Meeting*, 1999, 78:63.

67. Siegel HS. Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal*, 1985, 41:36-44.
68. Sugiyama T, Kawarada Y, Hirasawa F. Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species, chapter caeruloplasmin. *Oxford University Press, New York*, 2000, 11–113.
69. Aydın A. Bazı fizyolojik faktörlerin etlik piliçlerin bacak aksaklıkları üzerine etkisi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 2016, 19:249-255.
70. Mench JA. Welfare of poultry in modern production systems. *Poultry Science Reviews*, 1992, 4:107-128.
71. Welker TL, Congleton JL. Effect of dietary α -tocopherol+ ascorbic acid, selenium, and iron on oxidative stress in sub- yearling Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2009, 93:15-25.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Sefa Köseoğlu
Doğum tarihi:	15 Şubat 1984
Doğum Yeri:	Palandöken / Erzurum
Medeni Hali:	Evli
Uyruğu:	T.C.
Adres:	Yunus Emre Mah. Ziyapaşa Cad. Özdeğer Apt. No:34 D:21 Palandöken / Erzurum
Tel:	0533 544 54 13
Faks:	-
E-mail:	sefanin@gmail.com
Eğitim	
Lise:	Erzurum Lisesi (2001)
Lisans:	1. Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2007) 2. Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi, İşletme (2017)
Yüksek lisans:	1. Atatürk Üniversitesi, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi, Biyoloji OFMA (2009)
Doktora:	-
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Almanca:	-
Rusça:	-
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Fitness, Bilgisayar, Telekomünikasyon, Doğa ve kültürel geziler,	

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

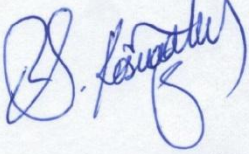
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksel Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Halit İMİK danışmanlığında sunulan “Ayak Hastalıklı ve Sağlıklı Broilerlerden Alınan Karaciğer, But, Göğüs, Böbrek ve Kalp Dokularında Antioksidan Metabolizma ve Ayak Kemik Dokusunun Histopatolojik Değişimler Yönünden İncelenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	15
Genel Bilgiler	3	30
Materyal ve Metod	7	35
Bulgular	7	10
Tartışma	2	15

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz. 07/ 08/ 2019

Sefa KÖSEOĞLU



Prof. Dr. Halit İMİK



* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
VETERİNER FAKÜLTESİ
Birim Etik Kurul Kararı



Karar Sayısı: 2019 / 10	Karar Tarihi: 02 / 07 / 2019
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Halit İMİK'in tarafından 01.07.2019 tarihli yazısı ekinde sunulan (Ayak Hastalıklı ve Sağlıklı Broilerlerden Alınan Karaciğer, But, Göğüs, Böbrek ve Kalp Dokularında Antioksidan Metabolizma ve Ayak Kemik Dokusunun Histopatolojik Değişimler Yönünden İncelenmesi.) adlı başvuru formu birim etik kurulumuz tarafından değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda; sunulan çalışmanın, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ilkesine UYGUN olduğuna karar verilmiştir	
Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU (Başkan)	
Prof.Dr.Mustafa ATASEVER (Üye)	
Prof.Dr.Yavuz Selim SAĞLAM (Üye)	
Prof.Dr.Bülent POLAT (Üye)	
Prof.Dr.İbrahim BALKAYA (Üye)	(İZİNLİ)

EK-4. DİĞER FORMLAR



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI (Tez başlığı değişikliği önerisi olanlar için) (FORM: 08)

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı : Sefa KÖSEOĞLU
Programı (Fakülte/Y.Okul) : Veteriner Fakültesi
Anabilim Dalı : Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı : Anabilim Dalı

Danışmanı : Prof.Dr.Halit İMİK
Ortak Danışman : .

Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 09.08.2019 ve 20369917-050.02.04-E.1900231849 (Karar 4) sayılı kararıyla oluşturulan tez savunma sınavı jürisi, Ayak Hastalıklı ve Sağlıklı Broilerlerden Alınan Karaciğer, But, Göğüs, Böbrek ve Kalp Dokularında Antioksidan Metabolizma ve Ayak Kemik Dokusunun Histopatolojik Değişimler Yönünden İncelenmesi.

başlıklı **yüksek lisans tezini** incelemiş ve aday 26.08.2019 tarihinde, saat 13: 00'da tez savunma sınavına tabi tutmuştur.

DEĞERLENDİRME VE SONUÇ:

- ☒ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda **başarıyla** savunulan tezin **KABUL EDİLMESİNE**,
- ☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda, ay ek süre verilerek tezin **DÜZELTİLMESİNE**,
- ☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda tezin **REDDEDİLMESİNE**,
- ☒ ancak konu ve içeriği değişmeksizin tez başlığının **Ayak Hastalıklı ve Sağlıklı Broilerlerde Bazı Dokuların Antioksidan Metabolizma ve Ayak Kemik Dokusunun Histopatolojik Yönünden İncelenmesi** olarak düzenlenmesine,

☒ **OY BİRLİĞİ**

☐ **OY ÇOKLUĞU** ile karar verilmiştir.

Tez Sınav Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	:Prof. Dr. Mehmet GÜL	
Üye	:Prof. Dr. Halit İMİK	
Üye	:Doç. Dr. Recep GÜMÜŞ	