

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

**BILDIRCINLARDA KURKUMİNİN OVARYUM ISI  
ŞOK PROTEİNLERİ (Hsp) VE NÜKLEER FAKTÖR  
KAPPA B (NF-κB) EKSPRESYONU  
ÜZERİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Nalan DURMUŞ**

**2013**

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

**BILDIRCINLARDA KURKUMİNİN OVARYUM ISI  
ŞOK PROTEİNLERİ (Hsp) VE NÜKLEER FAKTÖR  
KAPPA B (NF-κB) EKSPRESYONU ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Nalan DURMUŞ**

**ELAZIĞ-2013**

**ONAY**

Doç. Dr. Oktay BURMA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

  
Prof. Dr. Mehmet Ali AZMAN

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Danışman

**Tez Sınavı Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Ertuğrul KILIÇ 

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN 

Prof. Dr. Nurhan ŞAHİN 

## TEŐEKKÖR

Tez konumun belirlenmesi, yűrűtűlmesi ve yazımı aŐamalarında, yűksek lisans űđrenimim sűresince desteđini ve yardımlarını esirgemeyen, danıŐman hocam Sayın Prof. Dr. Kazım Őahin'e, yűksek lisans űđrenimim sűresince ve tezimin yűrűtűlmesi aŐamasında her tűrlű bilimsel katkı ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nurhan Őahin'e' ve Dr. Cemal Orhan' a, araŐtırma sűresince dođrudan veya dolaylı yardımlarını gűrdűđűm baŐta Yard. Doç. Dr. Mehmet Tuzcu'ya, Dr. Hasan Gençođlu'na ve tez aŐamasında yardımlarını esirgemeyen, Elazıđ Veteriner Kontrol Enstitű Műdűrű Ŭnal Kılınç'a, bu çalıŐmayı VF.12.04 no'lu proje ile destekleyen FŬBAP birimi koordinatűrlűđűne ve her zaman yanımda olan aileme sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>iv</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>KISALTMALAR</b>	<b>ix</b>
<b>1. ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>3</b>
<b>3. GİRİŞ</b>	<b>5</b>
3.1. Stresin Tanımı	7
3.1.1. Stresin Mekanizması	7
3.1.1.2. Alarm Dönemi	8
3.1.1.3. Direnç Dönemi	8
3.1.1.4. Tükenme Dönemi	9
3.2. Kanatlılarda Sıcaklık Stresi	9
3.2.1. Sıcaklık Stresinin Olumsuz Etkilerinin Azaltılması	11
3.3. Kurkumin	12
3.3.1. Tarihçesi	13
3.3.2. Kullanım Alanları ve Özellikleri	13
3.3.3. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri	15
3.3.3.1. Kurkuminin Antioksidan Etkileri	15
3.3.3.2. Kurkuminin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi	16
3.3.3.3. Kurkuminin Angiogenesis Etkisi	16

3.3.3.4. Kurkuminin Antikanser Etkisi	17
3.3.3.5. Kurkuminin Antimikrobiyel Etkisi	17
3.4. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)	17
3.5. Isı Şok Proteinleri	20
3.5.1. Isı Şok Proteinlerinin Çeşitleri	21
3.5.2. Isı Şok Proteinlerin Görevleri	22
3.5.2.1. Isı Şok Proteinlerin Hücre Dışı Görevleri	23
3.5.3. Isı Şok Proteinlerinin Hastalıklardaki Rolü	23
3.5.4. Isı Şok Proteinleri ve Stres	24
3.6. Amaç	24
<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>26</b>
4.1. Gereç	26
4.1.1. Hayvan Materyali	26
4.1.2. Yem Materyali	26
4.2. Yöntem	27
4.2.1. Deneme Düzeni	27
4.2.2. Örnek Alınması	28
4.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması	28
4.2.3. Laboratuar Analizleri	29
4.2.3.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)	29
4.2.3.2. Western Blot	32
4.2.3.3. Örneklerin Western Blot ile Analizi	33
4.2.4. İstatistiksel Analizler	34

<b>5. BULGULAR</b>	<b>35</b>
5.1. NF- $\kappa$ B Düzeyleri	35
5.2. Isı Şok Proteinleri	36
<b>6. TARTIŞMA</b>	<b>41</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>55</b>

## TABLULAR LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Bazal rasyonun bileşimi ve besin madde değerleri	27
<b>Tablo 2.</b> Deneme düzeni	28

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b> Genel adaptasyon sendromunun (GAS) aşamaları	8
<b>Şekil 2.</b> Kurkumin	12
<b>Şekil 3.</b> Kurkumin'in etkileri	14
<b>Şekil 4.</b> Kurkuminooidlerin kimyasal yapısı	15
<b>Şekil 5.</b> Oksidatif stres durumlarında NF-κB yolağı	19
<b>Şekil 6.</b> Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum NF-κB düzeyleri üzerine etkisi	36
<b>Şekil 7.</b> Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp60 düzeyleri üzerine etkisi	37
<b>Şekil 8.</b> Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp70 düzeyleri üzerine etkisi.	38
<b>Şekil 9.</b> Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp90 düzeyleri üzerine etkisi	40

## KISALTMALAR

AP-1	: Aktivatör Protein-1
APS	: Amonyum Persülfat
BHT	: Butillenmiş Hidroksiyanozil
CAT	: Katalaz
COX-2	: Siklooksijenaz2
DAB	: Diaminobenzidin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
GAS	: Adaptasyon Sendromu
GLM	: General Linear Model
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
Hsp	: Isı şok proteinleri
IKK	: IκB kinaz
Iκ-B	: Nükler faktör kappa B inhibitörü
LPO	: Lipid Peroksid
NF-κB	: Nükleer Faktör kappaB
NOS	: Nitrik oksit sentez
PMSF	: Fenil metil sülfonil florit
SAS	: Sodyum Dodesilsülfat
SDS	: Sodyum dodesilsülfat çözeltisi
sHsp	: Küçük Isı Şok Proteinler
SOD	: Süperoksid Dismutaz
SS	: Sıcaklık Stresi

TEMED : Tetrametil-Etilendiamin  
TN : Termonötral Grup  
TNF- $\alpha$  : Tumor nekrozis faktör alfa  
TNK : Termonötral Kuşak

## 1. ÖZET

Kanatlılarda sıcaklık stresi yem yüketimi ve besin madde kullanımını azaltarak büyüme, yumurta verimi, yumurta kalitesi ve ekonomik kayıplara dolayısıyla performansta düşüöşlere neden olmaktadır. Aynı zamanda, yüksek çevre sıcaklığı kanatlılarda oksidatif stres ile ilişkili olan oksidatif hasar artışına ve plazma antioksidan düzeylerinde düşüöşlere neden olmaktadır. Sıcaklık stresine bağılı olarak görülen bu olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için antioksidanlar kanatlı diyetlerine katılmaktadır. Kurkumin, zerdeçal olarak da bilinen Hint safranı baharatında (*Curcuma longa*) bulunan doğıal bir polifenol olup antioksidan ve antiinflamatuvar etkilidir. Bu çalışmada, yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan bıldırcınlarda kurkuminin ovaryum nükleer faktör kappa B (NF-κB) ve ısı şok proteinleri (Hsp) üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma, 180 adet Japon bıldırcını (*Coturnix coturnix japonica*) ile 2 x 3 (sıcaklık, kurkumin dozu) faktöriyel deneme düzeninde yürütülmüştür. Hayvanlar gün boyunca kontrollü bir odada 22 °C (Termonötral, TN grup) ve 34 °C'de günde 8 saat boyunca yüksek ısı koşullarında (09:00-17:00 arası; Stres Grubu, SS) tutulmuştur. Her iki ortamda da hayvanlar bazal diyet ve farklı düzeylerde kurkumin içeren (200, 400 mg/kg yem) diyetlerle beslendiler. Sıcaklık stresine bağılı olarak bıldırcınların ovaryum NF-κB, Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 düzeyleri sırasıyla %80.3 61.3, 51.5 ve 55.5 artış göstermiştir. Ancak, diyete kurkumin ilavesi ile TN şartlarda yetiştirilen bıldırcınlara göre SS altında yetiştirilen bıldırcınlarda, ovaryum NF-κB, Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 düzeyleri sırasıyla %24.8, 33.2, 18.4 ve 26.5 oranında azalmıştır ( $P < 0.0001$ ). Kurkumin artışına bağılı olarak NF-κB (%153.1-84.9), Hsp60 (%139.4- 86.4), Hsp70 (%133.8 - 88.3) ve Hsp 90 (%145.6 - 90.2) düzeyleri

lineer bir azalma göstermiştir ( $P<0.0001$ ). Sonuç olarak kurkumin ilavesinin sıcaklık stresi altındaki bıldırcınlarda, ovaryum nükleer transkripsiyon faktörü ve ısı şok protein düzeylerini azaltmıştır.

**Anahtar Sözcükler:** Bıldırcın, kurkumin, ovaryum, NF- $\kappa$ B, ısı şok proteinler

## 2. ABSTRACT

### **The Effect of Curcumin on Ovary Heat Shock Proteins and NFκB expression in Quail**

Heat stress compromises performance through reducing feed intake, while decreasing nutrient utilization, growth rate, egg production, egg quality and feed efficiency, lead to economic losses in poultry. High temperatures also lead to oxidative stress associated with a reduced antioxidant status in the bird in vivo, as reflected by increased oxidative damage and lowered plasma concentrations of antioxidants. Reducing the negative effects of environmental stress, antioxidants are used in the poultry diets. Curcumin, a natural polyphenol in the spice turmeric (*Curcuma longa*) exhibits antioxidant and antiinflammatory properties. This study was conducted to determine the effects of dietary curcumin on the levels of heat shock proteins (Hsp) and nuclear factor kappa B (NF-κB) of ovarium in heat-stressed quail. A total of 180 five-week-old female Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) were reared either at 22°C for 24 h/d (thermoneutral, TN group) or 34°C for 8 h/d (HS) in 2 × 3 (temperature X curcumin levels) factorially design. Birds in both environments were randomly fed 1 of 3 diets: basal diet and basal diet added with 200 or 400 mg of curcumin/kg of diet. Exposure to HS caused increasing in the levels of NF-κB, Hsp60, Hsp70 and Hsp90 in the ovarium by 80.3, 61.3, 51.5 and 55.4%, respectively. The ovarian NF-κB, Hsp 60, Hsp70 and Hsp90 levels decreased 24.8, 33.2, 18.4 and 26.5%, respectively for quails reared under the HS environment than for those reared under the TN environment with supplemental curcumin (P<0.0001 for all). In response to increasing supplemental curcumin level, there were linear decreases in the levels of NF-κB (153.1 to 84.9%), Hsp60 (139.4 to 86.4%), Hsp70 (133.8 to 88.3%) and Hsp90 (145.6 to 90.2%) (P<0.0001 for all). In conclusion, supplemental curcumin

decreased the hepatic nuclear transcription factors and expressions of ovarial heat shock proteins in heat-stressed quails.

Key words: Quail, curcumin, ovarium, NF- $\kappa$ B, heat shock proteins

### 3. GİRİŞ

Kanatlı hayvanların üretiminde yüksek çevre sıcaklığı sosyal davranışların azalması, birbirlerinden uzaklaşması, kanatlarını açarak hava dolaşımını sağlamaya çalışmaları, yürüme ve ayakta durma hareketlerini yeterince yapamamaları gibi bir takım davranışsal değişikliklere neden olmaktadır (1). Böyle durumlarda hayvanlar vücudun termoregülasyonunu sağlamak için sıcaklık kaybetmeye çalışırken solunum hızları artarak kan pH'nın yükselmesine neden olurlar. Dolayısıyla alkoloz gelişerek ölüm şekillenmektedir (2). Öte yandan, aynı hayvanlarda yüksek çevre sıcaklığına bağlı olarak gelişen sıcaklık stresinin; büyüme hızı, yemden yararlanma oranı ve canlı ağırlık artışı gibi performans özellikleri ile verim ve ürün kalitesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmektedir (1,3). Bununla birlikte, sıcaklık stresine maruz kalan kanatlılarda antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı, immun sistemin baskılandığı, serum antioksidan, vitamin ve mineral seviyelerinin düştüğü (4,5) ayrıca sıcaklık stresi sonucu ısı şok protein (Hsp) ekspresyonlarının arttığı ortaya konmuştur (3,6).

Yüksek çevre sıcaklığının, ciddi ekonomik kayıplara neden olmasından dolayı son zamanlarda, kanatlılarda sıcaklık stresine karşı uygulanabilecek yöntemler araştırılmaktadır. Soğutma sistemlerinin geliştirilmesi ve kümeslerin havalandırılması, kümeslerde ya da kafeslerde daha az hayvan barındırılması, sıcaklığa dayanıklı ırkların oluşturulması gibi yüksek maliyetli uygulamaların yanısıra hayvanların geçici sürelerle aç bırakılması, yemleme saatlerinin düzenlenmesi ile rasyonun bileşiminin değiştirilmesi, antioksidan vitamin, mineral ve biyoaktif bileşiklerin kullanılması gibi uygulamalar yapılmaktadır (2,7). Deneysel olarak yapılan çalışmalarda, farmasötik ve güçlü bir antioksidan

(8,9) olduğu bilinen zerdeçal bitkisinin aktif maddesi olan kurkuminin, son zamanlarda diyeteye ilavesi başarı ile uygulanmaktadır. Ayrıca, kurkuminin anti-kanserojen (10), anti-inflamatuar (11), anti-depresan (12) ve anti-mikrobiyal özelliklerinin de (13) olduğu tespit edilmiştir.

Bununla birlikte yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan kanatlılarda en iyi belirleyicinin ısı şok proteinleri olduğu, ısı şok proteinleri ile sıcağa dayanıklılık düzeyi arasında logaritmik bir ilişkinin bulunduğu ve hücrelerin korunmasında önemli bir rol oynadığı da belirtilmektedir (14). Isı şok proteinleri hücre içerisinde yüksek sıcaklığa karşı tolerans, sıcaklık şokundan sonra hücre sıcaklığının ayarlanması, sıcaklık artışından kaynaklanan protein denatürasyonunu önleme, endotoksinlere karşı hücreyi koruma ve hidrojen perokside karşı direnç sağlamakla görevlidir. Kanatlılar üzerinde yapılan bir çalışmada, 25°C' lik ortamda yetiştirilen tavuklardan alınan kan örneklerinde, ısı şok proteinlerine rastlanmazken, 41°C' lik ortamda bulunan tavukların kan örneklerinde, yüksek düzeyde saptanmıştır (15). Yine, Yahav ve ark. (16)'larının, yapmış oldukları bir çalışmada, 44.5°C'ye maruz kalan etlik piliçlerde, Hsp proteinleri sentezinin görüldüğü, ancak daha düşük sıcaklıklarda ise stres proteininin sentezlenmediği belirtilmektedir. Şahin ve ark. (17)'lerinin yapmış olduğu bir başka çalışmada ise, termo-nötral şartlarda yetiştirilen bıldırcın yemlerine, çinkopikolinatin 30 ve 60 mg/kg dozlarının terapötik olarak ilave edilmesi ile Hsp ekspresyonunun düştüğü belirlenmiştir. Bu çalışmalar, Hsp proteinlerinin hücredeki düzeyleri, hücrenin sahip olduğu sıcağa dayanıklılık gücü açısından güçlü bir belirleyici olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

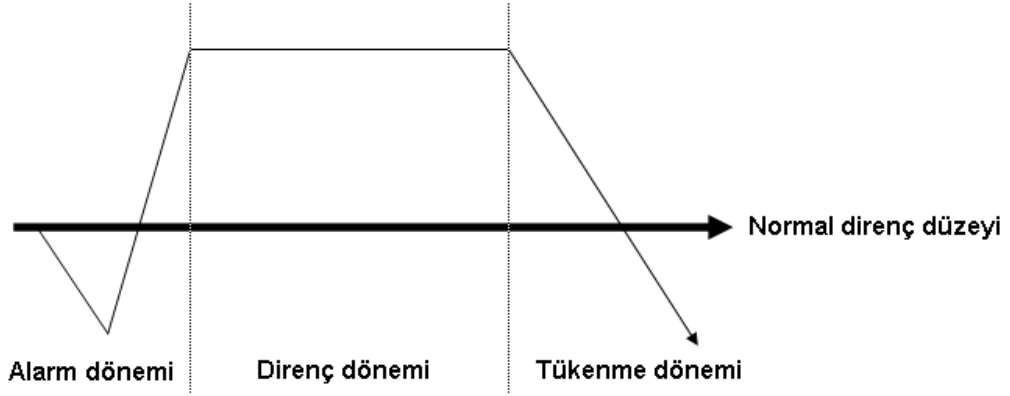
Yüksek çevre sıcaklığına bağlı olarak oluşan stres durumlarında reaktif oksijen türleri seviyesindeki artış, hücrede nükleer faktör kappa-B (NF-κB) olarak bilinen bir transkripsiyon faktörünü de etkilemektedir. Tüm hücre tiplerinde bulunan, inflamasyon genlerinin transkripsiyonu ve immün regülasyonda önemli rol oynayan NF-κB, stres, sitokinler ve serbest radikaller ile uyarılan bir transkripsiyon faktörüdür (18).

### **3.1. Stresin Tanımı**

Stres, bir eylem ya da durum karşısında canlının gösterdiği fiziksel veya psikolojik bir tepkidir. Çevre sıcaklığının optimum sınırların altında ya da üstünde olması, kanatlılarda strese sebep olmaktadır. Ayrıca kümeslerdeki havalandırmanın yetersizliği, ışık dengesizliği, gürültü, kafeslerdeki barındırma yoğunluğu, rasyonda yapılan ani değişiklikler, vitamin ve mineral eksikliği, dengesiz beslenme, nakil, travma, bakteri, virüs, iç-dış parazitler, aşılama, yaralanmalar ve yetiştiricilik yöntemleri gibi bir çok sebepler neden olabilmektedir (1).

#### **3.1.1. Stresin Mekanizması**

Canlı organizma, stres faktörlerine maruz kaldığında strese karşı genel adaptasyon sendromu (GAS) veya biyolojik stres sendromu adı verilen bir savunma mekanizması oluşturmaktadır (19,20). GAS, alarm dönemi, direnç dönemi, bitkinlik veya tükenme dönemi olmak üzere üç aşamada incelenebilir (Şekil 1).



**Şekil 1.** Genel adaptasyon sendromunun (GAS) aşamaları (19).

### 3.1.1.2. Alarm Dönemi

Organizma herhangi bir stresöre maruz kaldığında merkezi sinir sistemi ve adrenal medulladan bir takım hormonlar salgılanır. En başta katekolaminlerin salgılanması söz konusu olup, akut strese karşı bir denge oluşturulmaya çalışılır. Bu denge organizmanın uyum süreci tamamlanıncaya kadar devam etmektedir. Bu uyum oluşuncaya kadar belirli bir süre gerekir. Bu süre sağlanıncaya kadar organizma karşılaştığı stresörle uyum sağlamak yerine mücadele etmesi gerekir ki bu döneme “savaş ya da kaç” mekanizması adı verilmektedir (Şekil 1). Bu tepki adrenal medulladan adrenalın veya noradrenalinin salınımı ile dengelenmekte ve enerji üretimindeki artış ile sonuçlanmaktadır. Sonrasında solunum hızı, nabız ve kan basıncı artar (20).

### 3.1.1.3. Direnç Dönemi

Enerji tüketiminin hızlandığı alarm döneminin ardından, organizma stresörün etkisi bitene kadar ya da vücut rezervleri tükeninceye kadar direnç döneminin devam etmesidir. Bu dönemde adrenal korteksten kortikoidlerin

salınımı aktif hale geçer. Glikoneogenez olayının başlaması ile vücutta kan glikoz seviyesinin düzenlenmesi sağlanır. Adrenal korteksin sürekli uyarılması kortikosteroidlerin dolaşım sisteminde yüksek düzeyde kalması yangısal olayların baskılanmasına neden olur. Ayrıca antikor üretimini engelleyerek savunma sistemini yavaşlatır. Organizma dengeye kavuştuğunda ise uyum enerjisi biter. Bu dönemi atlatamayan hayvanlar tükenme dönemine girerler (20).

#### **3.1.1.4. Tükenme Dönemi**

Stresör etkisinin devam etmesi hayvanların savunma mekanizmalarının yetersiz kalmasına ve tükenme dönemine girmesine neden olur. Bu safhada görülen adrenal yetersizlik verim düşüklüğü hastalıklara karşı direncin azalması, büyüme hızının durması gibi olumsuzluklar ortaya çıkarır. Bunun neticesinde organizma bu duruma karşı koymak için fizyolojik ve davranışsal mekanizmalarla koruma süreci başlatır. Stresörlere karşı kortizol salgılaması ve vücut depolarını yıkımlayarak dengeyi tekrar kurmaya çalışır fakat bu durumun üstesinden gelemezse hayvan sağlığı tehlikeye girebilir (20,21).

#### **3.2. Kanatlılarda Sıcaklık Stresi**

Kanatlılar, vücut sıcaklıklarını sabit tutabilen (sıcakkanlı, homeotermik) hayvanlardır (17). Buldukları ortamın sıcaklığı ne şekilde olursa olsun kanatlılar vücut sıcaklıklarını 40.6–41.7°C arasında koruyabilirler. Ancak, metabolizma hızları daha yüksek olan bıldırcınlar için bu değer ortalama 42.2°C düzeyindedir. Hayvanların, az enerji ile verim ve fizyolojik fonksiyonlarını sağladığı çevre sıcaklığı "termonötral kuşak" (TNK) olarak adlandırılır. Kanatlılar için termonötral kuşak 18–22°C arasındadır (17). Kanatlılarda sıcaklık stresi çevre

sıcaklığının termonötral sınırları aşmasıyla, vücut sıcaklığı ile vücuttan atılan ısı arasındaki dengenin bozulmasıdır. Kanatlılar buna tepki olarak vücut sıcaklıklarını çeşitli metabolizmalarla sabit tutmaya çalışırlar (19). Eğer kanatlıların bulunduğu ortamda ısı ve nem bir dengede değilse refah seviyeleri düşer. Böylece metabolik ısı üretimleri düşerek, yem tüketimleri azalır ve hormonal değişiklikleri kapsayan birtakım fiziksel değişiklikler ortaya çıkar (22,23). Ayrıca, sıcaklık stresinin kanatlılarda yem tüketimini, vitamin ve mineral ihtiyacını arttırdığı tespit edilmiştir (24,25). El Husseiny ve Creger'in (26) yapmış oldukları bir çalışmada yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan etlik piliçlerin Ca, Fe, K, Na ve Zn oranlarında azalma tespit etmişlerdir. Yine, kanatlılarda oluşan sıcaklık stresi kanda pH seviyesinin yükselmesine ve buna bağlı olarak solunum alkalozunun gelişmesine neticesinde ölümlerin meydana gelmesine neden olmaktadır (12). Öte yandan, kanatlılarda sıcaklık stresinin antioksidan savunma sistemini zayıflattığı, immun sistemi baskıladığı, ısı şok protein ekspresyonlarını arttırdığı ve oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (4,6,25,27). Yapılan araştırmalar da sıcaklık stresine maruz kalan yumurtacı tavukların, yumurta ağırlığı ve kabuk kalitesinde belirli bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir (28,29). Ayrıca sıcaklık stresinin kanatlılarda istenmeyen et özelliklerine sebep olduğu düşünülmektedir (30).

Vücutta normal şartlar altında serbest radikallerin oluşma hızı ile ortadan kaldırılma hızı arasında bir denge vardır. Organizmadaki bu durum oksidatif denge olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif denge, serbest radikallerin oluşumunu antioksidan savunma sisteminin önleyemediği durumlarda bozulur ve oksidatif stres oluşur. Oksidatif streste hücrelerin lipid, protein, DNA,

karbohidratlar gibi tüm önemli bileşikleri etkilenerek yapılarının bozulmasına ve neticesinde doku hasarının oluşmasına neden olur (1,3,7).

Oksidatif stres kanatlılarda, canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma, yumurta veriminde azalmaya, dejeneratif bozukluklara, performans kaybına, ürün kalitesinde düşmeye neden olmaktadır. Bu olumsuz etkilerin azaltılmasına yönelik kanatlı hayvanların rasyonlarına ilave edilen doğal veya sentetik antioksidan maddeler (karotenoid, A, C ve E vitaminleri, metiyonin, selenyum, çinko, omega 3 yağ asitleri, likopen, bazı bitkisel ekstraktlar gibi ) mevcut olup bu olumsuzlukların en az seviyeye düşürülmesi mümkün olabilmektedir (5,26 ).

### **3.2.1. Sıcaklık Stresinin Olumsuz Etkilerinin Azaltılması**

Sıcaklık stresinin kanatlılarda önemli ekonomik kayıplara neden olmasından dolayı birtakım yöntemlerin araştırılmasına gereksinim duyulmuştur. Bunlar arasında, kümeslerdeki havalandırma sistemlerinin geliştirilmesi, hayvan sayılarının azaltılması, sıcaklığa dayanıklı ırkların oluşturulması gibi yüksek maliyetli uygulamaların yanısıra, yemleme saatlerinin düzenlenmesi ve rasyonlara antioksidan etkili vitamin ve mineral katkılarının ilavesi gibi yöntemler giderek artmaktadır (12,17). Ancak, kanatlı üretiminde uygulamaların pratik ve düşük maliyetli olması ön planda tutulduğu için daha çok beslenmedeki değişiklikler esas alınarak rasyonda besin maddesinin yoğunluğunun artırılması tavsiye edilmiştir (28,31,32).

Rasyonlara ilave edilen vitamin ve mineraller sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmaktadır (1,4,17,18,33,34). Sıcaklık stresine maruz kalan kanatlılarda antioksidan etkili vitaminler ve minerallerle ilgili detaylı

çalışmalar mevcuttur (1,33,35). Örneğin, çinkonun antioksidan etkili olmasından dolayı, yüksek çevre sıcaklığının etkisini azaltmak amacıyla rasyonlara katılmaktadır (18,34). Ayrıca, mineral açısından zenginleştirilmiş su yumurtacı tavuklarda kabuk kalitesini artırmak için kullanılabilir (1).

### 3.3. Kurkumin

Zencefil ailesine ait olan kurkumin (*Curcuma longa L.*), lifli, sarı çiçekli, otsu bir bitki olup, *Curcuma longa* bitkisinin kökünden elde edilir. Bitkinin toprak altındaki ana kökleri yumurta ve armut şeklinde, yan kökleri ise parmak (rizom) şeklindedir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir (Şekil 2). Hindistan, Çin, Endonezya, Jamaika, Peru ve Pakistan olmak üzere Asyanın birçok tropik bölgelerinde yetiştirilmektedir. Zencefile benzer acımsı bir tat ve hafif bir aromaya sahiptir (36,37).



Şekil 2. Kurkumin

### 3.3.1.Tarihçesi

Kurkuminin geçmişi 5000 yıl öncesine dayanmaktadır. Sarı renkli olan kurkumunun, M.Ö. 600'lü yıllardan beri boya, ilaç ve baharat olarak kullanıldığı bilinmektedir. Kurkumin, ilk kez 1815 de tespit edilmiş ve 1870 de kristal formu elde edilmiştir ve sonrasında 1910 yılında kimyasal yapısının keto-enol formunda olduğu açıklanmıştır (38). Payton ve ark. (39)'ları, tarafından detaylı yapılan bir çalışmada, enol formu bulunmuş ve kurkumin enol formundan elde edilmiştir. Ayrıca, kurkumininin çok fazla biyolojik aktivitelere sahip olduğu, bunlar arasında antioksidan ve anti-karsinojenik etkilerinin önemli olduğu bildirilmiştir (40). *Curcuma longa* bitkisi sadece gıda bileşeni olarak değil, aynı zamanda çeşitli hastalıkları tedavi etmek amacıyla, yan etkileri olmadan yüzyıllar boyunca Hindistan halkı tarafından kullanılmış aynı etkiye sahip diğer ilaçlardan daha ekonomik ve etkili olduğu tespit edilmiş, günümüzde halen güvenli olarak kullanılmaktadır (37,41).

### 3.3.2. Kullanım Alanları ve Özellikleri

Halk arasında baharat olarak bilinen kurkumin aslında birçok hastalığın önlenmesinde ve hatta tedavisinde önemli rollere sahiptir. Asyalılar zerdeçalı ülkelerinde yaraların ve ülserlerin tedavisinde kullanmaktadırlar. Hindistan tıbbında büyük bir öneme sahip olan zerdeçalın; nezle, öksürük, karaciğer rahatsızlıkları, romatizma, sinüzit, safra ile ilgili rahatsızlıklarda ve anoreksia tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca, kan temizleyicisi, tonik ve deri hastalıkları tedavisinde de kullanılmaktadır (42,43).

Bununla birlikte epidemiyolojik, klinik ve hayvan deneyleri ile yapılan çalışmalarda kurkumin'in birçok biyolojik etkisinin moleküler mekanizmaları

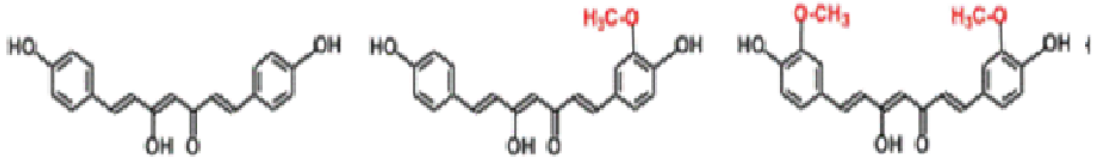
açıklanmaya çalışılmıştır. Antimikrobial (13), antioksidan (7), antiinflamatuvar (11), yara iyileştirici (44), antimutajenik (45), antikarsinojenik (10), antimetazatik (19,46), nöro koruyucu (12), angienezisi düzenleyici (47,48) gibi birçok özelliği ispatlanmış olup doz aşımında toksik özellik göstermeyen (49) doğal bir maddedir (Şekil 3). Nitekim, yapılan bir çalışmada, 200 mg/gün'lük dozlarda kurkuminin antikarsinojen, antiinflamatuvar etkilerine sahip olduğu ve hiçbir yan etkisinin olmadığı belirtilmiştir (10,41).



Şekil 3. Kurkumin'in etkileri (48 )

### 3.3.3. Kurkuminin Kimyasal Özellikleri

Genellikle zerdeçalın içerisinde ortalama olarak %3-5 oranında bulunan kurkumin, *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen küçük molekül ağırlıklı sarı pigmentli polifenolik bitkisel bir bileşiktir. Keto ve enol formu bulunmaktadır (51). *Curcuma longa* bitkisinin 3 önemli ana bileşeni bulunmaktadır; *Curcumin*, *demethoksicurcumin* ve *bisdemethoksicurcumin*'dir (Şekil 4) (51).



*Bisdemethoksicurcumin*

*Demethoksicurcumin*

*Curcumin*

**Şekil 4.** Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı (51)

Antioksidan bir bileşik olan tetrahidrokurkuminden oluşan zerdeçal kokusuz, ısıya dayanıklı bir bileşiktir. 184 °C'de eriyebilen kurkumin aseton ve etanolde de çözünebilir fakat suda çözünemezler. Kurkuminoidlerin sahip oldukları kimyasal yapı özellikleri gıdalardaki peroksit oluşumunu engellemesi sebebi ile muhafaza sürelerini arttırdığı bilinmektedir (52).

#### 3.3.3.1. Kurkuminin Antioksidan Etkileri

Kurkumin bilindiği gibi antioksidan özelliği olan bir bitkidir (7). Yapılan bir çalışmada, kurkuminin antioksidan özelliği araştırılmış ve bunun için tavuk kıymasına 400 ppm oranında kurkumin ekstraktı ilave edilmiştir. Sonrasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kurkumin ekstraktının antioksidan etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun kurkuminin antioksidan özelliğine sahip

fenolik bileşenlerden kaynaklandığını belirtmiştir (53). Buna benzer yapılmış olan başka bir çalışmada ise kurkuminooidlerin aynı şekilde antioksidan özellikleri araştırılmış ve bu ekstraktların antioksidan kapasitesinin askorbik asite eşdeğer olduğu belirlenmiştir. BHT (Butillenmiş hidroksiyanozil, 100 ppm) ile karşılaştırıldığında ise kurkuminin antioksidan ve antiseptik aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (54).

Antioksidan özelliğinden dolayı C ve E vitaminlerine de benzerlik gösterir. Oksidatif stres sonucu glikoz konsantrasyonundaki artış lipid peroksidasyonu ve proteinlerin glikozilasyonunu arttırmakta, kurkumin ise lipid peroksidasyonunun (yağların bozulması) oluşmasını baskılamaktadır (7,55,56). Buna rağmen kurkuminin hücrel oksidatif stres baskılamasının mekanizması halen net olarak bilinmemektedir.

### **3.3.3.2. Kurkuminin Yara İyileşmesi Üzerindeki Etkisi**

Yara iyileşmesinde uzun yıllardır Hindistan'da cilt hastalıklarında, böcek ısırıklarında ve su çiçeğinde alternatif tıbbi destek olarak kullanıldığı bilinmektedir (57). Kurkumin yaraların tedavisinde kullanılmasının sebebi yaradaki miyofibroblastlarda kasılmaları hızlandırmakta ve sonucunda fibronektin ve kollagen ekspresyonu arttırmaktadır (58). Kurkumin yara iyileşmesinin erken dönemlerinde nitrik oksit üretimini artırarak trombus oluşumunu engelleyerek yara iyileşme süresini kısaltmaktadır (11).

### **3.3.3.3. Kurkuminin Angiogenesis Etkisi**

Angiogenesis yeni damarların yapımı, dokuların büyümesi ve tamiri sırasında vücudun normal bir fonksiyonu olarak gerçekleşen fizyolojik bir

süreçtir. Bu süreç embriyonik gelişimde, yara iyileşmesinde ve kemik iyileşmesinde bulunmaktadır (47,48). Ancak angiogenезin kontrol altında tutulmadığı birtakım patolojik durumlar söz konusu olmaktadır. Bunlar tümöral oluşumların büyümesi, artrit, diabetik retinopati ve hemanjiomlar sayılabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tümörün oluşumu ve metaztazında angiogenезin etkisinin olduğu ve kurkuminin tümöral dokuları azalttığı belirtilmektedir (59).

#### **3.3.3.4. Kurkuminin Antikanser Etkisi**

Yapılan son çalışmalarda kurkuminin doza bağımlı olarak hayvanlarda birçok kanser türüne (kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat) karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (10,46,51). Kurkuminin antikanser etkisinin moleküler temeli, transkripsiyon faktörleri, apoptotik genler, angiogenез düzenleyicileri ve hücresel düzeyde olduğu kabul edilmektedir (46,51).

#### **3.3.3.5. Kurkuminin Antimikrobiyel Etkisi**

Kurkuminin E.Coli ve S.Aureus'a karşı anti-bakteriyel etkinliği mikrobiyolojik olarak ispatlanılmıştır (60). Bunun yanısıra antiviral (53,61), antimalarial (62), anti-protozoal (*Leishmania major*) (63) ve immun sistem yetersizliğinde etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Kurkuminin NF-κB gibi transkripsiyon faktörlerinde inhibitör etkisinin olduğu tespit edilmiştir (64,65).

### **3.4. Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)**

Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB), tüm hücrelerde sitoplazma içerisinde inaktif halde bulunan bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB, Ranjan Sen ve David Baltimore tarafından 1986 yılında B lenfositlerin çekirdeklerinde immünglobulin

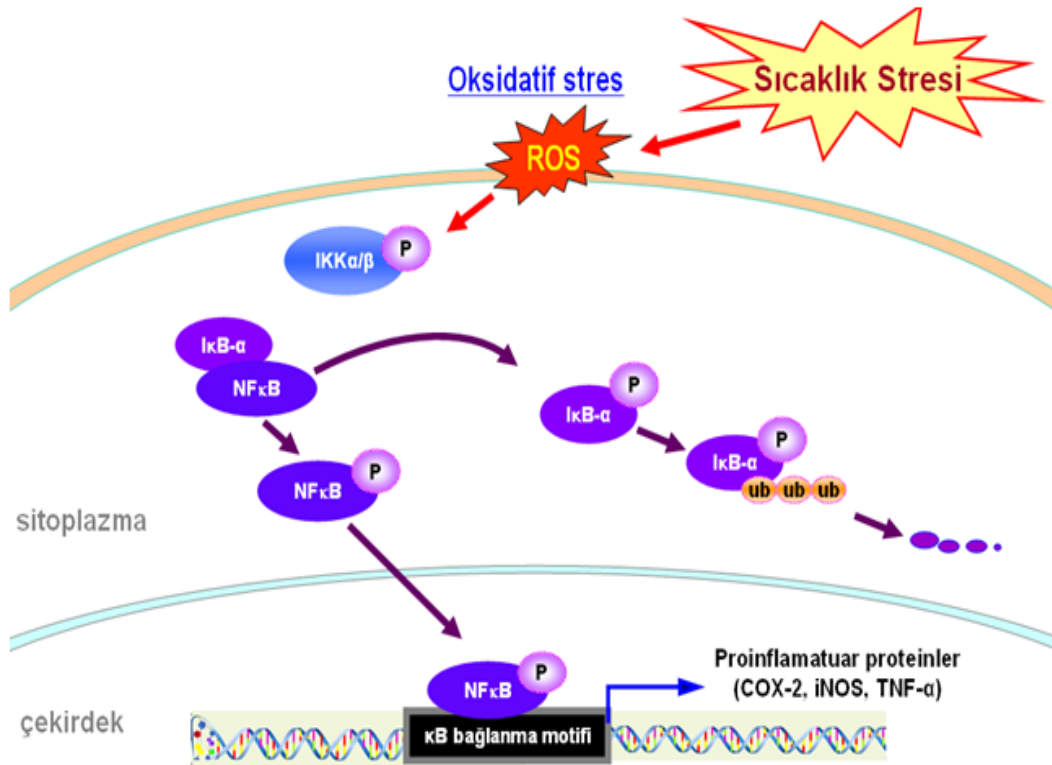
kappa hafif zinciri geninde enhancer bölgesine bağlanan bir faktör olarak tanımlanmıştır (65). NF- $\kappa$ B'nin 5 tipi bulunmaktadır. NF- $\kappa$ B1(p105 ve p50), NF- $\kappa$ B2, RelA (p65), RelB ve c-Rel. Serbest radikallerde olduğu gibi NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörüne bir uyarın söz konusu olduğunda aktif hale geçerek çekirdeğe taşınır ve böylece ilgili gen bölgesine bağlanır. Daha sonra proinflamatuvar proteinlerin (COX-2, iNOS, TNF- $\alpha$ ) ekspresyonlarını sağlayarak burada bağışıklık sistemini, büyüme ve hücre sel yanıtın oluşmasını sağlamaktadır (66). Sitoplazmada I $\kappa$ -B ile kompleks halde bulunan NF- $\kappa$ B stres unsurları ile aktifleşen IKK enzimi tarafından ayrılmasına ve NF- $\kappa$ B'nin serbest hale geçmesine I $\kappa$ -B'nde parçalanmasına sebep olur. Aktif halde bulunan NF- $\kappa$ B çekirdeğe taşınarak ilgili gen bölgesine bağlanıp, proinflamatuvar proteinlerin ekspresyonlarını gerçekleştirmek için transkripsiyonu başlatır ve hücre sel yanıtın oluşmasına neden olur. Kanatlılarda stres durumlarında NF- $\kappa$ B ekspresyon düzeylerinin arttığı belirtilmiştir (7, 67).

NF- $\kappa$ B immün sistemin normal çalışması için gereklidir (68). Bununla birlikte bağışıklık sistemine bağlı bazı hastalıklarda da (örn. ülseratif kolit, Crohn) NF- $\kappa$ B'nin etkisi olduğu düşünülmektedir. NF- $\kappa$ B'nin tümör hücrelerinin gelişiminde etkili olduğu (69) ve NF- $\kappa$ B inhibisyonunun gerçekleşmesi halinde tümör hücrelerini kemoterapiye duyarlı hale getirdiği belirtilmektedir (70,71).

NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörü patolojik süreçlerde, permeabilite bozukluğunda ve hücre hasarında etkili olduğu bildirilmektedir (72). Sonuç olarak, NF- $\kappa$ B'yi aktive eden etkenler viral proteinler, karsinojenler, tümör promoterları ve inflamatuvar ajanlar olarak sıralanabilir (70). NF- $\kappa$ B aktivasyonu ise inflamasyona neden olarak termostat görevi yapmasıdır(73). Hiçbir yan etkisi

olmayan bazı doğal ürünler (limon, kurkumin, zencefil vb) NF-κB'yi inhibe ederek etkilerini göstermektedirler (7,74). Öte yandan, NF-κB birçok antioksidan enzimlerin sentezini teşvik eder.

NF-κB aktivasyonunun tümör oluşumunda önemli bir rol oynadığı ve bununla ilgili yapılan deneysel çalışmalar da NF-κB'nin sadece kanserin başlangıcında değil ilerlemesinde de önemli bir rolü olduğunu ileri sürülmüştür (75). NF-κB antikanser tedavisi için mükemmel bir hedeftir (76). Yapılan bir çalışmada ise kanser, NF-κB ve diğer önemli transkripsiyon faktörleri üzerindeki etkisinin bir sonucu olarak kurkuminin önemli olduğu açıklanmıştır (77). Kurkuminin, farmakolojik olarak güvenli bir ürün olup NF-κB aktivasyonunu ve NF-κB genini baskıladığı bildirilmiştir (51,78).



Şekil 5. Oksidatif stres durumlarında NF-κB yolağı (7)

Strese bağlı olarak oluşan reaktif oksijen turleri seviyesindeki artış hucrede NF-κB transkripsiyon faktoruunu etkilemektedir (şekil 5). NF-κB yapısının ve etki mekanizmasının daha iyi anlaşılması hucresel stresin azaltılması, dolayısıyla stresin olumsuz etkilerinin giderilmesinde yeni yaklaşımların ve etki mekanizmaların ortaya konmasında onemli bir yer tutacaktır (7,67).

### **3.5. Isı şok Proteinleri**

Molekul ağırlıklarına gore adlandırılan bu proteinler, ilk kez yuksek ısıya maruz kalan hucrelerde varlıkları tespit edilmiş ve 1974 yılında “ısı şoku proteinleri (Hsp)” olarak isimlendirilerek kullanılmaya başlanmıştır (79,80). Isı şok proteinleri denilmesinin sebebi oncelikle bu proteinlerin ısıya karşı koruma ozelliklerinin keşfedilmesinden kaynaklanmıştır (81). Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda, bu proteinlerin ultaviyole, radyasyon, iskemi gibi çeşitli olumsuz etkilere karşı da koruma sağladığı belirlenmiştir. Kısaca, ısı şok proteinleri stres gibi her turlu olumsuz durumlarla karşı miktarları artan hucre içi proteinler olup, genellikle stres proteinleri olarak adlandırmaktadırlar (82,83). Bu proteinlerin sentezlendiği bazı durumlar vardır. Orneğin, aşırı sıcak ya da soğuk ortamlar, oksijenin yetersiz olduğu durumlarda sentezlenirler. Bunun yanı sıra, kemoterapötik ajanlar, ateş, yangı, iskemi, hucresel hasar, malignensi, buyume faktörleri ısı şok proteinlerinin sentezinin artmasına nedendir (84).

Normal şartlar altında ısı şok proteinlerinin molekul ağırlıkları 15 kDa ile 110 kDa arasında değişmektedir. Fakat sıcaklık gibi birtakım stres faktörleri ile karşılaştıklarında hucre içi seviyelerinin artması hucreyi bu tip olumsuzluklara karşı gulendiren proteinler olduğunu gostermektedir (85,86). Bununla birlikte yuksek sıcaklık, pH değişiklikleri, oksijen yetersizliği gibi stres faktörlerine

maruz kaldıklarında denatüre proteinlerin hücrede diğer proteinlerle karşılaşması halinde kümeler oluşturması ve protein katlanmalarında açılmaların meydana gelmesi gibi fonksiyonel yapılarının bozulması neticesinde işlevlerini kaybederler (87). Isı şok proteinleri, kuvvetli hidrojen bağları, güçlü hidrofobik etkileşimleri ve çift kutuplu heliks stabilitesinden dolayı fonksiyonlarını kaybeden proteinleri tutarak toplanmalarını engeller (86,88,89). Bu özelliklerinden dolayı moleküler şaperon gibi görev yaparlar (83,89).

### **3.5.1. Isı Şok Proteinlerinin Çeşitleri**

Isı şok proteinler molekül ağırlıkları, yapıları ve fonksiyonlarına göre 5 grupta değerlendirilirler. Bunlar Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 ve küçük ısı şok proteinleri olarak adlandırılır (83,86).

**1.Hsp100:** Molekül ağırlığı yaklaşık 100kDa'dır. Normal olarak bu protein, moleküler şaperonlar gibi görev yaparlar. Hsp100 protein kümelerini eriterek ayrılmalarını ve yenden düzenlenmesini sağlar. Ayrıca, Hsp100 mayalarda sıcaklık toleransının kazanılmasında da görev alır (87,90).

**2.Hsp90:** Sitoplazma ve özellikle endoplazmik retikulumda bulunan ve hücredeki en çok fonksiyonlu protein grubudur. Hsp90, kümeleşen proteinleri engeller ve en önemli özelliği proteinlerin katlanmalarını düzenler. Ayrıca, HSF1 (Isı şok faktör-1)'in normal olarak işlevini yapmasında görev alır (83,87).

**3.Hsp70:**Hsp70 stres sırasında ortaya çıkabilecek denatürasyon ve agregasyonları önleyerek hücreyi ısı ve oksidatif stresten korumaktadır. Hsp70 sitoplazma, çekirdek, endoplazmik retikulum ve mitokondride proteinlerin

taşınmada görev alır (83,88). Hsp90 da olduğu gibi proteinlerin kümeleşmesini önler, katlanmalarını düzenler ve HSF' nin aktivitelerini düzenler Ayrıca. ATP-az aktivitesi gösterir (90).

**4. Hsp60:** Hsp60, proteinlerin sitoplazmadan mitokondriye taşınmasında ve proteinlerin düzgün bir şekilde katlanmasında görev yapar. Ayrıca Hsp60 apoptosizi (programlı hücre ölümü) önlemede önemli rol oynar. Stresten korunmak için gereklidir. Hatalı katlanan polipeptidlere bağlanarak doğru katlanmalarına yardım eder (79,83).

**5. Küçük Isı Şok Proteinler (sHsp):** Molekül ağırlıkları yaklaşık 20-30kDa arasında değişmektedir. Sitoplazma ve çekirdekte bulunur. Organizmadaki dağılımları değişkendir. Sıcaklık stresine maruz kalan hücrelerde belirgin olarak artış gösterir. Küçük ısı şok proteinlerinin Hsp60 ve Hsp70 den farkı proteinlerin düzgün katlanmasında değil stres esnasında kısmen katlanmış proteinleri stabilize ederek çökmelerini engellediklerini belirtmişlerdir (91). Antioksidan özelliği ile birlikte hücresel fonksiyonlarda (apoptozis ve farklılaşma gibi) görev aldığı bilinmektedir (80,90).

### **3.5.2. Isı Şok Proteinlerin Görevleri**

Isı şok proteinlerinin görevleri arasında proteinlerin hücre içinde taşınması, proteinlerin katlanması, kararsız proteinlerin yıkımı, proteinlerin çözülmesi sırasında kümeleşmesini, regülatör proteinlerin kontrolü ve bozuk katlı proteinlerin yeniden katlanması gibi önemli görevleri bulunmaktadır (92,93). Isı şok proteinleri hem hücre içerisinde hem de hücre dışında bir takım fonksiyonlara sahiptirler.

### **3.5.2.1. Isı Şok Proteinlerin Hücre Dışı Görevleri**

Isı şok proteinleri hücre içerisinde normal olarak bulunmaktadır. Hücrelerin öldüğü ve içeriğin dışarı atıldığı durumlarda hatalı eylemlerin meydana gelmesi halinde hücre dışında da bulunur. Ayrıca, hücre dışındaki Hsp'lerin hastalık veya enfeksiyona karşı bağışıklık sistemi üzerine etkili olduğu bilinmektedir (90).

Isı şok proteinleri stres faktörlerinin etkili olmadığı durumlarda hücre içerisinde bulunurlar. Polipeptid zincirlerin düzgün katlanmasında, taşınmasında, birleşme ve ayrılmalarında moleküler şaperon gibi görev yaparlar (83). Sıcaklık stresi esnasında DNA sentezi, transkripsiyon ve proteinlerin denatürasyonu gibi çok sayıda enzim ve yapısal proteinlerde zararlı fonksiyonel değişimler meydana gelmektedir. Bu sebeple stres altında bulunan hücrelerin hayatta kalmasında, proteinlerin fonksiyonlarını sürdürmesinde, normal olmayan proteinlerin toplanmasının önlenmesinde, denatüre proteinlerin yeniden yapılanması ile tekrar fonksiyonel yapılarına dönmelerinde ve zararlı olabilecek peptidlerin ortadan kaldırılmasında önemlidir. Böylece, Hsp'ler hücrel korunmada tamamlayıcı rol oynamakta ve bazen de bir arada çalışmak suretiyle proteinleri stresten korumaktadır (80,83).

### **3.5.3. Isı Şok Proteinlerinin Hastalıklardaki Rolü**

Normal şartlarda Hsp proteinleri hücre dışında bulunmazlar. Sıcaklık, enfeksiyon gibi strese neden olan durumlarda immun cevabın oluşması için çok güçlü tehlike sinyalleri gönderirler (89). Stres proteinlerine karşı gelişen immun cevaplar çapraz reaksiyonlar aracılığıyla hücrenin kendisine karşıt bir reaksiyon

oluşmasına neden olabilmektedir. Isı şok proteinleri, bağışıklık sistemini uyarması ve antijenin oluşmasında önemli rol oynarlar (83,94).

#### **3.5.4. Isı Şok Proteinleri ve Stres**

Isı şok proteinleri hücre metabolizmasının tüm evrelerinde görev alan bir protein grubudur. Hsp'lerin aktivasyonu, proteinlerin denatürasyonu, çökmesi, fonksiyonlarının bozulması, sıcaklık stresi, oksidatif stres ya da proteinlere zarar veren sebeplerle yapılarının bozulması sonucunda cevap olarak organizmaların hücreleri tarafından üretilen bir grup proteindir (94-96). Stres durumlarında hücre içerisinde yanlış katlanmış proteinler meydana gelir ve bu durum ısı şok proteinlerinin artmasına neden olur (97). Yapıları bozulmuş ve yanlış katlanmış polipeptidler Hsp'lere hızla bağlanarak polipeptidlerin tekrar katlanması sağlanır veya yıkımı önlenir (98,99). Bu şekilde Hsp'ler uyumlu protein oluşmasına yardımcı olurlar ve proteinlerin çökmesine engel olarak proteinlerin kendi iç etkileşimlerinde dengeyi sağlayarak hücreyi koruyucu fonksiyon görürler (100). Strese karşı cevabın oluşmasına neden olan Hsp'lerin bulunması, denatüre proteinlerin birikimi ile olmaktadır (15,89).

#### **3.6. Amaç**

Sıcaklık stresinin yukarıda anlatılan olumsuz etkilerini azaltmaya yönelik metotlardan birisi de rasyonda yapılan değişikliklerdir. Bunun için rasyonlara antioksidan özellikleri olan fitokimyasallar ile çinko, krom C ve E vitaminleri gibi mineral madde ve vitamin ilaveleri yapılarak stresin olumsuz etkileri azaltılmaya çalışılmaktadır (1,7,101). Tarafımızdan yapılan bir çalışmada (102), antioksidan etkili olan kurkuminin (55) etçi bildircinlerde, oksidatif stresi önleyerek sıcaklık

stresinin olumsuz etkilerini azalttığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, diyetle ilave edilen kurkumin özellikle sıcaklık stresine maruz kalan hayvanlarda canlı ağırlık artışına neden olmuştur. Ancak, strese maruz kalan yumurtacı bıldırcınlarda, kurkuminin ovarium ısı şok proteinleri ve strese cevapta ve benzeri diğer fizyolojik olaylarda önemli rol oynayan NF- $\kappa$ B düzeyleri üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bilgilerin ışığı altında, bu çalışmada, iki farklı ortamda (termonötral ve yüksek çevre sıcaklığı) yetiştirilen yumurtacı bıldırcınlarda kurkuminin ovarium ısı şok proteinleri (Hsp60, Hsp70, Hsp90) ve NF- $\kappa$ B ekspresyonu üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Gereç

#### 4.1.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada Elazığ'daki ticari bir firmadan (Deva Kanatlı Ürün. ve Tic. A.Ş.) temin edilen 5 haftalık 180 adet, dişi Japon bildırcını (*Coturnix coturnix japonica*) kullanıldı. Araştırma Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Kanatlı Araştırma Ünitesinde yürütüldü.

#### 4.1.2. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan yem ham maddeleri özel bir yem fabrikasından (Elazığ Yem Sanayi A.Ş.) temin edildi. Çalışmada, kurkumin olarak % 70 saflıkta kurkumin (*Curcuma longa*, Turmeric, powder, Sigma-Aldrich Co. Saint Louis, USA) kullanıldı. Bazal rasyonun içeriği ve besin madde değerleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Bazal rasyonun bileşimi ve besin madde değerleri

<b>Hammadde</b>	<b>%</b>
Mısır	53.76
Soya Küspesi	29.27
Soya Yağı	4.85
Tuz	0.31
DL-Metiyonin	0.20
Limestone	9.5
Dikalsiyum Fosfat	1.76
Vitamin ve Mineral Premix	0.35
Analizler	
ME, (kcal/kg)	2830
Ham Protein(g/kg)	179.5
Ca (g/kg)	39.6
P (g/kg)	6.3
Metiyonin (g/kg)	4.2
Lizin(g/kg)	10.5

## **4.2. Yöntem**

### **4.2.1. Deneme Düzeni**

Hayvanlar her grupta 30 adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldı. Her grup da 5 hayvan içeren altı alt gruptan oluşturuldu. Deneme düzeni Tablo 2’de gösterilmiştir. Araştırma 2 x 3 (çevre sıcaklığı x kurkumin dozu) faktöriyel deneme düzeninde yürütüldü. İlk faktör sıcaklık olup hayvanlar gün boyunca kontrollü bir odada 22 °C (Termonötral, TN grup) veya 34 °C’de günde 8 saat boyunca yüksek ısı koşullarında (09:00-17:00 arası; Stres Grubu, SS) tutuldu. İkinci faktörü rasyona katılan üç ayrı kurkumin [1,7-bis(4-hidroksi-3-

metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion] dozu (0, 200, 400 mg/kg yem) oluşturdu. Kurkumin dozları daha önce yapılan çalışma esasa alınarak belirlendi (103). Araştırma 90 gün sürdü.

**Tablo 2.** Deneme düzeni

Grup No	Çevre Sıcaklığı *	Kurkumin**	n
1	TN	0	30
2	TN	200	30
3	TN	400	30
4	SS	0	30
5	SS	200	30
6	SS	400	30

\* TN: Termo nötral, SS: Stres Grubu (günde 8 saat 34°C, geriye kalan zamanda 22°C)

\*\* 0, 200, 400 mg Kurkumin /kg yem

#### 4.2.2. Örnek Alınması

Araştırma sonunda ovaryum örnekleri için her gruptan 12 (her alt gruptan 2 adet) hayvan rastgele alındı. Isı şok proteinleri ve NF-κB düzeyleri kanatlılara spesifik antikor kitleri kullanılarak Western Blotting yöntemi ile yapıldı (6,102).

##### 4.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Ovaryum örneklerinin hazırlanmasında, Tuzcu ve ark (103)'ları, tarafından uygulanan homojenizasyon yöntemi kullanıldı. Taze veya dondurulmuş ovaryum dokusu, 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda [10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5µM soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)] homojenizatör yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4°C'de 60 dakika süreyle

40.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar mikrosantrifüj tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için -80 °C' de saklandı.

### **4.2.3. Laboratuvar Analizleri**

Laboratuvar analizleri Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Moleküler Analiz laboratuvarında, SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ve Western blot metodu ile yapılmıştır.

#### **4.2.3.1. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)**

SDS-PAGE elektroforez jel sisteminde akrilamid monomerlerinden yararlanır. Amonyum persülfat (APS) gibi bir serbest radikal ile TEMED gibi stabilizatörü sağlayıcı ortamda akrilamid monomerleri uzun zincirler oluşturacak şekilde polimerleşmekte ve daha sonra oluşan bu uzun zincirler arasında yanıl bağlantılar oluşarak jel meydana gelmektedir. SDS-PAGE analizinde jelin yapısında yer alan sodyum dodesilsülfat (SDS) deterjanın bulunması ile proteinler kendilerini oluşturan monomer alt birimlerine ayrılmaktadır. Böylece protein agregasyonu önlenmektedir. SDS moleküllerine bağlanan denatüre polipeptidler negatif yük kazanırlar. SDS bağlantılı polipeptid kompleksleri, molekül ağırlıklarına bağlı olarak jel içerisinde hareket ederler. Hareket eden moleküllerin ağırlıkları; aynı jel üzerinde bulunan bir standartla karşılaştırılarak tespit edilir. Mutasyon geçirmiş veya çeşitli olumsuz çevre faktörleri sonucunda canlı organizmanın bir kısım proteinlerinden normale göre parça kopması veya parça ilavesi ya da bazı proteinlerin yeterince sentezlenmemesi gibi özellikler bu jel sisteminde tespit edilmeye çalışılır. Protein moleküllerinin hareketi güç

kaynağından gelen elektrik akımına göre negatif (-) kutuptan pozitif (+) kutuba doğru olur (103).

### **Kullanılan çözeltiler**

- 1.5 M Tris-HCl (pH 8.8)
- 0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)
- % 10 Sodyum dodesilsülfat çözeltisi (SDS)
- %30 Akrilamid/Bisakrilamid çözeltisi
- %10 Amonyum persülfat çözeltisi (APS)
- N, N, N', N', -tetrametil-etilendiamin (TEMED)
- Gliserin
- 2- $\beta$ -merkaptoethanol
- %0,05 Bromofenol blue çözeltisi
- Boyama çözeltisi (Stain solusyon/100 ml):
  - %0.1 Coomassie blue R-250
  - %45 Metanol
  - %10 Glasiyal asetik asit
  - %45 Distile su
- Boya çıkarma çözeltisi (Destain solusyon/100ml):
  - %45 Metanol
  - %10 Glasiyal asetik asit
  - %45 Distile su
- Tank solusyonu (Running buffer, pH 8.3):
  - Tris base 9.0 gr
  - Glisin 43.0 gr
  - Distile su 600 ml

SDS-PAGE için jellerin hazırlanması;	
Separating (ayırma) jelinin hazırlanması (%12)	Miktar
Distile su	3.35 ml
1,5 M Tris-HCl (pH 8.8)	2.5 ml
% 10 SDS	100 µl
Akrilamid /Bis (%30)	4.0 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	5 µl
<b>Toplam</b>	<b>10.0 ml</b>

Stacking jelinin hazırlanması (%4)	
Distile su	Miktar
Distile su	6.1 ml
0.5 M Tris-HCl (pH 6.8)	2.5 ml
SDS (%10)	100 µl
Akrilamid-Bis (%30)	1.3 ml
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	10 µl
<b>Toplam</b>	<b>10.0 ml</b>

Örnek solusyonların hazırlanması	Miktar	Son konsantrasyon
1 M Tris-HCl (pH 6.8)	1.25 ml	0.125 M
% 10 SDS	1.6 ml	%4
%0.05 bromofenol blue	0.2 ml	%0.002
Gliserol	0.8 ml	% 20
2-β-merkaptoethanol	0.4 ml	%10
Distile su	3.75 ml	-
<b>Toplam</b>	<b>8.0 ml</b>	-

#### 4.2.3.2. Western Blot

Western blot yöntemiyle ovaryumlarda Hsp ve NF- $\kappa$ B düzeyleri kanatlılara spesifik antikor kitleri kullanılarak Western blotting yöntemi ile yapıldı. Western blot; elektroforez işlemiyle poliakrilamid jelde göç ettirilen proteinlerin, nitroselüloz membrana transferi ve membrandaki proteinlerin immünolojik metotlarla belirlenmesidir. Blotlama yapılmadan önce çalışılan örneklerdeki proteinler elektriksel ortamda poliakrilamid jel üzerinde göç ettirilmektedir. Proteinlerin elektroforezleri SDS-PAGE'de gerçekleştirilmektedir. Western blot tekniği, elektroforez işlemi takip eden 4 aşamada yapılmaktadır. Bunlar; jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama), spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama), özgül antikorlarla tepkime ve en son aşamada ise proteinlerin görüntülenme aşamalarıdır. Nitroselüloz membrana transfer sırasında jel ile nitroselüloz membran karşı karşıya getirilmekte ve bunlar filtre kâğıtları arasına yerleştirilmektedir. Jelin büyüklüğü ile orantılı olarak belirli bir süre elektrik akımı uygulanıp proteinlerin transferi sağlanır. Nitroselüloz membranın özgül olmayan proteinlerle bloklanmasında albumin tercih edilir. Spesifik antikorlar olarak monoklonal ya da poliklonal antikorlar kullanılabilir. Özgül antikordarda raportör madde olarak genellikle radyoaktif izotoplar veya enzimler kullanılmaktadır. Enzim olarak alkalen fosfataz ve peroksidaz enzimleri tercih edilmektedir. Bu enzimlerin substratları ve kromojen maddeleri birbirinden farklıdır. Son yıllarda enzimle işaretlemeye, testin duyarlılığını arttırmak amacıyla peroksidazla işaretli avidin biyotin sisteminin kullanımı yaygınlaşmıştır.

Kullanılan kromojenlerin en önemli özelliği çözünmeyen renkli ürünler oluşturmalarıdır (103).

#### **4.2.3.3. Örneklerin Western Blot ile Analizi**

Ovaryum örneklerinin Western blot analizleri Tuzcu (101,103), tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama) için SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran (Schleicher and Schuell, Inc., USA) yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya getirildi ve bunlar filtre kağıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solüsyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solüsyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama) için, blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solüsyonla [NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O (0.025 M), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O (0.075 M), NaCl (1.45 M)] çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5'er dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini ile 37 °C' de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı. Özgül antikorlarla tepkime işlemi için, primer antikor olarak poliklonal NF-κB (ab16502), Hsp60 (ab109660), Hsp70 (ab115880) ve Hsp90 (ab13494) antikorları kullanıldı. Primer antikorlar % 0.05 oranında Tween-

20 bulanen tamponda belirtilen oranlarda hazırlandı. Nitroselüloz membranlar primer antikorlar ile +4 °C' de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5'er dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulanen tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş sekonder antikor ile 37 °C' de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solüsyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5–10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Image analyses system (Image J National Institute of Health Bethesda, USA) programı kullanılarak analiz edildi.

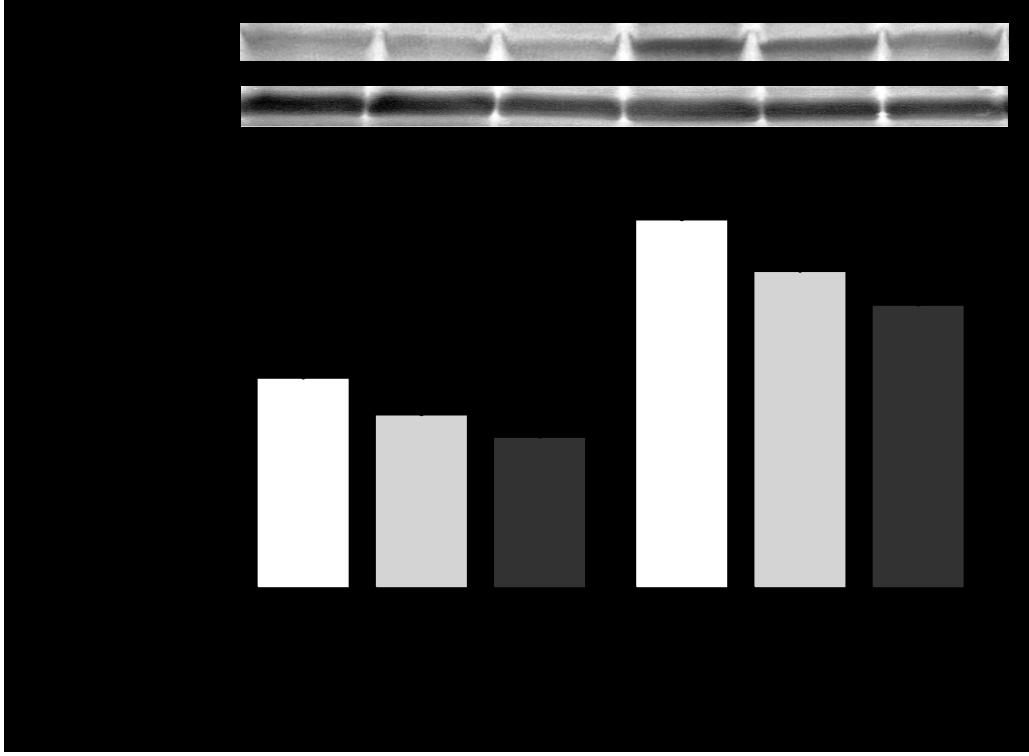
#### **4.2.4. İstatistiksel Analizler**

Tüm veriler SAS (SAS Institute, Cary, NC) paket programında General Linear Model (GLM) prosedürü kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar içi farklılık da Fisher's *post hoc* testi ile yapıldı.

## 5. BULGULAR

### 5.1. NF-κB Düzeyleri

Termonötral ortamda yetiştirilen bildircinlarda diyetle 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum NF-κB düzeyleri sırasıyla %100.0, 82.69 ve 72,1 bulunurken bu değerler sıcaklık stresi (SS) gruplarında %174.6, 150.3 ve 134.3 olarak bulunmuştur (Şekil 6,  $P < 0.001$ ). Termonötral ortamda yetiştirilen bildircinlarda ovaryumlarda NF-κB düzeyi %84.9 iken sıcaklık stresine maruz bırakılanlarda %153.1 olarak tespit edilmiştir ( $P < 0.001$ ). Sıcaklık stresi ile NF-κB düzeyi % 80.3 oranında bir artış göstermiştir. Bildircinlarda rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında NF-κB düzeyleri sırasıyla % 137.3, 116.5 ve 103.2 düzeyinde belirlenmiştir. Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum NF-κB düzeylerinde % 24.8 oranında bir azalma gözlenmiştir. Sıcaklık stresine maruz bırakılan bildircinlarda ovaryum NF-κB düzeyleri çevre sıcaklığı ve rasyona ilave edilen kurkumin katkısı ile istatistik olarak etkilenirken ( $P < 0.001$ ), çevre sıcaklığı-kurkumin katkısı arasındaki etkileşim ile etkilenmemiştir ( $P > 0.05$ ).

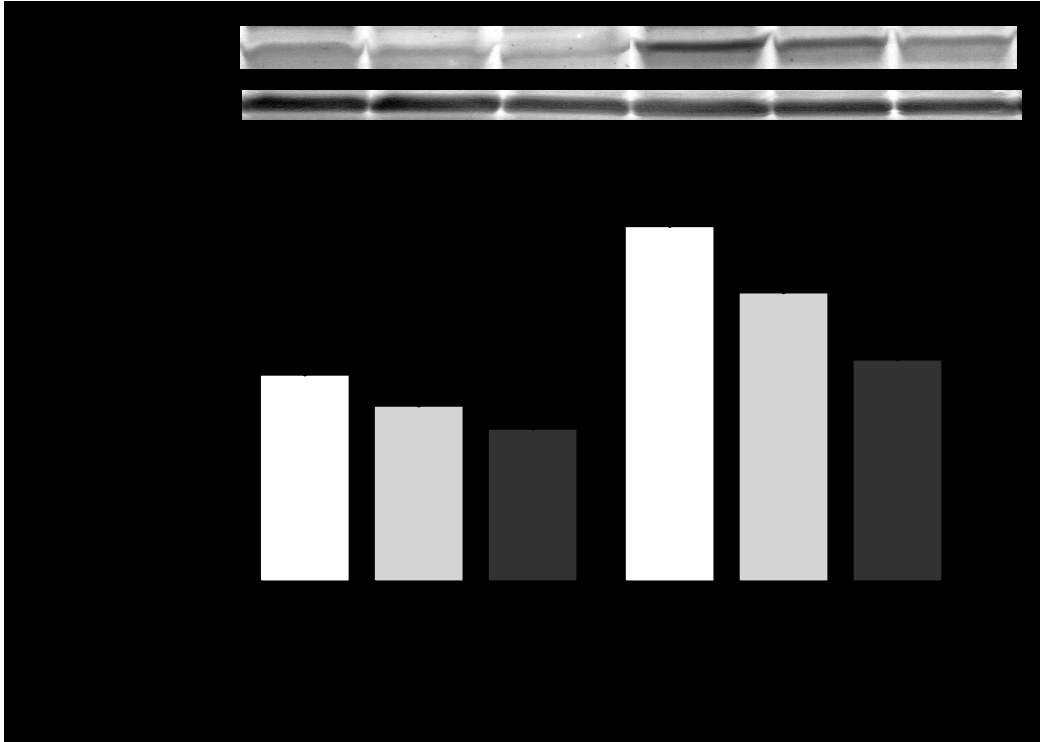


**Şekil 6.** Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum NF-κB düzeyleri üzerine etkisi. Veriler relatif değer olan % kontrol olarak sunulmuştur. Western blot analizleri her grup için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Protein yüklemelerinin eşitliğini göstermek için aktin kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

## 5.2. Isı Şok Proteinleri

Normal koşullarda yetiştirilen bıldırcınlarda 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum Hsp60 düzeyleri sırasıyla % 100.0, 85.14 ve 74.0 bulunurken, bu değerler sıcaklık stresi gruplarında % 171.37, 139.52 ve 107.21 olarak bulunmuştur (Şekil 7). Termonötral ortamda yetiştirilen bıldırcınlarda ovaryumlarda Hsp60 düzeyi % 86.4 iken sıcaklık stresine maruz bırakılanlarda %139.4 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık stresi ile Hsp60 düzeyi % 61.3 oranında bir artış göstermiştir. Bıldırcınlarda rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında Hsp60 düzeyleri sırasıyla % 135.69,

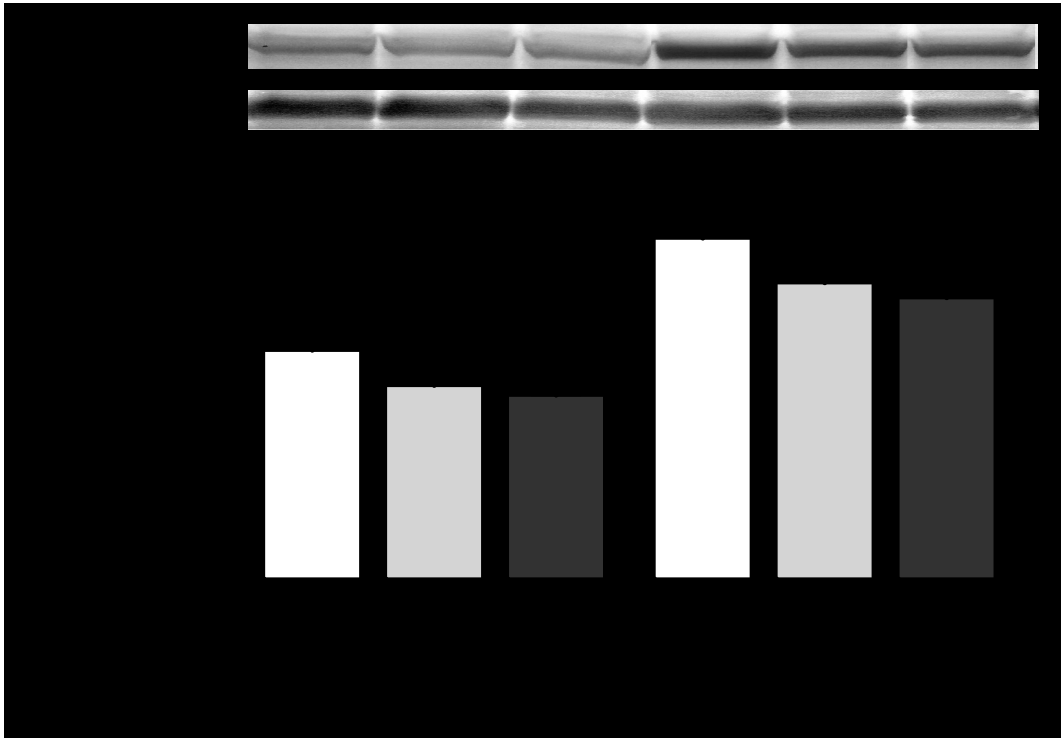
112.33 ve 90.61 düzeyinde belirlenmiştir (  $P < 0.001$ ). Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum Hsp60 düzeylerinde % 33.2 oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 7). Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda ovaryum Hsp60 ekspresyonları çevre sıcaklığı, rasyona ilave edilen kurkumin katkısı ve çevre sıcaklığı-kurkumin katkısı arasındaki interaksiyon ile istatistiki olarak etkilenmiştir ( $P<0.001$ ).



**Şekil 7.** Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp60 düzeyleri üzerine etkisi. Veriler relatif değer olan % kontrol olarak sunulmuştur. Western blot analizleri her grup için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Protein yüklemelerinin eşitliğini göstermek için aktin kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

Normal koşullarda yetiştirilen bıldırcınlarda 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum Hsp70 düzeyleri sırasıyla % 100.0, 84.65 ve 80,34 bulunurken bu değerler sıcaklık stresi gruplarında % 148.97, 129.43 ve 122.93 olarak bulunmuştur (Şekil 8). Termo-nötral ortamda yetiştirilen

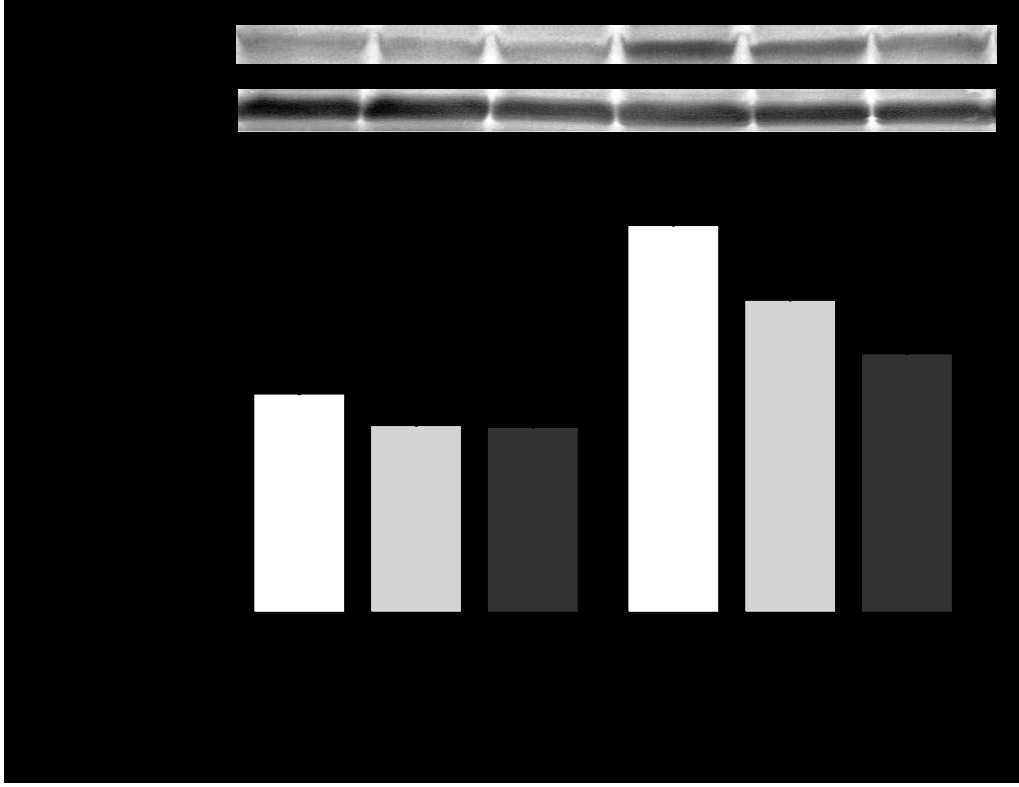
bıldırcınlarda ovaryumlarda Hsp70 ekspresyonu % 88.3 iken sıcaklık stresine maruz bırakılanlarda %133.8 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık stresi ile Hsp70 değeri % 51.5 oranında bir artış göstermiştir. Bıldırcınlarda rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında Hsp70 düzeyleri sırasıyla % 124.49, 107.04 ve 101.64 düzeyinde belirlenmiştir. Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum Hsp70 ekspresyonunda % 18.4 oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 8). Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda ovaryum Hsp70 düzeyleri çevre sıcaklığı ve rasyona ilave edilen kurkumin katkısı ile istatistiki olarak etkilenirken ( $P<0.001$ ), çevre sıcaklığı-kurkumin katkısı arasındaki interaksiyon ile etkilenmemiştir ( $P> 0.05$ ).



**Şekil 8.** Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp70 düzeyleri üzerine etkisi. Veriler relatif değer olan % kontrol olarak sunulmuştur. Western blot analizleri her grup için üç tekerrürlü

olarak yapılmıştır. Protein yüklemelerinin eşitliğini göstermek için aktin kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

Normal koşullarda yetiştirilen bildircinlarda 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum Hsp90 düzeyleri sırasıyla % 100.0, 85.77 ve 84.87 bulunurken bu değerler sıcaklık stresi (SS) gruplarında % 176.35, 142.42 ve 118.17 olarak bulunmuştur (Şekil 9). TN ortamda yetiştirilen bildircinlarda ovaryumlarda Hsp90 ekspresyonu % 90.2 iken sıcaklık stresine maruz bırakılanlarda % 145.6 olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık stresi ile Hsp90 düzeyi %55.4 oranında bir artış göstermiştir. Bildircinlarda rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında Hsp90 düzeyleri sırasıyla % 138.18, 114.10 ve 101.52 düzeyinde belirlenmiştir. Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum Hsp90 ekspresyonunda % 26.5 oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 9). Sıcaklık stresine maruz bırakılan bildircinlarda ovaryum Hsp90 ekspresyonları çevre sıcaklığı, rasyona ilave edilen kurkumin katkısı ve çevre sıcaklığı-kurkumin katkısı arasındaki interaksiyon ile istatistiki olarak anlamlı etkisi bulunmaktadır ( $P < 0.001$ ).



**Şekil 9.** Sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda rasyona ilave edilen kurkuminin ovaryum Hsp90 düzeyleri üzerine etkisi. Veriler relatif değer olan % kontrol olarak sunulmuştur. Western blot analizleri her grup için üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Protein yüklemelerinin eşitliğini göstermek için aktin kullanılmıştır. Veriler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

## 6. TARTIŞMA

Zerdeçal olarak bilinen baharatın içerisinde fazla miktarda değişik maddeler bulunur. Ancak, en aktif olanı "kurkumin"dir (50). Kurkuminin birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (10,40,44). Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile kurkuminin doza bağımlı olarak birçok hayvan türünde kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat ve oral kanserlerde, tümöre karşı kimyasal koruyucu bir rolü olduğu gösterilmiştir (10,46,51). Kurkuminin, C ve E vitaminleri gibi antioksidan özellik gösteren aktivitelere sahip olması (55) ile birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksid anyon, nitrojen dioksit ve hidroksil radikallerinin atılımını kolaylaştırmakta ve lipid peroksidasyonunu baskılamaktadır (56). Ahmedî ve ark. (104)'ları, kanatlı rasyonlarına 0,3 ve 0,6 g/ kg zerdeçal tozu takviye ederek, CAT ve SOD aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.

Sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak için antioksidan etkili pek çok madde rasyona ilave edilmiş ve olumlu sonuçlar alınmıştır (1, 44,101). Bu çalışmada, kanatlı hayvanlarda stresin oluşumu, geliştiği durumlar ve sıcaklık stresinin olumsuz etkilerinin azaltılması ya da ortadan kaldırılmasında beslenme ile alınabilecek önlemlerin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır.

Strese bağılı olarak, reaktif oksijen türleri düzeyinin artışı hücrede NF-κB olarak bilinen bir transkripsiyon faktörünü etkileyerek aktif hale dönüştürmektedir. NF-κB tüm hücre tiplerinde bulunan, stres, sitokinler ve serbest radikaller ile uyarılan bir transkripsiyon faktörüdür. NF-κB inflamasyon genlerinin transkripsiyonu ve immün regülasyonda önemli rol oynar. Bu

çalışmada, normal koşullarda yetiştirilen bıldırcınlarda 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum NF-κB ekspresyon düzeyleri sırasıyla % 100.0, 82.69 ve 72,1 bulunurken bu değerler sıcaklık stresi gruplarında % 174.6, 150.3 ve 134.3 olarak tespit edilmiştir (Şekil 6). Bu çalışmaya benzer olarak, tarafımızdan sıcaklık stresine maruz kalan etçi bıldırcınlarda yapılan bir çalışmada diyetle ilave edilen kurkuminin karaciğer NF-κB düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir (102). Ancak bu çalışmada ilk kez ovaryum NF-κB düzeyleri belirlenmiştir. Yine, Şahin ve ark. (6)'larının yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan bıldırcınlarda yaptıkları bir çalışmada, rasyonlarına antioksidan etkili kurkumin benzeri bir madde olan resveratrol 200-400 mg/kg ilave ederek, hem antioksidan enzimlerin arttığını hem de NF-κB ekspresyonunun azaldığını belirlemişlerdir. Yine başka bir çalışmada da, resveratrol kullanılarak hiper kolestrollü hayvanlarda artan NF-κB düzeyinin düştüğünü gözlemlemişlerdir (105). Sıcaklık stresi altında yetiştirilen bıldırcınlarda, kurkumine benzer antioksidan özelliği olan epigallocatechin-3-gallate, karaciğerde Nrf2 ekspresyonunu artırdığı ve NF-κB ekspresyonunu azalttığı bilinmektedir (67).

Sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini ROS üretimi ve oksidatif stres gibi antioksidan savunma sistemini içeren farklı mekanizmalar vardır (7). Yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, kurkuminin serbest radikaller için bir hücre içi antioksidan savunma sistemini aktive ettiğini göstermiştir (106). Cheng ve ark. (107)'lerinin yaptıkları bir çalışmada, sıcaklık stersine maruz kalan bıldırcın rasyonlarına kurkumin ilave edilmesi ile SOD ekspresyonunun arttığını ve böylece antioksidan enzim aktivitelerinin artışında kurkuminin etkili olduğunu tespit

etmişler. Yapılan bir çalışmada kurkuminin çeşitli transkripsiyon faktörlerini NF- $\kappa$ B ve aktive edilen protein-1 (AP-1) inhibe ettiği açıkça belirtilmiştir (51).

Stres proteinlerinin fizyolojik fonksiyonları, hücre ısı şokuna maruz kaldığında daha önemli hale gelir. Stres proteinleri, ısı şoku altında oligomerik komplekslerin ayrılmasına ve polipeptidlerin açılmasını önler. Tekrar katlanma imkansız hale gelmişse, denature olmuş proteinlerin atılmasını hızlandırır (75). Böylece yüksek çevre sıcaklığı, kanatlılarda canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma, yumurta verimi ve yumurta kalitesini azaltmak suretiyle ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Aynı zamanda hayvanlarda hastalık riskini de arttırmaktadır. Şahin ve ark. (6)'larının yüksek çevre sıcaklığına maruz kalan bıldırcınlarda yaptıkları bir çalışmada, hem antioksidan enzimlerin arttığını hem de karaciğer Hsp70 ve Hsp90 azaldığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada, sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınlarda termo-nötral ortamda yetiştirilen bıldırcınlara göre ovaryumlarında Hsp60 artış göstermiştir. Rasyona 0, 200 ve 400 mg kurkumin katkısı yapılan gruplar için ovaryum Hsp60 ekspresyon düzeyleri, artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum Hsp60 ekspresyonunda %33.2 oranında bir azalma göstermiştir (Şekil 7).

Kurkumin, zerdeçalın önemli bir bileşenidir ve kronik hastalıklar dahil oksidatif strese karşı anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkisi vardır (9). Nitekim yaptığımız çalışmada da antioksidan özelliği olan kurkuminin, kanatlılarda oksidatif strese neden olan sıcaklık stresi üzerine koruyucu etkisinin olumlu yönde olduğu belirlendi. Kurkumin ile ilgili benzer şekilde yapılan bazı çalışmalarda etlik piliç rasyonlarına %0.5 ile 1 seviyelerinde zerdeçal ilave edilmesi canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanmayı artırdığı rapor edilmiştir

(108-110). Yarru ve ark. (111)'ları aflatoksine maruz kalan kanatlıların diyetlerine % 0.5 zerdeçal ilavesi ile canlı ağırlık artışında iyileşme tespit etmişlerdir. Durrani ve ark (112)'larının yaptıkları diğer bir çalışmada da kanatlıların rasyonlarına ilave ettikleri % 0.5 zerdeçalın önemli ölçüde ağırlık artışına neden olduğunu rapor etmişlerdir. Buna karşılık yapılan başka bir araştırmada ise kanatlıların rasyonlarına ilave edilen zerdeçalın herhangi bir etkisinin olmadığını belirtmişlerdir (113). Şahin ve ark. (101)'lerinin yapmış olduğu bir çalışmada, sıcaklık stresine (34°C) maruz bırakılan bıldırcınların rasyonlarına, sıcaklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla, 0, 250, 500 mg/kg dozunda E ve C vitaminleri ilave edilerek yumurta verimi ile ovaryumlarda ve beyinde Hsp70 düzeyleri araştırılmıştır. Sıcaklık stresinde beyin ve ovaryumlarda artan Hsp70 ekspresyon düzeyinin, E ve C vitaminlerinin rasyona katılması ile lineer bir azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte sıcaklık stresi altındaki bıldırcınlarda, vitamin C (500 mg) ve E (500 mg) kombinasyonunun ovaryum ve beyin ısı şok proteinlerinin azalmasında daha etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşılık termonötral koşullardaki bıldırcınlarda herhangi bir değişiklik tespit etmemişlerdir (101). Şahin ve ark. (102)'lerinin yapmış oldukları diğer bir çalışmada ise sıcaklık stresine maruz bırakılan bıldırcınların rasyonlarına 0, 200, 400mg kurkumin ilavesi yapılmış, kas ve karaciğer dokularında NF-κB ve Hsp70 ekspresyon düzeylerinde bakılmış ve lineer bir azalma tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızın bulgularıyla paralellik göstermektedir. Nitekim bu çalışmada, rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında Hsp70 düzeyleri sırasıyla % 124.49, 107.04 ve 101.64 düzeyinde belirlenmiştir. Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovaryum Hsp70 ekspresyonunda % 18.4

oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 8). Sıcaklık stresine maruz bırakılan bildircinlarda ovarium Hsp70 ekspresyonları çevre sıcaklığı ve rasyona ilave edilen kurkumin katkısı ile istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Yine, sıcaklık stresi ile Hsp90 değeri %55.4 oranında bir artış göstermiştir. Bildircinlarda rasyona yapılan kurkumin katkısıyla 0, 200 ve 400 mg gruplarında Hsp90 düzeyleri sırasıyla % 138.18, 114.10 ve 101.52 düzeyinde belirlenmiştir. Artan kurkumin dozuna bağlı olarak ovarium Hsp90 ekspresyonunda % 26.5 oranında bir azalma gözlenmiştir (Şekil 9).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada, sıcaklık stresi ortamında yetiştirilen bildircinlarda, ovarium NF- $\kappa$ B, hsp60, Hsp70 ve Hsp90 ekspresyon düzeylerinin, normal koşullarda yetiştirilen bildircinlara göre arttığı gözlemlendi. Bildircinların rasyonlarına ilave edilen kurkumin ile 0, 200 ve 400 mg gruplarında NF- $\kappa$ B, Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 ekspresyon düzeylerinde lineer bir azalma tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bildircin rasyonlarına ilave edilen kurkuminin, stresin bir sonucu olarak artan Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve NF- $\kappa$ B ekspresyonlarını doza bağlı olarak azalttığı tespit edilmiştir. Diğer bir deyişle, kurkuminin ovariumlarda NF- $\kappa$ B sinyal yolağını inhibe ve ısı şok proteinleri regüle ederek sıcaklık stresini azaltabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Sahin K, Kucuk O. Heat stress and dietary vitamin supplementation of poultry diets. *Nutr. Abstr. Rev. Ser. B Livest. Feeds Feed.* 2003; 73: 41R–50R.
2. Yertürk M, Avcı M, Kaplan O. Sıcak stresi altında yetiştirilen Japon Bildircinlarında gece yemlemenin performans ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg.* 2005; 16: 11-15.
3. Sahin K, Sahin N, Kucuk O, et al. Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: a review. *Poult Sci* 2009; 88: 2176-2183.
4. Sahin K, Smith MO, Onderci M, et al. Supplementation of zinc from organic or inorganic source improves performance and antioxidant status of heat-distressed quail. *Poult. Sci.* 2005; 84: 882–887.
5. Onderci M, Sahin N, Sahin K, Kilic N. The antioxidant properties of chromium and zinc: In vivo effects on digestibility, lipid peroxidation, antioxidant vitamins and some minerals under a low ambient temperature. *Biol. Trace Elem. Res.* 2003; 92: 139-150.
6. Sahin K, Orhan C, Akdemir F, et al. Resveratrol protects quail hepatocytes against heat stress: modulation of the Nrf2 transcription factor and heat shock proteins. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 2012; 96: 66-74.
7. Sahin K, Orhan C, Smith MO, Sahin N. Molecular targets of dietary phytochemicals for alleviation of heat stress in poultry. *Worlds Poult Sci J.* 2013; 69: 113-123.
8. Menon VP, Sudheer AR. Antioxidant and anti-inflammatory properties of curcumin. *Adv Exp Med Biol.* 2007; 595:105-125.
9. Agrawal DK, Saikia D, Tiwari R, et al. Demethoxycurcumin and its semisynthetic analogues as antitubercular Agents. *Planta Med.* 2008; 74: 1828-1831.
10. Aggarwal BB, Shishodia S, Takada Y, et al. Curcumin suppresses the paclitaxel-induced nuclear factor-kappaB pathway in breast cancer cells and inhibits lung metastasis of human breast cancer in nude mice. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 7490-7498.
11. Brouet I, Ohshima H. Curcumin, an anti-tumour promoter and anti-inflammatory agent, inhibits induction of nitric oxide synthase in activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995; 206: 533–540.

12. Xu WB, Lv G, Wang YF, et al. Combination of dexamethasone and aminoguanidine reduces secondary damage in compression spinal cord injury. *Cell Mol Neurobiol.* 2009; 29: 683-689.
13. Negi PS, Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *J Agric Food Chem.* 1999; 47: 4297-4300.
14. Indquist S, Craig EA. The heat shock proteins. *Annu. Rev. Genet.* 1988; 22: 631-637.
15. Wang S, Edens FW. Heat conditioning induces heat shock proteins in broiler chickens and turkey poults. *Poult. Sci.* 1998; 77: 1636-1645.
16. Yahav S, Plavnik I. Effect of early-stage thermal conditioning and food restriction on performance and thermotolerance of male broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 1999; 40: 120-126.
17. Sahin N, Tuzcu M, Ozercan I, et al. Zinc picolinate in the prevention of leiomyoma in Japanese quail. *J Med Food.* 2009; 12: 1368-74.
18. Sahin, K. Kucuk O. Zinc supplementation alleviates heat stress in laying Japanese quail. *J. Nutr.* 2003; 33: 2808-2811.
19. Sahin K, Kucuk O, Sahin N, Sari M. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, some serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2002; 72: 91-100.
20. Freeman BM. Physiological responses to stress with reference to the domestic fowl. *Lab Anim.* 1976; 10: 385-8.
21. Nieuwenhuizen AG, Rutters F. The hypothalamic-pituitary-adrenal-axis in the regulation of energy balance. *Physiol Behav.* 2008; 94: 169-77.
22. Geraert PA, Padilha JCF, Guillaumin S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: Growth performance, body composition and energy retention. *Br. J. Nutr.* 1996; 75: 195-204.
23. Teeter RG, Smith MO, Owens FN, et al. Chronic heat stress and respiratory alkalosis: Occurrence and treatment in broiler chicks. *Poult. Sci.* 1985; 64: 1060-1064.
24. McDowell LR. Comparative aspects to human nutrition. Vitamin C, A and E. Pages 93-131 in *Vitamins in Animal Nutrition*. L. R. McDowell, ed. Academic Press, London, UK. 1989.
25. Siegel HS. Stress, strains and resistance. *Br. Poult. Sci.* 1995; 36: 3-22.

26. El Husseiny O, Creger CR. Effect of ambient temperature on mineral retention and balance of the broiler chicks. *Poult. Sci.* 1981; 60:1651.
27. Etches R, John JM, Gibbins AMV. Behavioural, physiological, neuroendocrine and molecular responses to heat stress. Editör: Dagher NJ, *Poultry Production in Hot Climates*. Second Edition. CAB International. 2008; 48-79.
28. Emery DA, Vohra P, Ernst RA, Morrison SR. The effect of cyclic and constant ambient temperatures on feed consumption, egg production, egg weight, and shell thickness of heat. *Poult. Sci.* 1984; 63: 2027-2035.
29. Wolfenson D, Feri YF, Snapir N, Berman A. Effect of diurnal or nocturnal heat stress on egg formation. *Br. Poult. Sci.* 1979; 20: 167-174.
30. Sandercock DA, Hunter RR, Nute GR, et al. Acute heat stress-induced alterations in blood acid-base status and skeletal muscle membrane integrity in broiler chickens at two ages: Implications for meat quality. *Poult. Sci.* 2001; 80: 418-425.
31. Austic RE. Feeding poultry in hot and cold climates. Pages 123-136 in *Stress Physiology in Livestock*. Vol. 3. M. K. Yousef, ed. CRC Press, Boca Raton FL. 1985.
32. Shane SM. Factors influencing health and performance of poultry in hot climates. *Crit. Rev. Poult. Biol.* 1988; 1: 247-267.
33. Moreng RE, Balnave D, Zhang D. Dietary zinc methionine effect on eggshell quality of hens drinking saline water. *Poult. Sci.* 1992; 71: 1163-1167.
34. Bartlett JR, Smith MO. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Poult. Sci.* 2003; 82: 1580-1588.
35. Nollet L, Huyghebaert G, Spring P. Effect of different levels of dietary organic (bioplex) trace minerals on live performance of broiler chickens by growth phases. *J. Appl. Poult. Res.* 2008; 17: 109-115.
36. Chan EWC, Lim YY, Wong LF, et al. Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, 2008; 109, 477-483.
37. Masuda T, Isobe J, Jitoe A & Nakatani N. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma cantorrhiza*. *Phytochemistry*, 1992; 31, 3645-3647.
38. Milobedzka I, Kostanecki S, Lamps V. Curcumin. *Chem Ber* 1910; 43:2163-2170.

39. Payton F, Sandusky P, Alworth WL. NMR study of the solution structure of curcumin. *J Nat Prod* 2007; 70: 143–146.
40. Pabon HHJ. A synthesis of curcumin and related compounds. *Recl Trav Chim Pays-Bas*. 1964; 83:379–386.
41. Aburjai T, Natsheh FM. Plants used in cosmetics. *Phytother. Res*. 2003; 17: 987-1000.
42. Ammon HPT, Anazoda MI, Safayhi H. et al. Curcumin: A potent inhibitor of Leukotriene B4 formation in rat peritoneal polymorphonuclear neutrophils (PMNL). *Planta Medica*. 1992; 58: 26-28.
43. Miquel J, Bernd A, Sempere JM. et al. The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A review. *Arch Gerontol Geriatr*. 2002; 34: 37-46.
44. Jagetia GC. Curcumin Treatment enhances the repair and regeneration of wounds in mice exposed to hemibody. *Plast. Reconstr. Surg*. 2005; 115: 515-528.
45. Azuine MA, Bhide SV. Chemopreventive effect of turmeric against stomach and skin tumors induced by chemical carcinogens in Swiss mice. *Nutr. Cancer*. 1992; 17: 77-83.
46. Kawamori T, Lubet R, Steele VE, et al. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Research*. 1999; 59: 597-601.
47. Gururaj AE, Belakavadi M, Venkatesh DA et al. Molecular mechanisms of anti-angiogenic effect of curcumin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 297: 934-42.
48. Arbiser JL, Klauber N, Rohan R. et al. Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Molecular Medicine*. 1998; 4: 376–383.
49. Sharma RA, Euden SA, Platton SL, et al. Phase I clinical trial of oral curcumin: biomarkers of systemic activity and compliance. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6847–6854.
50. Sharma RA. Translational medicine: targeting cyclooxygenase isozymes to prevent cancer. *Quart J Med*. 2002; 95: 267–273.
51. Aggarwal B, Kumar A, Bharti A. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*. 2003; 23: 363-398.
52. Jayaprakasha GK, Jagan L. and Sakariah KK, Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci & Technol*. 2005; 16: 533–548.

53. Sharma OP. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochem Pharmacol.* 1975; 25: 1811–1812.
54. Khanna NM. Turmeric – Nature’s precious gift. *Curr. Sci.* 1999; 76: 1351–1356.
55. Thiyagaraja M. Sharm SS. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sci.* 2004; 74: 969–985.
56. Reddy AC, Lokesh BR. Studies on the inhibitory effects of curcumin and eugenol on the formation of reactive oxygen species and the oxidation of ferrous iron. *Mol Cell Biochem.* 1994; 137: 1–8.
57. Phan TT, See P, Lee ST, et al. Protective effects of curcumin against oxidative damage on skin cells in vitro: its implication for wound healing. *Journal Trauma.* 2001; 51: 927–931.
58. Mani H, Sidhu GS, Gaddipati JP, et al. Curcumin differentially regulates TGF-beta-1, its receptors and nitric oxide synthase during impaired wound healing. *Biofactors.* 2002; 16: 29-43.
59. Toda S, Miyase T, Arichi H, et al. Natural antioxidants. III. Antioxidative components isolated from rhizome of *Curcuma longa* L. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1985; 33: 1725–1728.
60. Shinyoung Han. Antimicrobial activity of wool fabric treated with curcumin. *Dyes and Pigments.* 2005; 64: 157-161.
61. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *curcuma longa*. *Planta Med.* 1991; 57: 1-7.
62. Rasmusen HB, Christensen S.B., Kvist LP., et al. A simple and efficient separation of the curcumins. The antiprotozoal constituents of *Curcuma longa*. *Planta Med.* 2000; 66: 396–398.
63. Raju C. Reddy Curcumin for malaria therapy *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 326: 472–474.
64. Babu KVD, Rajasekaran KN. Simplified conditions for the synthesis of curcumin 1 and othercurcuminoids. *Org Prep Proc Int.* 1994; 26: 674–677.
65. Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancerbindingprotein Nf-kappa B by a posttranslational mechanism. *Cell.* 1986; 47: 921-928.
66. Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear Factor-kB: a friend or a foe incancer? *Biochem Pharmacol.* 2004; 68: 1071-1080.

67. Sahin K, Orhan C, Tuzcu M, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. *Poult Sci.* 2010; 89: 2251-2258.
68. Beg AA, Sha WC, Bronston RT, Ghosh S, et al. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF $\kappa$ B. *Nature.* 1995; 376: 167-170.
69. Garg A, Aggarwal BB. Nuclear transcription factor- $\kappa$ B as a target for cancer drug development. *Leukemia.* 2002; 16: 1053-1068.
70. Jones DR, Broad RM, Corneau LD, et al. Inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B chemosensitizes non-small cell lung cancer through cytochrome c release and caspase activation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2002; 123: 310-317.
71. Rundall BK, Denlinger CE, Jones DR. Combined histone deacetylase and NF- $\kappa$ B inhibition sensitizes non-small cell lung cancer to cell death. *Surgery* 2004; 136: 416-425.
72. Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: (IL-1 and TNF) *FASEB J.* 1990; 11: 2860-2867.
73. Dirscherl K, Karlstetter M, Ebert S, et al. Luteolin triggers global changes in the microglial transcriptome leading to a unique anti-inflammatory and neuroprotective phenotype. *J Neuroinflammation.* 2010; 7: 3
74. Divya CS, Pillai MR. Antitumor action of curcumin in human papillomavirus associated cells involves downregulation of viral oncogenes, prevention of NF $\kappa$ B and AP-1 translocation, and modulation of apoptosis. *Mol Carcinog.* 2006; 45: 320-32.
75. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF- $\kappa$ B in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2: 301-310.
76. Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NF- $\kappa$ B signaling: balancing life and death a new approach to cancer therapy. *J Clin Invest.* 2005; 115: 2625-2632.
77. Thangapazham RL, Sharma A, Maheshwari RK. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. 2006; 8: 443-449.
78. Singh S, Aggarwal BB. Activation of transcription factor NF- $\kappa$ B is suppressed by curcumin (diferuloylmethane) [corrected]. *J Biol Chem.* 1995; 270: 24995-5000.
79. Nollen EA, Brunsting JF, Roelofs H, et al. In vivo chaperone activity of heat shock protein 70 and thermotolerance. *Mol Cell Biol.* 1999; 19 : 2069-2079.

80. Wang W, Basia Sho seyov VO, Altman A. Role of plant heatshockproteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends Plant Sci.* 2004; 9: 244-252.
81. Moseley PL. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. *J. Appl. Physiol.* 1997; 83: 1413-1417.
82. Tıbbi Fizyoloji, William F. Ganong, Nobel Tıp Kitabevleri, 20. Baskı 2011, Sayfa 37
83. Kontaş Aşkar T, Ergün N, Turunç V. Isı şok proteinler ve fizyolojik rolleri Yayın Kodu: 2006; 38-D.
84. Landry J. "Protein interactions and moleküler chaperones". <http://www.tulane.edu/biochem/med/hsp/> 09.01.1998.
85. Zhang Y, Skolnick J. The protein structure prediction problem could be solved using the current PDB library. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102: 1029-34.
86. Henle KJ, Jethmalani SM, Nagle WA. Stress proteins and glycoproteins. *Int J Mol Med.* 1998; 1: 25-32.
87. Anonim: Heat shock proteins- structure and overview. <http://www.cs.stedwards.edu/chemistry/Chem43/HSP/Structure/03.03.2006>.
88. Moseley P. "Stress proteins and the immune response" [www.elsevier.com/locate/immpharm/](http://www.elsevier.com/locate/immpharm/) 09.02.2006
89. Clark JI, Muchowski PJ. Small heat shock proteins and their potential role in human disease. *Curr Opin Biol.* 2000; 10: 52-59.
90. Pockley AG. "Heat shock proteins in health and disease: Therapeutic agents?" <http://www-erm.m.cbcu.cam.ac.uk/> 21.09.2001.
91. Pantzartzi CN, Kourtidis A, Drosopoulou E, et al. Isolation and characterization of two cytoplasmic hsp90s from *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia) that contain a complex promoter with a p53 binding site. *Gene.* 2009; 43: 47-54.
92. Morimoto RI, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nat Biotechnol.* 1998; 16: 833-838.
93. Hoekstra KA, Iwama GK, Nichols CR, Godin DV, Cheng KM. Increased heat shock protein expression after stress in Japanese quail. *Stress.* 1998; 2: 265-72.
94. Laad AD, Thomas ML, Fakih AR, Chiplunkar SV. Human gamma delta T cells recognize heat shock protein-60 on oral tumor cells. *Int J Cancer.* 1999; 80: 709-714.

95. Baykal Y, Gök F, Kocabalkan F. Isı şok proteinleri ve hastalıklardaki rolü. *T Klin J Med Sci*. 2000; 20: 123-31.
96. Kato K, Katoh-Semba R, Takeuchi IK, et al. Responses of heat shock proteins hsp27, alphaB-crystallin, and hsp70 in rat brain after kainic acid-induced seizure activity. *J Neurochem*. 1999; 73: 229-36.
97. Birnbaum G, Kotilinek L. Heat shock or stress proteins and their role as autoantigens in multiple sclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1997; 835: 157-167.
98. Chiba S, Yokota SI, Yonekuva K, et al. Autoantibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebrospinal fluid from patients with multiple sclerosis, *J Neurol Sci*. 2009; 241: 39-43
99. Ranshoff RM, Rudnick RA. Heat shock proteins and autoimmunity: Implications for multiple sclerosis, *Annals Neurol* vol. 1993;34: 5-7.
100. Concannon CG, Gorman AM, Samali A. On the role of Hsp27 in regulating apoptosis. *Apoptosis*. 2003; 8: 61-70.
101. Sahin N, Tuzcu M, Orhan C, et al. The effects of vitamin C and E supplementation on heat shock protein 70 response of ovary and brain in heat-stressed quail. *Br Poult Sci*. 2009; 50: 259-65.
102. Sahin K, Orhan C, Tuzcu Z, et al. Curcumin ameliorates heat stress via inhibition of oxidative stress and modulation of Nrf2/HO-1 pathway in quail. *Food Chem Toxicol*. 2012; 50: 4035-4041.
103. Tuzcu M, Sahin N, Ozercan I, et al. The effects of selenium supplementation on the spontaneously occurring fibroid tumors of oviduct, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels, and heat shock protein 70 response in Japanese quail. *Nutr Cancer*. 2010; 62: 495-500.
104. Ahmadi, F. Effect of turmeric (*Curcumin longa*) powder on performance, oxidative stress state and some of blood parameters in broilers fed on diets containing aflatoxin. *Global Veterinaria*. 2010; 5: 312-317.
105. Robich MP, Osipov RM, Nezafat R. et al. Resveratrol improves myocardial perfusion in a swine model of hypercholesterolemia and chronic myocardial ischemia. *Circulation*. 2010; 122: S142-9.
106. Ho E, Beaver LM, Williams DE, Dashwood RH. Dietary factors and epigenetic regulation for prostate cancer prevention *Adv Nutr*. 2011; 2: 497-510.

107. Cheng H, Liu W, Ai X. Protective effect of curcumin on myocardial ischemia reperfusion injury in rats. *Zhong Yao Cai*. 2005; 28: 920–922.
108. AL-Sultan SI. The Effect of curcuma longa (turmeric) on overall performance of broiler chickens. *Int J Poult Sci*. 2003; 2: 351-353.
109. AL-Kassis GAM, Mohseen AM, Abd-Al-Jaleel RA. Modification of productive performance and physiological aspects of broilers on the addition of a mixture of cumin and turmeric to the diet. *Research Opinions Anim Vet Sci*. 2011; 1: 31-34.
110. Gowda NK, Ledoux DR, Rottinghaus GE, et al. Antioxidant efficacy of curcuminoids from turmeric (*Curcuma longa L.*) powder in broiler chickens fed diets containing aflatoxin B1. *Br J Nutr*. 2009; 102: 1629-1634.
111. Yarru LP, Settivari RS, Gowda NK, et al. Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. *Poult Sci*. 2009; 88: 2620-2627.
112. Durrani F, Ismail M, Sultan A, et al. Effect of different levels of feed added Turmeric (*Curcuma longa*) on the performance of broiler chicks. *J Agri Biol Sci*. 2006; 1: 9-11.
113. EL-Hakim ASA, Cherian G, Ali MN. Use of organic acid, herbs and their combination to improve the utilization of commercial low protein broiler diet. *Int J Poult Sci*. 2009; 8: 14-20.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Malatya'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Erdemli'de tamamladım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden mezun oldum. 1997 yılında Milli Eğitim Bakanlığına öğretmen olarak atandım. 2001 yılında Elazığ Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğüne Veteriner Hekim olarak atandım. Halen aynı Enstitüde Numune Kabul Birim Sorumlusu olarak görev yapmaktayım. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım. Evli ve iki çocuk annesiyim.