

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

138259

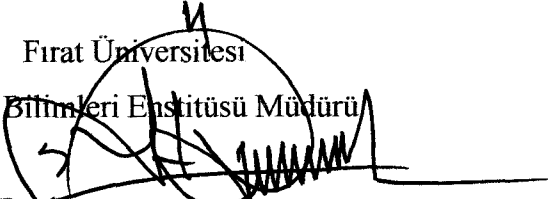
**BESİ SİĞIRLARINDA ANTIOKSİDANT
VİTAMİNLERİN İMMÜNİTE ÜZERİNE
ETKİLERİ**

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

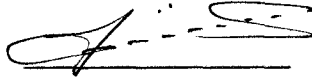
DOKTORA TEZİ

Ömer KIZIL
ELAZIĞ - 2003

ONAY SAYFASI

Fırat Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Halis OCAI

Bu tez Yüksek Lisans / Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Yusuf GÜL
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans / Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf GÜL



Danışman

Yüksek Lisans / Doktora Tezi Sınavı Jüri Üyeleri

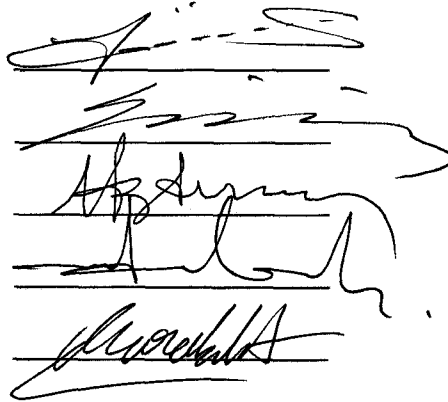
Prof. Dr. Yusuf GÜL

Prof. Dr. Gürbüz AKSOY

Doç. Dr. Haydar ÖZDEMİR

Yrd. Doç. Dr. Murat DABAK

Yrd.Doç. Dr. Enis KARABULUT



TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı değerli katkılarıyla yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen hocam, sayın Prof. Dr. Yusuf GÜL'e, çalışmam sırasında büyük desteklerini gördüğüm hocalarım, sayın Doç. Dr. Haydar ÖZDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Murat DABAK'a, Araştırma Görevlisi mesai arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Mustafa İSSİ ve Tolga KARAPINAR'a, yine çalışmam sırasında her türlü desteklerini esirgemeyen F.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya A.B.D. Öğretim Üyesi sayın Doç. Dr. Bilal ÜSTÜNDAĞ'a, F.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya A.B.D. Öğretim Üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Seval YILMAZ ve Arş. Gör. Özgür KAYNAR'a değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	6
3.1. Oksidatif Stres	7
3.2. Reaktif Oksijen Türleri (Serbest Radikaller).....	8
3.2.1. Süperoksit (O_2^-) Radikali	10
3.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Radikali.....	10
3.2.3. Hidroksil Radikali (OH).....	11
3.2.4. Nitrik Oksit (NO) Radikali	11
3.3. Viral Patogenez ve Değişimde Serbest Radikallerin Rolü.....	12
3.4. Lipit Peroksidasyonu (LPO).....	13
3.5. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları.....	13
3.5.1. Hücresel Antioksidan Enzimler	14
3.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	14
3.5.1.2. Süperoksit Redüktaz (SOR)	15
3.5.1.3. Katalaz.....	15
3.5.1.4. Glutathion Peroxidaz (GSH-Px)	15
3.5.2. Enzimsel Olmayan Antioksidanlar (Antioksidan Vitaminler).....	16
3.5.2.1. E Vitamini	16
3.5.2.2. C vitamini	22
3.5.2.3. A vitamini ve β -karoten	28
3.6. Plazma Proteinleri	36
3.6.1. Albümin	37
3.6.2. Globulinler	37
3.6.2.1. Alfa globulinler	38
3.6.2.2. Beta-globulinler.....	38
3.6.2.3. Gama-globulinler	39
3.6.3. Fibrinojen.....	41
3.7. Şap Hastalığı	42
3.7.1. Etiyoloji	42
3.7.2. Epidemiyoloji	43
3.7.3. Patogenezis	44

3.7.4.Klinik Bulgular	45
3.7.5.Teşhis	46
3.7.6.Tedavi	46
3.7.7.Kontrol	47
4.GEREÇ VE YÖNTEM	49
4.1. Gereç	49
4.2. Klinik Muayeneler	50
4.3. Laboratuvar Muayeneleri	50
4.3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Serumun Çıkarılması	50
4.3.2. Hematolojik Muayeneler	51
4.3.2.1. Total Lökosit Sayımı	51
4.3.2.2. Formül Lökosit	51
4.3.2.3. Mikrohematokrit Değer	51
4.3.2.4. Hemoglobin Miktarı Tayini	52
4.3.3. Serumda Vitamin Düzeylerinin Tayini	52
4.3.3.1. A vitamini ve β -karoten Tayini	52
4.3.3.2. Serumda C vitamini Tayini	54
4.3.3.3. Serumda E vitamini Tayini	55
4.3.4. Antioksidan Enzim Düzeylerinin Saptanması	57
4.3.4.1. Katalaz Aktivitesi Tayini	57
4.3.4.2. Super Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Tayini.....	58
4.3.4.3. Glutatiyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Tayini.....	58
4.3.4.4. Lipit Peroksidasyon (Plazma Malondialdehit) Düzeyinin Tayini	60
4.3.5. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroferez (Sds-Page) ...	61
4.3.6. Serum Total Protein Düzeyinin Ölçülmesi	65
4.3.7. Şap Aşısına Karşı Oluşan Antikor Titrelerinin Ölçülmesi	66
4.3.8. İstatistik Analizler	66
5. BULGULAR	67
5.1. Klinik Bulgular.....	67
5.2. Laboratuvar Bulguları	69
6. TARTIŞMA	110
7. KAYNAKLAR	123
8. ÖZGEÇMİŞ	129

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Tüm gruptaki hayvanların günlere göre klinik muayene bulguları.....	87
Tablo 2. Tüm gruptaki hayvanlara ait klinik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları ($x \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi	88
Tablo 3. Tüm gruptaki hayvanlara ait klinik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.....	89
Tablo 4. Tüm gruptaki hayvanların günlere göre hematolojik muayene bulguları.....	90-92
Tablo 5. Tüm gruptaki hayvanlara ait hematolojik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları ($x + Sx$) ile gruplar ve günler arası farkların istatistiksel önemi.....	93
Tablo 6. Tüm gruptaki hayvanlara ait hematolojik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması	94
Tablo 7. Tüm gruptaki hayvanların günlere göre vitamin A, β -karoten, vitamin E ve vitamin C değerleri	95
Tablo 8. Tüm gruptaki hayvanlara ait vitamin A, β - karoten, vitamin C ve vitamin E değerlerinin aritmetik ortalamaları ($x \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi.....	96
Tablo 9. Tüm gruptaki hayvanlara ait vitamin düzeylerinin grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.....	97
Tablo 10. Tüm gruptaki hayvanların günlere göre antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipit peroksidasyon (MDA) düzeyleri.....	98
Tablo 11. Tüm gruptaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipit peroksidasyon (MDA) düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri.	99
Tablo 12. Tüm gruptaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipit peroksidasyon (MDA) sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması	100
Tablo 13. Tüm gruptaki hayvanların Serum Total Protein ve Protein fraksiyonlarının % ve gr/dl miktarları ile A/G oranları.....	101-104

Tablo 14. Tüm gruplardaki hayvanların deneme günlerindeki serum total protein ve protein fraksiyonlarının aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farkın istatistiksel önemi.....	105
Tablo 15. Tüm gruplardaki hayvanlara ait total serum protein ve protein fraksiyonları ile albumin-globulin oranlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.....	106
Tablo 16. Tüm gruplardaki hayvanların aşılama öncesi (0) ve sonrası (3. 14. 21) günlerdeki antikor titrasyon değerleri.....	107
Tablo 17. Tüm gruplardaki hayvanların tüm günler için şekillenen antikor titrasyonu değerlerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri.....	108
Tablo 18. Tüm gruplardaki hayvanlara ait antikor titrasyonu değerlerinin grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.....	109



ŒEKİL LİSTESİ

Œekil 1. Oksidatif stresin ekzojen kaynakları ve vücutta neden

oldukları bozukluklar..... 9



1. ÖZET

Bu çalışmada; Şap aşısı uygulanan besi tosunlarında aşılama öncesi ve sonrasında AD₃E ve C vitamini uygulanmasının bazı kan parametreleri ve immun yanıtın kuvveti üzerine etkilerini belirlemek amaçlanmıştır.

Araştırmada 48 baş, sağlıklı ve yaklaşık bir yaşındaki besi tosunları kullanılmıştır. Bu hayvanlar başlıca dört gruba ayrılarak;

A grubuna sadece şap aşısı yapılmış,

B grubuna şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde vitamin C uygulanmış,

C grubuna şap aşısı + aşılama sırasında vitamin AD₃E uygulanmış,

D grubuna ise şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde vitamin C + aşılama sırasında vitamin AD₃E uygulanmıştır.

Araştırmada kullanılan tüm hayvanların sistemik klinik muayeneleri yapıldıktan sonra laboratuvar muayeneleri için aşılama öncesi (0. gün) ve sonrası 3., 14. ve 21. günlerde V. jugularislerinden dört kez kan örnekleri alınmıştır.

Laboratuvar muayenelerinden total lökosit sayımı Thoma lam ve lameli kullanılarak, mikrohematokrit değer kılcak tüp yöntemi ile, Hemoglobin miktarı Sahli metoduna göre, formül lökosit değerleri froti çekilip frotilerin Giemsa boyasıyla boyanmasıyla yapılmıştır. Kan serumu vitamin A ve β- karoten değerleri Suziki ve Katoh'un bildirdikleri UV-Spektrofotometrik metotla, vitamin E değerleri Martinek'in yöntemiyle Shimadzu UV-1208, UV-VIS spektrofotometrede, vitamin C değerleri fosfotungustik asit metodu kullanılarak yapılmıştır. Serum total proteini Biocon marka ticari kitle, protein fraksiyonları Laemmli metodu kullanılarak ve Hoefler SE 250 sistemine uyarlanarak, Eritrosit

katalaz aktivitesi Aebi metodu, süperoksit dismutaz aktivitesi RANSOD adlı ticari kitle, glutatyon peroksidaz aktivitesi Beutler metoduyla, plazma MDA aktivitesi Satoh ve Yogi tarafından modifiye edilen yöntemle, Şap aşılmasına karşı oluşan antikor titre değerleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir.

İstatistiksel analizlerde SPSS Ms Windows Release 10.0 programı kullanılarak, gruplar arası değerlendirmeler Varyans analizi ve Duncan testi kullanılarak, grup içi değerlendirmeler ise bağımlı t-testi kullanılarak yapılmıştır.

Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik ve hematolojik muayene bulguları, vitamin düzeyleri, antioksidan enzimler, lipit peroksidasyon, total protein ve serum elektroforez düzeyleri ve şap aşısına karşı oluşan antikor titresi düzeyleri belirlenmiştir.

Antikor titreleri ve gama globulin düzeyleri, C ve D gruplarında A ve B gruplarına nazaran önemli derecede ($p<0.001$) yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak; Ülkemiz hayvancılığını her dönem olumsuz etkileyen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan şap hastalığıyla mücadelede aşılama en önemli ve yaygın korunma metodu olduğundan, aşılama stresinin neden olduğu bir takım olumsuz etkileri azaltmak ve sonuç olarak daha güçlü ve yeter düzeyde bir bağışıklık şekillenmesini sağlamak amacıyla aşılama işlemi sırasında A, E ve C vitaminleri gibi antistres özelliği olan vitaminlerin uygulanmasının yararlı olacağı, antikor sürelerinin ne kadar süre yüksek kaldığını belirlemek için 21. günden sonraki takip eden aylarda (en azından 1., 2., 3., 4., 5., ve 6. aylarda) antikor titrelerinin tespit edilmesinin gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Besi sığırı, AD₃E ve C vitamini, Bağışıklık, Antioksidan Enzim.

2. ABSTRACT

The aim of this study to determine the effects of vitamin AD₃E and C on immun response and some blood parameters of beef cattle pre and post vaccinated with foot and mouth disease vaccine.

In this study 48 healthy beef cattle approximately aged one year were used. These animals were divided into four groups each includes 12 animals;

Group A: only inactivated foot and mouth disease vaccine was applied.

Group B: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin C were injected on day 0 and 3 of the experiment.

Group C: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin AD₃E were injected on day 0 of the experiment.

Group D: inactivated foot and mouth disease vaccine and vitamin AD₃E and vitamin C were injected on day 0 of the experiment, in addition vitamin C was also injected day 3.

All cattle were clinically examined and blood samples were obtained from a jugular vein of animals on day 0, 3, 14 and 21 of the experiment for the laboratory analysis.

In laboratory analysis; white blood cell counts were detected using Thoma microslides, packed cell volumes were measured by microhematocrit method, hemoglobine values were measured by Sahli method and formul leucocytes were determined by the examination of blood smears stained with Giemsa. Serum vitamin A and β-caroten, vitamin C and vitamin E values were measured by Suzuki and Catoh's method, phosphotungstic acid method and Martinek's method, respectively, by using in Shimadzu UV-1208 UV-VIS

spectrophotometer. Serum total protein levels were measured by a commercial test kit (Biocon), and serum total protein fractions measured by Laemmli methods. Catalase activity, super oksit dismutase activity, glutathione peroxidase activity and malondialdehit were measured by Aebi method, a commercial test kit (Ransod), Beutler method and a modified method of Satoh and Yogi, respectively. Antibody titers which develop after the application of foot and mouth disease vaccine were measured by ELISA.

Statistical analysis were performed using on SPSS Ms Windows Release 10.0 program. Variant analysis and Duncan test were used for comparing of data between groups and paired t-test were used for comparing of data between group insides.

The result of clinic and haematologic examination, the levels of vitamins, antioxidant enzyme and lipid peroxidation, total protein, serum electrophoresis and antibody titers developed after application of the vaccine were determined.

The means of gamma globulin and antibody titers in group C and D were significantly ($p < 0.001$) increased compared with those of the other groups.

In conclusion, because vaccination program against foot and mouth disease, negatively affecting livestock of Turkey and caused big economic losses, is common and the most important prevention method, application of vitamin A, E and C together with the injection of the foot and mouth disease vaccine would be useful to reduce of negative effects caused by vaccination stress and to provide developing of more strength immunity. However, it also be usefull that investigations to determine the antikor titers in following six months after on day

21 of vaccine application because evaluation of long term effects of this procedure.

Key words: Beef cattle, Vitamin AD₃E and C, Immunity, Antioxidant Enzyme.



3. GİRİŞ

Hayvanların rasyonları hazırlanırken bileşimindeki gıdaların bağışıklık üzerine olan etkilerine de dikkat edilmelidir. Çünkü immün sistemin aktivasyonu ve patojenlere karşı etkili bir savunma mekanizmasının oluşması için belirli gıdasal unsurlara ihtiyaç vardır. Bu gıdasal unsurlar immün sistemi uyarmalarının yanısıra dokuları fagositik hücreler tarafından patojenlerle mücadele için üretilen serbest radikallerin zararlı etkilerinden de korurlar (66). Besin maddeleri içerisinde bulunan karotenoidler, A, C ve E vitaminleri, çinko, mangan, bakır ve selenyum gibi iz elementler serbest radikallerin nötralizasyonunu ve temizlenmesini sağlayarak vücut direncini ve bağışıklığı artırır (86). Süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot), peroksit radikali (ROO^\cdot) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller, birçok enzim tarafından plazma, mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdek gibi membran içi yapılarda, peroksizomlar gibi hücrenin su içeren bölgelerinde ve fagositler gibi özelleşmiş hücrelerde oluşturulur (91). Serbest radikallerin; membran bütünlüğü, proteinlerin fonksiyonları, DNA yapısı ve enerji üretimi üzerine zararlı etkileri vardır (54).

Hücre içinde üretilen serbest radikaller, antioksidanlar veya onları yıkımlayabilen enzimler tarafından kontrol edilirler. A vitamini, E vitamini ve karotenoidler gibi yağda eriyen antioksidanlar lokalize oldukları membranlarda serbest radikallerin üretimini baskılayarak veya onları yok ederek membranları zararlı etkilerden koruyabilir. C vitamini ve metal ihtiva eden enzimler serbest radikalleri toksik olmayan bileşiklere dönüştürür. C vitamini aynı zamanda okside olan ve azalan E vitamini'nin tekrar eski haline dönmesine yardımcı olur (64).

3.1. Oksidatif Stres

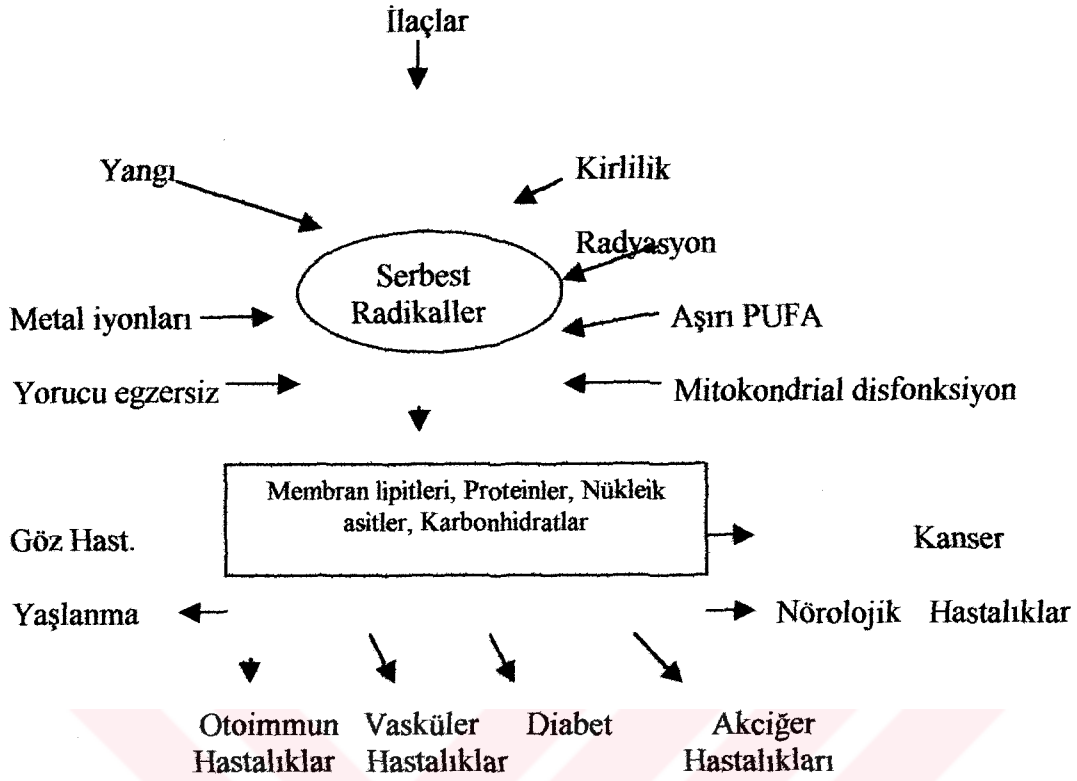
Normal aerobik durumu karakterize eden prooksidant-antioksidant dengesinin, radikallerin oluşumuna neden olan prooksidantlara yönelmesine oksidatif stres denir (85). Hücreler fizyolojik şartlarda devamlı olarak hem endojen hem de ekzojen birçok stres faktörüyle karşı karşıya kalmaktadır. Aerobik organizmalarda, reaktif oksijen türleri (ROS) olarak sınıflandırılan ve normal metabolik süreçte üretilen oksijen derivatlarının indirgenmesi en önemli stres faktörüdür. Oksidasyon düzeyleri, hücre tampon kapasitesi ve enzimatik yıkımlama yeteneğini aştığında güçlü sitotoksik oksidatif stresle sonuçlanır (32).

Bu reaktif türler; hidroksil, süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve oksijen radikallerinin yanı sıra hipoklorit, nitrik oksit ve peroksinitritleri kapsar (30). Doğal antioksidan maddelerin eksikliği veya reaktif oksijen metabolitleri (ROM) üreten uyarıcılara maruz kalma durumunda ROM etkili ve güvenli bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılmadığında, oksidatif stres hayvan sağlığını direkt ve indirekt olarak etkiler. Direkt etkiler önemli lipit ve makromoleküllerde peroksidatif hasarı, indirekt etkiler hücre membranı ve komponentlerinde reaktif türler tarafından yapılan değişiklikleri kapsar (62).

Reaktif oksijen türleri (özellikle de OH radikali) DNA'nın kimyasal yapısında çok sayıda değişime (Örneğin; DNA molekülünün ve DNA-protein çapraz bağlarının ayrılması, purinlerin oksidasyonu) neden olmaktadır. DNA onarım sistemleri DNA'yı acilen rejenere edemezlerse replikasyon süresince hatalı eşleşmeden kaynaklanan bir değişim olacaktır (54).

3.2. Reaktif Oksijen Türleri (Serbest Radikaller)

Reaktif oksijen türleri dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron içeren, serbest bulunabilen, reaktif ve kısa ömürlü kimyasal türlerdir (16,62,91,100). Bu türler organizmada normal metabolizmanın yan ürünü olarak, başlıca mitokondriyal - mikrozomal elektron taşıma zincirlerinden, fagositik hücrelerden, nikotinamid adenin dinükleotit fosfat oksidaz, ksantin oksidaz, monoamin oksidaz ve peroksizomal sitokrom P-450 oksidaz gibi enzim sistemlerinden elektron geçişi yoluyla endojen olarak şekillenir. Ayrıca kirlilik (mineral tozları, ozon, karbon monoksit, nitrit oksit, nitrojen dioksit, silika, hipoklorit, sülfür dioksit, oksitlenme, paraguayat, diguay, v.s.), ilaçlar (asetaminophen, klonazine, closapine, ciprofloksacin, bleomycin, doxorubicin, aminotriazole), radyasyon (UV ışınları, x ışınları, γ -radyasyon) gibi ekzojen kaynaklı olarak oluşabilmektedir. ROS normal metabolizmanın kaçınılmaz ürünleri olup her zaman zararlı değildir. Bu türlerin vücutta neden oldukları bozukluklar ise genellikle vasküler hastalıklar (aterosklerozis, myokardial infarksiyon, kriz, işemi-reperfüzyon hasarı, fokal beyin işemisi, subaraknoid kanama), nörodejeneratif hastalıklar (parkinson, huntington, amyotrofik lateral siklerozis, progresif supranükleer felç, alzheimer, multipl sklerozis, refleks uyumlu distrofi, bunama, nöronal lipofuscinosis), akciğer hastalıkları (bronşiyal astım, respiratorik distres sendromu, kistik fibrozis, pnömoni, idiyopatik pulmonel fibrozis, kronik obstruktive akciğer hastalıkları), otoimmün hastalıklar (romatoid artrit, immün kompleks alakalı vaskülit, yangısal bağırsak hastalığı) ve göz hastalıkları (katarakt, makular (leke) dejenerasyon, retinopati, kistik makular ödem) başlıkları altında toplanıp, Şekil 1 de topluca gösterilmiştir (96).



Şekil 1. Oksidatif stresin ekzojen kaynakları ve vücutta neden oldukları bozukluklar.

Reaktif oksijen türleri kimyasal olarak reaktif olan çok sayıda molekülü kapsar. Bu moleküllerden OH[•] radikali aşırı reaktif olmasına rağmen, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi moleküller daha az reaktiftir. Reaktif oksijen türleri çoğu biyomolekülle kolayca reaksiyona girerek zincir reaksiyonlarını başlatır. Serbest radikalle reaksiyona giren moleküller bir elektronunu kaybettiğinden etrafındaki moleküllerden bir elektron alacak derecede reaktif hale gelir ve böylece radikaller zincir reaksiyonu şeklinde çoğalırlar. Zincir reaksiyonlarını durdurmak için, eşleşmemiş elektronu elimine etmede yeni şekillenen radikal, ya diğer bir serbest radikalle ya da serbest radikal temizleyen zincir kırıcı bir antioksidanla reaksiyona girmelidir (68).

Belirli düzeylere kadar artan reaktif türler vücutta bulunan doğal endojen antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilir. Bu nedenle sağlıklı bir organizmadaki reaktif oksidan türleri ile antioksidanların etkileri arasında bir denge mevcuttur (51,68).

Başlıca reaktif oksijen türleri ve metabolizmaları şunlardır:

3.2.1. Süperoksit (O_2^-) Radikali

Oksijen molekülüne bir elektron ilave edilmesiyle oluşan süperoksit anyonu bir radikal olmasına rağmen aşırı reaktif değildir. Lipit membranlara girme yeteneğine sahip olmadığı için meydana geldiği bölümlerde tutulur. İki molekül süperoksit hızlı bir şekilde hidrojen peroksit ve oksijen molekülüne ayrılır ve bu reaksiyon süper oksit dismutaz (SOD) tarafından hızlandırılır.



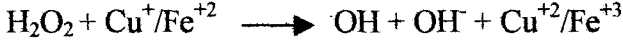
Süperoksit radikali aynı zamanda hidrojen peroksit ve hidrojen iyonlarıyla daha güçlü hidroksil radikali oluşturmak için reaksiyona girebilir (59).



3.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Radikali

Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl kaynağı süper oksit radikalının dismutasyonudur. Eşleşmemiş elektron ihtiva etmediğinden bir radikal değildir, fakat yine de biyolojik membranlara nüfuz yeteneği nedeniyle önemlidir. Nötrofillerin fagozomlarında mevcut olan myeloperoksidaz'ın etkisiyle HOCL gibi daha reaktif olan serbest radikallerin ve daha önemlisi geçiş metallere

oksidasyonu aracılığı ile $\cdot\text{OH}$ radikalının üretilmesinde bir aracı olarak önemli rol oynar.



Oluşan hidrojen peroksit üç enzim sistemi (katalazlar, glutation peroksidaz ve peroksiredoksin) aracılığı ile ortadan kaldırılır (56).

3.2.3. Hidroksil Radikali (OH)

Biyomoleküllerle olan güçlü reaktivitesi nedeniyle diğer serbet radikal türlerine nazaran biyolojik sistemlere daha fazla zarar verme yeteneğindedir. Bu radikal metal iyonlarının katalizörlüğünde ($\text{Cu}^+/\text{Fe}^{+2}$) hidrojen peroksitten üretilir (36).



3.2.4. Nitrik Oksit (NO) Radikali

Serbest radikallerin değişik bir üyesi olup, eşleşmemiş elektrona sahip olmasına rağmen çoğu biyomolekülle kolayca reaksiyona girmemesi açısından süperoksit radikaline benzer. Diğer yandan peroksil ve alkil radikalleri gibi diğer radikallerle kolayca reaksiyona girerek daha az reaktif radikaller oluşturur. Bu nedenle de gerçekte bir serbest radikal temizleyicisi olarak fonksiyon gösterir. Şayet nitrik oksitle beraber süperoksitler fazla miktarda üretilirse bu iki radikal birbirleri ile reaksiyona girerek yüksek düzeyde sitotoksik olan peroksinitrit'leri (OONO^\cdot) oluştururlar (72).

3.3. Viral Patogenez ve Değişimde Serbest Radikallerin Rolü

Süperoksit anyonu ve nitrik oksit, konakçının enfeksiyonu sırasında oluşan biyolojik radikallerdir (2). Süperoksit anyonundan infiltre fagositik hücreler ve yangılı dokularda ksantin oksidaz aracılığı ile hidrojen peroksit ve hipoklorit anyonu gibi reaktif oksijen türleri üretilir (3).

Süperoksit anyonu ve onunla ilişkili türler konakçı yanıtının iki komponenti tarafından oluşturulur. Bunlar, nötrofil ve makrofajlar gibi fagosit NADPH oksidazı ihtiva eden yangısal fagositik hücrelerle ilişkili hücrel reaksiyonlar ve ksantin oksidazı kapsayan humoral yanıtlardır. Konakçı reaksiyonları; yabancı maddelere, mikroorganizmalara ve travma, radyasyon ve işemi-reperfüzyon hasarı nedeniyle oluşan zarara yanıt olarak oluşur. Oksijen radikalinin oluşumu konakçının antimikrobiyal etkinliğinde önemlidir. Bununla beraber süperoksitin aşırı üretimi lipit peroksidasyonunu, membran hasarını, mitokondriyal fonksiyon bozukluğunu, yangı ve işemi-reperfüzyon hasarını teşvik eder (29).

Çoğu bakteri fagosite edilerek apse ve granülom gibi spesifik odaklarda tutulur. Kimyasal olarak reaktif nitrik oksit (NO), süperoksit (O_2^-) ve peroksinitritler ($ONOO^-$) bakteriyi oldukça seçici bir şekilde etkileyerek çevre dokulara zarar vermez. Viral enfeksiyonlarda serbest radikal mediyatörleri virüsle enfekte dokularda nonspesifik oksidatif tahribata neden olur. Virüsler fagositler, nitrik oksit ve süperoksit ile ilgili spesifik olmayan konakçı savunması aracılığı ile belirli bölgelerde tutulamadığından oksidatif stres oluşur. Virus enfeksiyonları sırasında serbest radikal üretimi nedeniyle uyarılan oksidatif stres konakçı ve patojen ilişkilerinde zarar verici olaylara neden olabilir (2).

3.4. Lipit Peroksidasyonu (LPO)

Membranlardaki doymamış yağ asitlerinin reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerek peroksit, alkol, aldehit, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan gibi çeşitli ürünlere yıkımlanması lipit peroksidasyon olarak adlandırılır. LPO bir kere başladıktan sonra kendi kendini katalizleyerek devam eder, başlama, yayılma ve sonlanma olarak üç aşamada incelenir. Son aşamada üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu toksik bir ürün olan malondialdehit (MDA) oluşur. MDA hücre yüzeyindeki yapıların çapraz bağlanması ve agregasyonu sonucu iyon transport enzimlerinin inaktivasyonuna neden olur (48).

3.5. Serbest Radikallere Karşı Savunma Mekanizmaları

Biyolojik sistemlerde endojen ve ekzojen kökenli stres faktörleri nedeniyle sürekli olarak serbest radikaller ve diğer oksijen kökenli türler üretildiğinden, hücre bu stres faktörlerine maruz kalmayı sınırlamak için güçlü ve kompleks antioksidan savunma sistemi geliştirmiştir (51,62). Antioksidasyon terimi, serbest radikal oluşumunu geciktiren veya ortadan kaldıran tüm işlemleri kapsar. Etkili bir antioksidanın iki özelliği vardır. Birincisi serbest radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girip yeni bir radikal oluşturması, ikincisi ise oluşan yeni radikale komşu dokulara zarar vermeyen ve reaktif olmayan özellik kazandırmasıdır (91).

Canlı organizmalar OH⁻ üretimini en aza indirmede rol oynayan bir enzim düzenine sahiptir. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içerisindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır. Savunma sistemlerini çeşitli serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşturmaktadır.

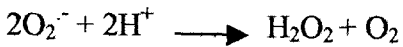
Süperoksit dismutaz, katalaz, glutathion peroksidaz ve indirgenmiş glutathion serbest radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen enzimlerdir. Süperoksit dismutaz süperoksit radikalının, katalaz ve glutathion peroksidaz ise hidrojen peroksidin metabolize olmasını sağlar. Enzimsel savunma sisteminin yeterli olmadığı hallerde düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipid radikalleri ile etkileşerek reaksiyonların ilerlemesini önlemeye çalışır. En önemli serbest radikal tutucuları tokoferoller, karotenler, askorbik asit ve glutathion'dur (51,100).

3.5.1. Hücresel Antioksidan Enzimler

Bu enzimler aşırı serbest radikal oluşumunun zararlı etkilerinden hücre ve organizmayı korumaya hizmet eden sistemlerdir.

3.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

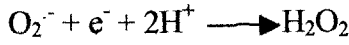
Süperoksit dismutaz (SOD) serbest radikalleri metabolize eden enzimlerden ilk bulunandır. Hücrelerde süperoksit iki metal ihtiva eden iki SOD izoenzimi aracılığı ile hidrojen peroksite metabolize edilebilir. Bu enzimler mitokondrielerde mevcut olan 80-kDa tetramerik Mn-SOD ve sitosolik 32-kDa dimerik Cu/Zn-SOD enzimidir (30). Süperoksit dismutaz tarafından katalize edilen reaksiyonda iki molekül süperoksit radikali hidrojen peroksid ve moleküler oksijeni oluşturur. Böylece hücresel hidrojen peroksidin kaynağını oluştururlar. Süperoksit dismutaz tarafından katalize edilen reaksiyon oldukça etkilidir.



Süper oksit dismutaz enzimleri H_2O_2 oluşumunu hızlandırarak O_2 'nin ortadan kaldırılmasını sağlar. Süper oksit dismutaz H_2O_2 'yi ortadan kaldıran diğer enzimlerle (katalaz, glutathione peroxidase) işbirliği içinde çalışır (63).

3.5.1.2. Süperoksit Redüktaz (SOR)

Son yıllarda süperoksitin direk indirgenmesini katalize eden yeni bir tip süperoksit temizleyen enzim olarak bulunmuştur. Bu enzim demir ihtiva eder.



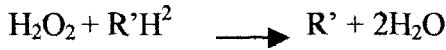
Sadece anaerobik sülfat indirgeyen bakterilerde bulunmuştur ve memelilerde bu enzimin varlığı belirlenememiştir (68).

3.5.1.3. Katalaz

Memeli hücrelerinde katalazın bulunduğu yer, hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene katalizlendiği yer olan peroksizomlardır.



Katalaz aynı zamanda hidrojen peroksitin bağlarını indirgeyerek fenol ve alkoller gibi farklı maddeleri detoksifiye etme fonksiyonuna da sahiptir.



Katalazın oksidatif rolü, hidrojen peroksitten hidroksil radikali oluşma riskini azaltmasıdır. Katalaz kendisini inaktivasyondan koruyan ve etkinliğini arttıran bir enzim olan NADPH'ı tutar (68).

3.5.1.4. Glutathion Peroxidaz (GSH-Px)

Glutation peroksidaz, glutationun yeniden oluşum siklusunda hidroperoksitlerin alkollere indirgenmesini sağlayarak hidroksil radikallerinin oluşumunu azaltır. Eritrosit içerisinde bulunan bu enzim, hidroperoksitler tarafından hemoglobinin methemoglobine dönüşümünü önleyen sistemin ayrılmaz bir parçası olarak rol oynar. Aynı zamanda diğer peroksitleri de (hücre membranlarındaki lipit peroksitler) alkollere indirger.



Glutation peroksidaz, peroksitleri membran hasarına neden olmadan önce yıkımlayan bir enzimdir (27).

3.5.2. Enzimsel Olmayan Antioksidanlar (Antioksidan Vitaminler)

3.5.2.1. E Vitamini

E vitamini terimi, biyolojik olarak α -tocopherol etkisi gösteren tüm tocol ve tocotrienol derivatlarını tanımlamak için kullanılır. Bu bileşiklerin saf formları suda çözünmez, alkol, organik çözücüler (aseton, kloroform, eter) ve bitkisel yağlarda kolayca çözünür. Isı, nemlilik, yemde aşırı A vitamini oranı, nitratların varlığı, ekşimiş yağ ve belirli iz elementlerin etkisiyle oluşan oksidasyona maruz kaldığında yıkımlanır. E vitamini, vücuttaki ve gıdalardaki karotenler ve diğer okside olabilen materyalleri koruyan mükemmel bir doğal antioksidandır (58,70).

Hayvansal ürünler bu vitaminden fakir olup özellikle buğday tohumu, pirinç ve pamuk tohumlarında bulunur (27,58).

E vitamini'nin sindirimi yağların sindirimi ile ilişkili olup, safra ve pankreatik lipaz enzimi aracılığı ile kolaylaştırılır. İster alkol isterse ester

formunda olsun, E vitamini alkol formunda absorbe edilir. Esterler barsak duvarında büyük oranda hidrolize edilirler. Doğal olarak şekillenen tocopherol formu, sindirim kanalında yıkımlanmaya maruz kalır. Asetatların çoğu barsak duvarında parçalanır, alkol formu oluşur ve absorbe edilir (58).

E vitamini tüm vücut dokularında depolanır. Karaciğer E vitamininin dolaşıma ve sonuç olarak perifer dokulara gönderilmesinde merkezi bir rol oynar (58,93). Absorbe edilen E vitamini başlıca safra ile ekskreste edilir (58). E vitamini'nin dokular tarafından alınması dokular arasında farklılık gösterir. Akciğer, karaciğer, dalak, böbrek ve eritrositlerde daha hızlı iken, beyin, yağ doku ve spinal kortta daha yavaştır (18). E vitamini yetersizliğinde, plazma ve karaciğerdeki azalma oranı yağ doku, beyin, spinal kort ve sinir dokularına nazaran çok daha hızlı olur (14).

E vitamini, mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membranı gibi özellikle doymamış yağ asitleri bakımından zengin hücre membranlarını lipit peroksidasyondan koruyan merkezi bir role sahiptir (12). Membrandaki çok zincirli doymamış yağ asitlerinin doymamış çift bağları kolayca peroksitler ve aktif oksijen formları tarafından etkilenirler (71). Bu işlem bir zincir reaksiyonu oluşturma eğilimindedir ve fazla miktarda serbest radikal ve hidroperoksitler oluşur. α -tocopherol plazmada diğer yağda çözünen antioksidanlara nazaran yaklaşık 15 misli daha fazla bulunduğundan, plazma ve düşük moleküllü lipoproteinlerdeki (LDL) en önemli antioksidandır (19,27). α -tocopherol'ün (TOH) fenolik grubu bir peroksil radikali (ROO) ile karşılaştığında, hidrojen atomunu peroksil radikale verir ve bu işlemle bir α -tocopheroxyl radikali (TO) oluşur (63,91);



Oluşan oksidasyon ürünü ise glukoronik asitle konjuge edilerek safra ile ekskresyon edilir (27). Bu nedenle, normal şartlar altında membrandaki çok zincirli doymamış yağ asitleriyle (PUFA) reaksiyona girmez ve böylece zincir reaksiyonlarının yayılması inhibe edilir (99).

Askorbatın ya bir antioksidan gibi etki göstererek tokoferollere yardımcı olduğu ya da tocopheroxyl (tocopherolün okside formu) radikalinden bir oksijen atomunu uzaklaştırarak aktif tocopherol haline dönüştürdüğü ileri sürülmüştür. Tocopherolü tekrar eski durumuna getiren mevcut askorbatın azalması, E vitamini'nin aktivite kaybını hızlandırabileceğinden E vitamini takviyesi gereklidir. Böylece tocopherolün radikal temizleyici etkisi restore edilmiş olur. Bu reaksiyonlar sonrası oluşan askorbil radikali α -tocopheroxil radikalinden daha zayıf olduğundan yeniden okside olmaz (70,71).

E vitamini, aşılarda için enjeksiyon bölgesinde apse oluşumunu azaltan bir adjuvandır (70).

Plazma ve/veya serumdaki E vitamini konsantrasyonları erişkin sığırlar için 300-1.000 $\mu\text{g}/\text{dl}$, bir yaşındaki sığırlar için 125-225 $\mu\text{g}/\text{dl}$ genç buzağlar için 75-150 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ve yeni doğan buzağlar için 80-120 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (70), olarak verilirken bir diğer kaynakta sağlıklı dana ve buzağlar için normal değerler 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ olarak verilmiştir (43).

Günümüzdeki yetiştiricilik metotlarının sonucu olarak sığırlarda E vitamini eksikliği görülebilmektedir. Bu durum immün yanıtta gecikmelere neden olmaktadır. Sığırlarda ve özellikle buzağlarda bağışıklığın yeterince gelişmesi ve büyümenin artmasında E vitamini ilaveleri önem taşır (75). Yüksek dozlarda E

vitamini immun yanıtı, nötrofil aktivitesini, immun organlardan prostaglandin sentezini ve hücrel-humoral bağışıklığı artırır (67,70).

Evcil hayvanlardaki kas dejenerasyonlarının (myopatiler) etyolojisi kısmen açıklanmış olup, bu olayda besinlerle alınan oksidan maddelerin fazlalığı, E vitamini ve/veya selenyum noksanlığı sonucunda antioksidatif yetersizliğe bağlı olarak oluşan serbest radikaller sorumlu tutulmaktadır. Hızlı gelişen buzağular daha sık etkilenirler. Mera şartlarında selenyum yetersizliği, entansif yetiştiricilikte ise E vitamini yetersizliği söz konusudur (15,33). Beyaz kas hastalığı intra veya ekstrauterin olarak gelişebilir (58). Kalp kası etkilendiğinde ölüm klinik bulgular şekillenmeden görülebilir. Daha hafif olaylarda solunum ve dolaşım sisteminin hafif hareketlerde bile etkilendiği gözlenir. İskelet kasları etkilendiğinde gergin doğal olmayan duruş, genel halsizlik, kaslarda parezis ve şekil anormallikleri oluşur. Bu durum yaygın olarak 'Beyaz Kas Hastalığı veya Gergin Kuzu Hastalığı' adıyla tanımlanır (33,57,58). Özellikle transport, sıkışık olarak birlikte tutulma ve ani yem değişiklikleri gibi stres durumları bu olayı hızlandırıcı faktörler olarak belirtilmiştir (58).

E vitamini'nin karaciğer ve kan konsantrasyonları arasında çok yakın ilişki vardır. Böylece karaciğer biyopsisi yapılmadan plazma konsantrasyonlarına bakılarak düzeyler belirlenebilir (58).

Vitaminin ester formundan ziyade serbest alkol formunun verildiği genç buzağularda, plazma düzeylerinin yükseldiği görülmüştür. Bu nedenle E vitamini enjekte edilecekse alkol formu tercih edilmelidir. Yağda eriyen vitaminlerin ester formları genç buzağular tarafından alkol formdaki kadar iyi absorbe edilmezler (67,74)

Neonatal dönemde, pankreatik sekresyonlar ve safra düşük olduğundan vitaminin absorpsiyon ve transportu ester formu için düşük olabilir. İntramuskuler enjeksiyonlarda alkol form tercih edilmelidir. Çünkü, ester form enjeksiyon yerinde değişik reaksiyonlara neden olabilir (66).

Reddy ve ark. (75), buzağular 24 haftalık oluncaya kadar tüm performansları için E vitamini ihtiyaçlarının saptanması amacıyla 32 adet buzağıyı çeşitli deneme gruplarına ayırmış ve 0, 125, 250 ve 500 IU E vitamini/gün vererek deneme yapmıştır. Çalışma sonunda en yüksek canlı ağırlık artışınının 125 ve 250 IU E vitamini verilen grupta olduğu saptamış ve bu oranların buzağı gelişimini olumlu etkileyeceği ileri sürülmüştür.

Hıdıroğlu ve ark. (39), besi sığırlarında çeşitli tocopherol bileşiklerinin kan plazması ve doku E vitamini konsantrasyonlarına etkilerini araştırmış ve bu amaçla hayvanlara 28 gün boyunca günde 1000 IU dozunda tocopherol bileşiklerini (DL- α -tocopherol, D- α -tocopherol, DL-tocopheryl acetate, D- α -tocopheryl acetate) uygulamıştır. Tüm bu deney grupları arasında en yüksek doku ve plazma α -tocopherol düzeyinin D- α -tocopherol ile oluştuğunu saptamışlardır. Deneme öncesi plazma α -tocopherol konsantrasyonlarını sığırlarda zararlı etkilerin ortaya çıktığı seviye olan 1.5 μ g/ml'den daha az olarak tespit etmişler ve E vitamini ilavelerini izleyen tedavi sürecinde tüm gruplarda konsantrasyonların arttığını ve besi sığırları için kabul edilen 4-9 μ g/ml düzeylerine geldiği ifade edilmiştir.

Nockel ve ark. (65), stresin besi sığırlarında plazma α -tocopherol konsantrasyonlarını azalttığını ifade etmişler ve stres oluşturdukları sığırlarda (aşırı epinefrin veya ACTH enjeksiyonu) plazma α -tocopherol

konsantrasyonlarını stres öncesi 3.28 µg/ml ve sonrası 2.84 µg/ml olarak ölçmüşlerdir.

Hogan ve ark. (40), laktasyonun ilk 30 günü süresince günde 500 IU E vitamini ilaveleriyle nötrofillerin bakteriyel patojenleri öldürme yeteneklerinin artırıldığını ifade etmişlerdir.

Cıprano ve ark. (24), E vitamini'nin hücrel ve humoral immun yanıt üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla buzağları üç deneme grubuna ayırarak, birinci gruba 0, ikinci gruba 1 gr dozunda α-tocopherol, üçüncü gruba ise ilk üç gün kolostrum ve daha sonraki günler süt ve kuru yem vermişlerdir. Altı hafta sonunda gruptaki E vitamini konsantrasyonlarını sırasıyla 71 µg/dl, 639 µg/dl ve 155 µg/dl olarak ve serum immunglobulin konsantrasyonlarını sırasıyla IgG₁: 1079 mg/dl, 1168 mg/dl ve 1315 mg/dl, IgG₂: 488 mg/dl, 562 mg/dl ve 432 mg/dl, IgA: 37 mg/dl, 53 mg/dl ve 35 mg/dl, IgM: 151 mg/dl, 118 mg/dl ve 110 mg/dl olduğunu gözlemişlerdir.

Hıdıroğlu ve ark. (38) tarafından buzağlarda immun yanıt üzerine E vitamini'nin etkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmada, buzağlar 4 deneme grubuna ayrılarak 0, 900, 1800 ve 2700 IU dozunda D-alpha-tocopherol doğumdan itibaren 3 hafta arayla 4 kez uygulanmıştır. E vitamini uygulanan hayvanlarda plazma E vitamini düzeyleri yükselmiş, IgG₁ ve IgG₂ konsantrasyonları bakımından gruplar arasında bir farklılık tespit edilememiş ancak kontrollere nazaran daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca IgM'nin 2700 IU E vitamini uygulanan grupta kontrollere göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Reddy ve ark. (76), E vitamini ilavelerinin buzağlarda IgG₁ ve IgG₂ konsantrasyonlarında önemli farklılıklar oluşturmamasına rağmen IgM'nin önemli

ölçüde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca E vitamini ilavelerinin, T ve B hücre mitojenlerinden lenfosit blastojenik yanıtı uyardığı, serum kortizolünü düşürerek sığırların immün sistemine faydalı etki gösterdiği ifade edilmiştir. E vitamini, nötrofil membranlarında PUFA'ların otointoksikasyonunu inhibe eder ve nötrofil fonksiyonlarını artırır (31). E vitamininin, fagositik hücre fonksiyonlarını artırması enfeksiyonlara karşı konakçı savunmasını kuvvetlendirir. E vitamini, fagositoz sırasında makrofajlardan üretilen serbest radikallerin zararlı etkisinden fagositik hücreleri koruyan bir antioksidandır (40).

3.5.2.2. C vitamini

Askorbik asit, beyaz-sarı renkli kristal bir toz olup suda eriyen bir vitamindir. (57,58).

C vitamini'nin başlıca kaynağı meyve ve sebzelerdir. Karaciğer ve böbrek gibi hayvansal organlarda belirli miktarlarda bulunur, fakat etteki miktarları düşüktür (57,58).

C vitamini sentezi karaciğerde uronik asit mekanizması yoluyla glikozdan meydana gelir. Askorbik asitin sentezlenme derecesi başlıca yaş ve gıdasal duruma bağlı olarak değişir. Fetal gelişim boyunca ve doğumdan sonraki ilk haftalarda sentez oranı düşüktür. Daha sonraki haftalar boyunca sentez yeteneği yavaşça artar (46,67). C vitamini karbonhidratlara (monosakkaritlere) benzer şekilde absorbe edilir. Askorbik asit küçük miktarlarda alındığında kolayca absorbe edilirken, aşırı alındığında bağırsaktan absorpsiyonu sınırlıdır. Askorbik asitin metabolizmasında, askorbik asit enzimatik ve enzimatik olmayan bir çok işlem aracılığıyla dehidroaskorbata dönüştürülür. Askorbik asitin taşıyıcı proteini

yoktur ve vücutta subzellüler yapılarına bağı olarak tutulur. Hepatositlerden salınan veya gastrointestinal kanaldan absorbe edilen askorbik asit çeşitli organlar tarafından farklı derecelerde tutulur. Yüksek konsantrasyonlar özellikle hipofiz, adrenal bez ve optik lens yanında karaciğer, dalak, beyin ve pankreasta da bulunur. Absorbe edilen askorbik asit idrar, ter ve dışkı ile atılır. İdrarla olan kayıplar vitaminin vücut depolarına, alıma ve böbrek fonksiyonlarına bağıdır. L-askorbik asitin kan plazmasındaki konsantrasyonu 1.4 mg/dl eşiğini aştığında önemli miktarları idrarla ekskres edilir (58).

C vitamini'nin, indirgenmiş askorbik asit ve okside dehidro askorbik asit olarak adlandırılan iki formu vardır. Askorbik asitin sadece L izomeri aktiviteye sahiptir. Gıdalardaki vitaminin indirgenmiş formu reversibl olarak dehidro forma ve sonra da inaktif ve irreversibl bileşik olan diketogulonik asite okside olabilir. Bu değışim kolayca şekillenir ve bu nedenle de C vitamini oksidasyon, ısı, ışık gibi değışimlere karşı yıkımlanmaya çok duyarlıdır. Diketogulonik asit, daha sonra oksalik asit ve L-threonik asite okside olabilir. Askorbik asit dehidroaskorbik asite o kadar kolay bir şekilde okside olur ki bu sayede diğere bileşikler oksidasyondan korunurlar. Askorbik asitle dehidroaskorbik asitin reversibl oksidasyon-redüksiyonu C vitamini'nin en önemli kimyasal özelliğidir (58).

L-Askorbik asit (C vitamini), ekstrasellüler sıvılardaki en önemli antioksidan olarak düşünölmektedir. Askorbatin süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) hipoklorit (OCl^-), hidroksil radikali (OH^\cdot), peroksil radikali (ROO^\cdot) ve saf oksijeni etkili şekilde ortadan kaldırdığı bildirilmektedir (21,84).

C vitamini iki nedenden dolayı etkili bir antioksidandır. Birincisi askorbat biyolojik olarak oluşan radikaller ve oksidanların çoğu ile reaksiyona girebilir ve askorbattan bir elektron oksidasyonu ile oluşan askorbil radikali düşük reaktiviteye sahip olması, ikincisi ise askorbil radikali eşleşmemiş elektronun stabilizasyonu nedeniyle kolay bir şekilde askorbat ve dehidroaskorbik asite parçalanmasıdır (17).

Bağışıklık sisteminde, C vitamini'nin öneminin lökositler üzerinde olduğu bildirilmiştir. Polimorf ve mononükleer lökositlerin optimal fonksiyonları için bu vitamini ihtiyaçları vardır ve yapılarında en yüksek düzeyde bu vitamini içerirler (67). Sodyum askorbat sıgırlara 20 mg/kg dozunda sc yolla verilmiş ve C vitamini'nin nötrofillerin oksidatif mekanizmasını ve antikorlar ile antikorların sorumlu olduğu hücreler arasındaki sitotoksiteyi artırdığı bulunmuştur. C vitamini, mevcut antimikrobiyal oksidantların hücre içi generasyonu esnasında fagositlerden türetilen zararlı ekstrasellular oksidantların imkan dahilinde nötralize edilmesini de sağlar.

C vitamini'nin etkilerini araştıran Roth ve ark. (80), nötrofillerin aktivasyonuna yol açan hızlı oksidasyonla hücre içi askorbik asitin %20-40 oranında kaybolduğunu, aynı zamanda nötrofillerin askorbik asit içeriğinin stres nedeniyle azaldığını belirlemişlerdir (80).

Bakteriyel bir enfeksiyon söz konusu olduğunda, yapılarında fazla oranda askorbik asit içerdiği bilinen beyaz kan hücreleri (başlıca heterofiller ve makrofajlar) enfeksiyon bölgesine göç ederler. Beyaz kan hücrelerinin askorbik asit konsantrasyonları ile alakalı olan fonksiyonları nedeniyle, askorbik asitin azalması savunmanın önemli birinci hattı olan hücrelerin fagositoz yeteneğinin

azalmasına neden olur. İlaveten fagositoz sürecinde ve sonrasında da askorbik asit kaybı oluşabilir. Bu nedenle, stres durumlarında hastalıklara karşı savunmanın devamlılığı için askorbik asit ilavelerinin önemi iki kat artmaktadır. Ayrıca askorbik asit ilaveleri ile bazı memeli sistemlerinde interferon üretimi arttırılmaktadır. İnterferonlar beyaz kan hücreleri tarafından üretilen ve hücreleri virusların invazyonundan koruduğuna inanılan bir çeşit proteindir (81).

Stres sırasında immun fonksiyonlar tipik olarak azalmaktadır ve C vitamini ilaveleri özellikle stres yapıcı faktörlerin immunosupressiv etkisini ortadan kaldırır (81).

Adrenal korteks hücrelerinde kortikosteroidlerin sentezi için askorbik asit gereklidir. Askorbik asit eksikliği, strese yanıt olarak kortikosteroid salgılanması yeteneğini azaltır. ACTH'nın adrenal bezleri uyarması sonucu askorbik asit konsantrasyonunda azalma gözleendiği ve C vitamini'nin steroidogenesis için gerekli olduğu ileri sürülmüştür (46,58).

Evcil hayvanlardaki denemeler streste (soğuk-sıcak, metabolik bozukluklar, nakil ve yeni çevre stresi, uygun olmayan besleme, aşılama, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar, karaciğer parazitleri, yaralanmalar, bedeni çalışmalar vs.) C vitamini kullanımının arttığını ve karaciğerdeki biosentezin bu artan talebi karşılayamadığını göstermiştir. Yeterli olmayan sentez nedeniyle kan plazmasındaki miktar azalmaktadır. Kan plazmasındaki askorbik asit miktarının 0.3 mg/dl'den daha az olması durumunda immun sistemin verim kaabiliyeti olumsuz etkilenmektedir. Bu gibi durumlarda ekzojen C vitamini uygulaması yararlı etki gösterir (47). Aşılama ile kan plazmasında askorbik asit konsantrasyonunda geçici bir azalma oluşur (46). Antistres fonksiyonuna sahip C

vitamini enfeksiyonlara özellikle de sindirim ve solunum sistemi enfeksiyonlarına karşı direnci artırır (47). Askorbik asitin lökositlerin fagositik aktivitelerine, RES fonksiyonlarına ve antikor formasyonuna uyarıcı etkileri bildirilmiştir (58).

Sığırlar C vitaminini tamamen glukozdan sentezledikleri için glukoz sentezi azaldığı zaman C vitamini sentezi de azalır. Ruminantlarda C vitamini ruminal mikroflora tarafından hızla yıkımlandığından C vitamini eksikliğinin önemi büyüktür (58). Sığırların çok fazla kaba yem tüketmeleri nedeniyle hipoglisemik oldukları ayrıca önem arzeder. Ketozisli ineklerin adrenal bezlerinde ve karaciğerlerinde düşük askorbik asit düzeyleri bulunmuştur. Ayrıca C vitamini düzeyleri fötusun ihtiyaçlarının karşılanması, süt miktarı, stres ve hastalıkların varlığında etkilenir (46).

Lundquist ve Philips (53) tarafından doğumdan itibaren 2-3. haftaya kadar buzağılarda C vitamini sentezinin olmadığı, en yüksek kan C vitamini düzeylerinin doğumun ilk gününde olduğu ve bunu izleyen 2 hafta içinde hızla azaldığı bildirilmiştir.

Buzağuların askorbik asit sentezleme yetenekleri 50 günlük olduktan sonra gelişmeye başlar ve bu vitamini ön mideler gelişmeden önce gıdayla alabilirler, daha sonraları ise ilavelerin tek veriliş yolu enjeksiyonlardır (67). Yaşamın ilk haftalarında ihtiyaçları karşılamak amacıyla 250 mg/kg/gün dozları yeterlidir. Buzağılarda kan plazmasında askorbik asit konsantrasyonlarının düşüklüğü, gelişme için aşırı tüketilmesi sonucudur. Yetersiz besin (protein) kaynağı ve E vitamini eksikliği askorbik asit sentezini inhibe eder. Yetersiz proteinle beslenme uzun süre devam ederse hepatositlerde çok sayıda enzimin konsantrasyonu azalır ve dolayısıyla da askorbik asit sentezi azalır. E vitamininin eksikliğinde ise

hepatositlerin mikrozomal ünitelerinde peroksit bileşiklerinin şekillenmesi artar ve bu nedenle askorbik asit oluşumu azalır (46).

Her ne kadar tüm ruminantlar C vitamini sentezleme yeteneğine sahip olup ilave uygulamalara pek gereksinim olmasa da, ruminantlarda scorbut vakaları tanımlanmıştır (25,58). Scorbutlü buzağılarda kilo kaybı ve genel dirençsizlikle beraber, ağız boşluğu mukozası, burun ucu ve deride değişimler oluşur. Doğumdan sonra yeterince süt alamayan buzağılarda kilo kaybıyla beraber deri kalınlaşmasıyla karakterize aşırı dermatosis gözlenir. Kan askorbat düzeyi düşük olan hayvanlarda bu durum C vitamini enjeksiyonlarıyla düzeltilebilir. Bununla beraber ihtiyaçlar gebelik, laktasyon, thyrotoxicosis, artmış metabolizma, azalan absorpsiyon durumlarında artar. Stres veya uygun olmayan çevre şartları nedeniyle ihtiyaçlar artmaktadır (57,58).

Sağlıklı sığırların kan plazmasında 4-17 µg/ml C vitamini bulunur (57,58,70).

İssi ve Gül (41) tarafından yapılan sığırların bazı enfeksiyöz hastalıklarında serum C vitamini düzeylerinin ölçüldüğü araştırmada, theileriosis teşhisi konulan hastalarda 0.43 mg/dl, coriza gangrenoza bovum teşhisi konulanlarda 0.42 mg/dl ve şap hastalığı teşhisi konulan hastalarda ise 0.40 mg/dl olarak saptamışlar ve bulunan bu değerlerin kontrol grubundan (0.60 mg/dl) $p < 0.001$ güven eşiğinde önemli derecede az olduğu ifade edilmiştir.

C vitamini'nin oral yolla günlük dozu memelilerde 1 gr/50 kg'dır. C vitamini'nin %20'lik enjektabl çözeltisinden kas içi veya damar içi yolla, at ve sığırlara 50-100 ml, dana ve taylara 10-30 ml, koyun ve keçiye 5-25 ml, köpeğe 1-5 ml, kediye 0.5-1 ml ve kanatlılara 0.1-0.5 ml dozunda verilir (89).

Başka bir kaynakta (57) ise evcil hayvanlarda C vitamini'nin tavsiye edilen fizyolojik dozları küçük hayvanlar için 200-300 mg ve at, sığır gibi büyük hayvanlar için 2-3 gr olarak belirtilmiştir.

Kan askorbat düzeyleri düşük olan buzağılara günlük 500 mg askorbik asit verilmesinin göbek kordonu enfeksiyonları ve peritonitis riskini azalttığı ve pnömoninin kontrol altına alındığı bildirilmiştir. Henüz ön mideleri gelişmemiş ruminantlara 2 doz halinde 500 mg askorbatın parenteral uygulamasıyla bronkopnömoniler %22.5-%50 oranında azalmıştır. Doğumun 21. gününden sonra buzağılara C vitamini uygulaması, serum A vitamini konsantrasyonlarını da arttırmıştır ve bu durum bu iki A vitamini arasında bir sinerjizmin olduğunu göstermektedir (42).

Blair ve Cummings tarafından yapılan çalışmada (10), doğumdan sonra kolostrum alamayan buzağılara günlük 1.75 gr askorbat verildiğinde, askorbat ilavesi yapılmayan buzağılara göre plazma IgG düzeylerinin arttığı ifade edilmiştir.

Fizyolojik dozların aşılması lökositlerin bakterisidal etkisini inhibe eder (57). Genel olarak C vitamini'nin yüksek dozları bile düşük toksisiteye sahiptir ve genel olarak hayvanlar tarafından iyi tolere edilir. Toksik belirtiler olarak asidozis, gastrointestinal şikayetler, glikozüri, duyarlılık reaksiyonları ve mutagenik aktivite gibi belirtiler sayılabilir (58).

3.5.2.3. A vitamini ve β -karoten

A vitamini donuk sarı renkte ve β -karoten kırmızı renkte (hemen hemen renksiz) olup, her iki madde de suda çözünmeyen, fakat yağ ve değişik yağ

çözücülerde çözünen, hava veya ışığa maruz kaldığında oksidasyon nedeniyle kolayca yıkımlanan bileşiklerdir (57,58).

A vitamini terimi retinolün biyolojik aktivitesini gösteren karotenoidlerden başka, diğer bileşikleri de ifade eden genel bir terimdir (27). A vitamini doğal olarak üç formda bulunur; retinol, retinal ve retinoik asit (22).

A vitamini karaciğerde depolanır ve bu nedenle karaciğer A vitamini'nin iyi bir kaynağıdır. Karaciğerdeki A vitamini düzeyleri hayvan türü ve yeme bağlı olarak değişir. Morina ve Kalkan gibi balıkların karaciğer yağları bu vitaminin başlıca kaynağı olarak bilinir. Yumurta sarısı ve süt yağı da A vitamini bakımından zengin kaynaklardır. A vitamini bitkilerde bulunmaz. Yeşil bitkiler A vitamini'nin prekürsörü olan ve kolaylıkla A vitamini'ne dönüşebilen karotenoidleri içerirler. Bitkisel karotenoidler hayvansal gıdalarda (özellikle ruminantlarda) A vitamini'nin başlıca doğal kaynağını oluştururlar. Karotenoidler arasında biyolojik olarak en yüksek provitamin A aktivitesine sahip olanı β -karoten'dir (57,58). Sığırların A vitamini seviyeleri provitamin olan karotenoidlerin A vitamini'ne dönüşümünü etkileyen birçok faktör tarafından etkilenir. Karotenlerin vitamene dönüşümünü etkileyen faktörler arasında; karotenoidin tipi, nitritlerin varlığı, troid fonksiyonu, ırk, protein ve enerji düzeyi ile enfeksiyonların varlığı yer alır. Aşırı sıcak havalar, viral enfeksiyonlar ve değişmiş troid fonksiyonları gibi stres durumlarında karoten'lerin A vitamini'ne dönüşümleri azalır ve bu gibi stres durumlarında A vitamini gereksinimleri artar. Soğuk havalarda β -karoten'i retinole çeviren β -karoten 15,15' – dioksigenaz aktivitesi sınırlandırılır (58). Karoten yıkımlanması rumende de oluşur. Diyetteki β -karoten'in bazı hayvan türleri tarafından bağırsak duvarından absorbe

edilmeleri değişik miktarlarda olur. Örneğin Sığırlar β -karoten'in büyük oranlarını absorbe ederler ve absorbe edilen β -karoten, karaciğer, yağ doku ve diğer bölgelerde bulunabilir. (23,58).

Bir molekül β -karoten hidrolize olarak iki molekül A vitamini oluşturur. Karotenler sindirim kanalında A vitamini kadar etkili absorbe edilmezler (57). β -karoten bağırsak mukozasında iki enzim aracılığı ile retinole çevrilir;

1. İki molekül retinal oluşturmak için β -karoten molekülünün ayrılmasını katalize eden, β -karoten 15,15' – dioksigenaz
2. Retinal'i Retinol'e indirgeyen Retinaldehite redüktaz

Bu iki enzim kedi ve vizonlar hariç çoğu omurgalıda bulunmaktadır. Bu enzimlerin yokluğu nedeniyle de yukarıdaki türler A vitamini kaynağı olarak karotenden yararlanamazlar. A vitamini mideden hemen hemen hiç absorbe edilmez. Lipitlerin (A vitamini ve karotenleri de içeren) başlıca absorpsiyon bölgesi proksimal jejunum mukozasıdır. β -karotenlerin A vitamini'ya dönüşümü büyük oranda bağırsak mukozasında gerçekleşir. Mukozal hücrelerde retinol uzun zincirli yağ asitleriyle tekrar esterleştirilir (58). Retinyl esterleri ve karotenoidler cyclomicra içinde bir arada tutulurlar ve lenf yolu ile genel dolaşıma nakledilirler. Retinyl esterleri karaciğer tarafından tutulur ve paransimal hücrelerde ve özellikle de yağ depolayan hücrelerde depolanırlar. (11,58). Karaciğer normalde vücuttaki toplam A vitamini'nin %90'ını içerir. Geri kalan miktarlar ise böbrekler, adrenal, akciğerler, kan ve diğer bazı dokularda bulunur. Vitamin genellikle retinyl esteri şeklinde başlıca palmitate olarak depolanır (58). β -karoten karaciğerde düşük miktarlarda depo edilir. En yüksek düzeyleri corpus luteumda bulunur.

A vitamini karaciğerden mobilize olacağı zaman öncelikle depolanan A vitamini hidrolize edilir ve alkol A vitamini (retinol) kan dolaşımına geçerek dokulara nakledilir. Retinol spesifik bir plazma taşıyıcı proteine (RBP) bağlı olarak bu depolardan mobilize edilir. Kanda RBP, daha büyük moleküllerle kuvvetli şekilde etkileşir ve böylece RBP'nin glomerular filtrasyonu ve renal katabolizması azalır. RBP karaciğer paraneşimal hücrelerinde sentezlenir ve salgılanır (58). A vitamininin etkisinin karaciğerden uzaktaki ekstrahepatik bölgelere iletilmesinden RBP sorumludur. Hedef dokularda retinol RBP'den ayrılır. İdrarla ekskresyon edilmezler. Daha çok safrada görülürler ve dışkı ile atılırlar (27).

A vitamini çoğu organda koruyucu hattı oluşturan epitel hücrelerinin devamlılığı için gereklidir. A vitamini eksikliğinde bu epiteller keratinize olur ve mukus salgılayan ve mezeneşimal hücrelerin farklılaşması bozulur. Bu durum alimenter, genital, reproduktif, solunum ve üriner yollarda şekillendiğinde etkilenen bu odaklar enfeksiyonlara daha duyarlı hale gelirler. A vitamini, hücrelerin ve hücre içi yapıların lipoprotein membranlarının permeabilitesinde önemli rol oynar. Optimum düzeylerdeki A vitamini lipoprotein membranları geçerek lipit ve proteinler arasında çapraz bağlayıcı ajan olarak rol oynar ve böylece membran stabilize edilir (15,58).

Stres ve hastalıklara karşı normal direncin sağlanması için gıdalarda A vitamini düzeylerinin yeterli olması gereklidir. Bununla beraber ihtiyaç fazlası olarak alınan A vitamini enfeksiyonları önlemede pek etkili değildir (58).

Tüm hayvan türlerinde A vitamini eksikliğinin ilk ortaya çıkan semptomlarından biri, yaygın olarak gece körlüğü adıyla bilinen karanlıkta görüş

yeteneğinin kaybolmasıdır. Gözlerdeki etkilenme ilerlerse korneanın yumuşaması, bulanıklığı, sulanması ve konjunktivaların kurumması ile karakterize kseroftalmi gelişir (15,57,58). Optik sinir kanalının daralması buzağılarda körlüğe neden olabilir (15,57). İneklerde bol lakrimasyon en göze çarpan belirtilerden bir tanesidir (58).

A vitamini osteoblast ve osteoklastların normal pozisyonu ve aktivitesi için gereklidir (12,58).

T_3 hormonunun T_4 'e dönüşümünü kolaylaştırır (70)

A vitamini immün sistem fonksiyonları üzerine etkili olup, noksanlığında immünitadaki aksamadan dolayı hayvanlarda sekonder enfeksiyonlar gelişir (20,58). Süt veren sığırların sağlıklı olmaları ve immün fonksiyonların güçlenmesi amacıyla rasyonlarına A vitamini katılması önerilmektedir (28).

A vitamini'nin hastalıklara karşı dirençteki fonksiyonu, mukoz membranların ve hastalıklarla savaşta gerekli olan kortikosteroidleri sentezleyen adrenal bezlerin normal fonksiyonlarının devamlılığı için gerekli olmasındandır (58).

A vitamini ve β -karoten'in konakçı savunmasına etkileri spesifik ve spesifik olmayan mekanizmalar şeklinde ayrılabilir. A vitamini ve β -karoten'in konakçı savunmasına etkileri lenfoid organların hücrelerinin devamlılığı ve lenfosit tuzağı (trapping'i), hücrel bağışıklık, humoral bağışıklık ve nonspesifik savunma altında sınıflandırılır (22).

A vitamini ve β -karoten hayvanlarda lenfoid organların (timus, lenf bezleri ve dalak) hücrelerinin korunması için gereklidir. A vitamini ve β -karoten immunostimülatördür. Bu vitaminler mitojen ilişkili lenfosit proliferasyonunu,

hücrel sitotoksisteyi ve doğal öldürücü hücre aktivitesini artırır. A vitamini lenfositlerden IL-2 ve makrofajlardan IL-1 üretimini uyarır. A vitamini aynı zamanda humoral savunmayı artırır. Serum antikor, dalaktaki antikor oluşturan hücre sayısı ve lokal immünite artar. Aynı zamanda A vitamini hidrokortizolün immunosopressiv etkisini inhibe etme yeteneğindedir. A vitamini fagositozu ve makrofajlar ile polimorf nükleer nötrofiller tarafından intrasellüler ölümü artırır. Evcil türlerde A vitamini ve β -karoten'in konakçı savunmasına etkilerini inceleyen yeterli çalışmalar olmamasına rağmen yine de bu vitaminlerin çeşitli hastalıklara karşı koruyucu etki sağladığı ve immun sistemin birçok yönünü kuvvetlendirdiği bilinmektedir (22).

En etkili hücre içi antioksidanlardan birisi karotendir ve yem maddelerinde bulunmaktadır. β -karoten, kısmi oksijen basıncını azaltmak için doku ve organellerde peroksil radikallerini taşıyan bağların konsantrasyonlarını azaltmada önemli rol oynayan lipit antioksidanların alışılmamış bir tipidir. β -karoten'in antioksidan rolü birleştiği alkil yapı içinde karbon merkezli radikalleri stabilize etme yeteneğinden kaynaklanır. β -karoten düşük oksijen konsantrasyonlarında etkili olduğundan, yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkili olan E vitamini'nin antioksidan etkilerini tamamlayabilir (27).

Otlak ve meraların hayvanlar tarafından yeterince kullanılmaması, A vitamini ilavesi yapılmayan konsantre yemlerle aşırı beslenme, bitkilerin hasatlanması sırasında yapraklarının fazla kaybolması, susuzluk (nitrat içeriği artar), yeme tuz ve üre ilaveleri (A vitamini'nin stabilitesi azalır) predispoze faktörlerdir (15,70). Sığırlar kış mevsimi boyunca silaj yemleri veya iyice kurumuş olan otları yediklerinde A vitamini eksikliği oluşacaktır. Isı, ışık ve

mineral karışımlar ticari yemlerdeki A vitamini yıkımlanmasını artırır (12). E vitamini eksiklikleri genellikle ahır şartlarında konsantre yemle yapılan uzun süreli beslenme şartlarında ortaya çıkmıştır. Koyunlar merada yeterince otlatıldıklarından eksiklik belirtileri pek yaygın değildir (15,57).

Primer A vitamini eksikliği ya yeşil yemlerin kuraklık nedeniyle yeterince alınmaması veya yemlere yeterli A vitamini ilavelerinin yapılmamasından kaynaklanır. Sekunder A vitamini eksikliği ise kronik bağırsak veya karaciğer hastalıklarında ortaya çıkar. Çünkü karotenlerin A vitamini'ne dönüşümü intestinal epitelyumda olur ve başlıca depolandığı yerde karaciğerdir (12).

A vitamini eksikliğinin önemli belirtilerinden biri serebrospinal sıvı basıncının (CSF) artmasıdır (12,57,58,70). Serebrospinal sıvı basıncındaki artma, araknoid villilerin doku permeabilitelerinin azalması ve duramater'in bağ doku matriksinin kalınlaşması nedeni ile oluşur (12).

Derinin kuruyup dökülmesi (xeroderma), keratomalasi, şiddetli gelişme geriliği, glandular dejenerasyon A vitamini eksikliğinde görülen diğer semptomlardır (12,27,58,70). Ayrıca verimli hayvanlarda infertilite ve gebe hayvanlarda ölü, cılız, kör buzağuların doğması ve abortus görülebilir (57,70). Pnömoni, ishal, koordinasyon bozuklukları ve enfeksiyonlara karşı duyarlılık artışı gözlemlenebilir (57,58,70).

Gelişme çağındaki hayvanlarda (buzağı, düve, dana) sıkça rastlanılan diğer bir semptomda 'epileptoid nöbetler'dir. Hayvan belirsiz aralıklarla yere düşer, şiddetli çırpınma hareketleri yapar ve şuur tamamen kaybolur. 3-5 dakika içinde kendiliğinden tekrar ayağa kalkar ve hiçbirşey olmamış gibi yaşamına devam eder (12).

Sığırların kan serumunda, normal A vitamini düzeyleri 25-80 ve beta karoten düzeyleri ise 150 µg/dl'dir. İyi bir besi performansı elde etmek ve hipovitaminozis A yönünden tam bir güvenlik elde etmek için kan plazması vitamin A düzeylerinin 25 µg/dl'nin üzerinde olması gerekmektedir (12,15).

Sığırların A vitamini ihtiyaçları gıdalardaki karotenlerle veya A vitamini ilaveleriyle ya da her ikisiyle beraber karşılanabilir. Sığırlar için 1 mg β-karoten 400 IU A vitamini'ya eşdeğer olarak kabul edilir (12,58,70). Gelişmekte olan 1 yaşındaki sığır, gebe koyun ve taylorlar için günlük alınması gereken A vitamini miktarları 60 - 80 IU/kg c.a.'tır (15,33). Günlük olarak 30mg/100 kg dozunda beta karoten verilmelidir (15).

Kızıl (45) tarafından yapılan çalışmada serum retinol değerleri 0-1 yaşlı şap aşısı yapılmamış erkek hayvanlarda 23.9+1.4 µg/dl ve şap aşısı yapılmış erkek hayvanlarda 35.8+2.8 µg/dl olarak, β-karoten değerlerini 0-1 yaşlı aşısız erkeklerde 66.0+3.3 µg/dl ve aşılı erkeklerde 38.0+2.2 µg/dl olarak saptamıştır.

Yüksek oranda A vitamini içeren yemler yağda eriyen diğer vitaminlerin absorpsiyonunu azaltabilir ve bu nedenle de etkili olması açısından A ve E vitamini beraber enjekte edilmelidir (67).

A vitamini'nun megadozlarının, herhangi bir hastalığın iyileşme döneminde veya tedavisine destek olmak amacıyla, içme suyuna katılması veya enjeksiyon tarzında uygulanması tavsiye edilmektedir. Bu durum, özellikle hastalık sırasındaki ateş nedeniyle A vitamini depoları azalan veya bağırsak bozuklukları nedeniyle vitaminin absorpsiyonunun etkilendiği hayvanlar için geçerlidir. Bu amaçla buzağılara 200.000-500.000 IU, gelişmekte olan sığırlara

1.000.000-1.500.000 IU ve sütçü sığırlara 2.000.000 IU dozlarının uygulanması tavsiye edilmektedir (58).

A vitamini toksisitesi pratik bir problem değildir. İştahsızlık, kalp frekansının artması, serebrospinal sıvı basıncının azalması ve iskelet anormallikleri toksisite belirtileridir. Diğer belirtiler arasında kilo kaybı, deri kalınlaşması, kan pıhtılaşma süresinin uzaması, kongenital anormallikler ve konjunktivitis yer alır (58).

Aşırı β -karoten ilaveleri fertilitiyi etkileyebilir. Ayrıca aşırı alımlar vitamin D kullanımını bozarak kemik defektlerinin oluşmasına neden olan Ca:P dengesini bozabilir (70).

3.6. Plazma Proteinleri

Albümin, globulin ($\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \gamma$) ve fibrinojenler kan plazmasındaki en önemli protein fraksiyonlarıdır (88,94). Plazma proteinlerinin çoğu (albüminin tamamı, fibrinojen ve globulinlerin büyük kısmı) karaciğerde sentezlenir. Az miktarda globulin ise retiküloendotelial dokularda üretilir (94). Genel olarak hemoglobin de dahil edilirse, proteinlerin %5-7'si plazmada, %20 veya daha fazlası ise tüm kanda bulunur (94).

Hiperproteinemi başlıca hemokonsantrasyonda görülürken hipoproteinemi böbrek ve bağırsaklardan albumin kaybı, büyük kanamalar, karaciğer yetersizliği ve yetersiz protein alımı olaylarında görülür (79).

Erişkin hayvanlardaki serum total protein konsantrasyonları sığırdaki 6.7-7.4 g/dl'dir (5,15,79,94).

3.6.1. Albümin

Albümin, serum elektroforezde en çok bulunan proteindir. Hayvanlarda total serum proteinlerinin %35-50'sini oluşturur. Albümin metabolik olarak aktif tüm dokular tarafından katabolize edilir (94).

Metabolize edilme oranı albüminin yarı ömrü ile ilişkili olup türlere göre değişir ve sığırdaki 16.50 gündür (94).

Albümin en fazla depolanan ve amino asit taşıyan proteindir. Serumdaki miktarının fazla olması, küçük hacmi ve plazmanın osmotik aktivitesinin ortalama %75'ini sağlaması nedeniyle osmotik olarak en aktif plazma proteindir. Albüminin diğer en önemli fonksiyonu bağlayıcılık ve taşımadır(88,94).

Hipoalbuminemi büyük kanamalar, böbrek veya bağırsak yoluyla albumin kaybı, amiloidosis ve bakteriyel enfeksiyonlarda görülür (15,79).

Erişkin hayvanlardaki albumin konsantrasyonları sığırdaki 3.5 (3-4) g/dl'dir (5,15,79,94).

3.6.2. Globulinler

Alfa ve β -globulinlerin başlıca fonksiyonu değişik lipidleri ve lipid benzeri yapıları taşımaktır. Globulinlere bağlanarak taşınan bu lipidlere lipoproteinler adı verilmektedir (94).

Hiperglobunemi ağır, irinli, septik yangısel olaylarda (RPT, abdominal apse, kronik pnömoni, göbek absesi gibi durumlarda gözlenirken (15, 79), yaşam şansı az olan sepsisli buzağılarda hipoglobunemi gözlenir (79).

3.6.2.1. Alfa globulinler

Ruminantlar hariç çoğu türde globulinler arasında en hızlı hareket eden α -globulinlerdir. α_1 (hızlı) ve α_2 (yavaş) fraksiyonları vardır. Genel olarak α_1 -globulinler α_2 -globulinlerden daha küçük olmasına rağmen bu iki fraksiyon arasında fonksiyonel bir fark yoktur (94).

Alfa - globulinler seruloplazmin olarak isimlendirilmiş bir glikoprotein komponentini de kapsarlar. Seruloplazmin bakırın taşıyıcısıdır. Heptaglobulin de α - globulinler içinde yer alır ve hemoglobine bağlanarak hemoglobini taşır (94).

Erişkin hayvanlardaki alfa - globulin konsantrasyonları sığırdaki 1.0 (0.7-1.3) g/dl'dir (15,79,94).

3.6.2.2. Beta-globulinler

Ruminantlar hariç çoğu hayvanda β -globulinler β_1 (hızlı) ve β_2 (yavaş) fraksiyonlar olarak hareket ederler. Bu fraksiyonun önemli proteinleri komplement (C_3 , C_4), hemopeksin, transferrin, ferritin ve C-reaktif proteindir (94).

Demirin taşınması β -globulinlerle ilgili olabilir. Demirin bağlanmasından sorumlu olan glikoprotein transferin ve siderofilin olarak isimlendirilir. Taşıma işlemi demirin absorbe edildiği intestinal sistemden, karaciğer ve dalağın içinde bulunduğu depo yerlerine kadar olur (94).

Erişkin hayvanlardaki beta - globulin konsantrasyonları sığırdaki 0.6 (0.5-1.0) g/dl'dir (15,79,94).

3.6.2.3. Gama-globulinler

Çoğu hayvan türünde, γ -globulin fraksiyonu da γ_1 (hızlı) ve γ_2 (yavaş) olarak bulunur. Hayvanlardaki IgA, IgM ve IgE başlıca γ_1 bölgesinde bulunurken, IgG γ_2 bölgesinde bulunur. İmmunglobulinler ve spesifik antikorlar antijenik uyarıya cevap olarak plazma hücrelerinin proliferasyonu ile üretilirler. İmmunglobulinler IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE olarak sınıflandırılmışlardır ve IgG normal hayvanlarda en fazla bulunan Ig'dir (88,94). Sığırlarda IgD bulunmamaktadır (6).

Yeni doğan çoğu hayvanda plazma γ -globulin konsantrasyonları plasenta engelini aşamadıklarından veya yetersiz derecede aştıklarından düşüktür. Fötüs bu globulinleri sentezleyemez. Yeni doğan hayvanlar yeterince kolostrum aldıklarında γ -globulinler kolaylıkla bağırsak bariyerini aşabilir ve pasif immüniteyi sağlar (88).

Erişkin hayvanlardaki gama - globulin konsantrasyonları sığırdaki 2.0 (1.9-2.5) g/dl'dir (79).

Dolaşımdaki antikorların ortalama %75'ini IgG oluşturur ve plazmadaki antikorların büyük çoğunluğunu içerir. Nispeten küçük molekülüdür ve bütün ekstrasellüler bölümlerde bulunur. IgG dalak, lenf nodülleri ve kemik iliğindeki plazma hücreleri tarafından üretilir ve salgılanır. Bakteri toksinleri gibi suda eriyen antijenler IgG sentezini stimüle ederler. IgG komplemanı bağlar ve buzağılar dışında plasenta engelini aşabilir (88,94).

Damar cidarını aşarak ekstravasküler sıvıya geçebilen IgG'ler, bir enfeksiyon halinde IgM'lerden sonra kanda ortaya çıkarlar. IgG'nin diğer biyolojik işlevleri arasında komplemanı bağlama, dokularla birleşme (erken tipte

aşırı duyarlılık), antiviral, antibakteriyal etki ve opsonizasyon yer alır. Mikrobiyal toksinlere veya diğer eriyebilir antijenlere bağlanarak bunları nötralize eder ve vücuttan hızla uzaklaştırılmasını sağlar.

Sığırların serumunda 100 ml'de 1700-2700 mg kadar IgG saptanmıştır (6).

Dolaşımdaki immunglobulinlerin ortalama %20'sini IgA oluşturur. Gastrointestinal, solunum yolu mukozalarındaki ve lenfoid dokulardaki plazma hücrelerinde büyük miktarda IgA sentezlenir. IgA komplemant bağlamaz ve plasenta engelini aşamaz (88,94). IgA tükürük, ter ve kolostrum gibi sekresyonlarda bulunan bir glikoproteindir.

İmmünizasyon veya enfeksiyon sırasında IgA'ların sekretlerdeki miktarlarında artış meydana gelir. IgA yeni doğanların sekret ve ekskretlerinde yok denecek kadar azdır. IgA'lar insan kolostrumunun esas immunglobulinleri olmasına rağmen sığırların kolostrumunda asıl olarak IgG'ler bulunmaktadır. Ancak sütte IgA'lar, IgG'lerden daha fazla orandadır.

Salgısal IgA'lar serumdakine oranla çok daha fazla (8-10 misli) antikor aktivitesine sahiptir. Salgısal IgA'lar mikroorganizmaların vücut yüzeylerine yapışmasına ve kolonize olmalarına mani oldukları gibi mikroorganizmalara bağlanarak toksinleri nötralize ederler.

Sığırların serumunda 100 ml'de 1-50 mg IgA düzeyi saptanmıştır (6).

IgM çok büyük moleküle sahip olduğundan hemen hemen tamamen intravasküler olarak bulunur ve başlıca kanda görev alır. Damarlardan geçemez ve bu nedenle de doku sıvılarındaki ve mukozal yüzeylerdeki bağışıklık olaylarına çok az katılır. Dolaşımdaki immunglobulinlerin %7'sini oluşturur. Bir enfeksiyona cevapta ilk olarak sentezlenen antikorların büyük çoğunluğunu IgM

oluşturur. Komplement bağlayabilmesine karşın plasentayı aşamaz. Fötüste de sentezlenir (6,94). IgM kanda 5 IgM monomerinin birleşmesinden oluşan pentamer şeklinde bulunur. Pentamerik IgM dalak, lenf nodülleri ve kemik iliğindeki plazma hücreleri tarafından üretilir ve salgılanır. IgM nispeten az üretilmesine rağmen aglütinasyon, opsonizasyon, komplement aktivasyonu ve nötralizasyonunu IgG'ye nazaran daha etkili gerçekleştirebilmektedir (6).

Sığırların serumunda 100 ml'de 250-400 mg IgM düzeyi saptanmıştır (6).

IgE gastrointestinal ve solunum yolu mukozası ile nazofarenksin lenfoid dokusunda yer alan plazma hücrelerinde sentezlenir. Dolaşımdaki IgE, hücre yüzeylerine ve özellikle mast hücreleri ve bazofillerin yüzeylerine süratle bağlanır. Dolayısıyla plazma düzeyi son derece düşüktür. Allerjik hastalıklarda (amfizem, paraziter invazyonlar) konsantrasyonları artar (88,94). Antiviral ve antibakteriyel etkinlikleri yok denecek kadar zayıftır ve allerjik olaylarda görev alan en önemli immunglobulin sınıfıdır (6).

3.6.3. Fibrinojen

Fibrinojen en büyük moleküler ağırlıklı plazma proteindir ve globulin olarak sınıflandırılır. Fibrinojen hepatik paransimal hücrelerin mikrozomlarında üretilir ve karaciğerde depolanır. Başlıca fonksiyonu, hemostazis sırasında fibrin oluşumunda trombin için substrat oluşturmaktır. Fibrinojen, fibrinin ana prekürsörüdür ve koagülasyonda dominant role sahiptir (88,94).

Fibrinojen akut faz proteindir. Aktif yangısal hastalıklarda konsantrasyonu artar ve yangısal cevabın değerlendirilmesinde faydalı bir

gösterge'dir. Yüzeysel fagositozisi artırarak fibrinöz eksudatların antibakteriyel savunmasına katkıda bulunduğu öne sürülmüştür (94).

Erişkin sığırlarda serumda fibrinojen düzeyi 200-700 mg/dl arasındadır. Tüketimin artması, fibrinolizis veya diffuz karaciğer hasarı nedeniyle sentezin azalması durumunda miktarları azalırken irinli, travmatik ve neoplastik hastalıklarda düzeyleri artar (94).

3.7. Şap Hastalığı

Şap hastalığı çift tırnaklı hayvanların akut seyirli, çok bulaşıcı, ateşli ve viral bir hastalığıdır. Çok bulaşıcı olması, hayvanlarda verim düşüklüğüne ve özellikle kültür ırkı sığırlarda, genç hayvanlarda ölümlere yol açması nedeniyle üzerinde çok durulan ve mücadele için hiçbir fedakarlıktan kaçınılmayan bir hastalıktır. (4,7,12,15,33,60).

3.7.1. Etiyoloji

Hastalığın etkeni Picorna virus ailesinin Aphtovirus genusunun bir üyesidir. Şap virusu epiteliotrop bir virustur ancak myotrop özelliği de vardır. Şap virusunun immunolojik özellikleri birbirinden farklı 7 serotipi mevcuttur. Bunlar; A, O, C, Sat 1, Sat 2, Sat 3 ve Asia 1 tipleridir (4,7,12,15,33,60). Bu tiplerin de yaklaşık 60 alt tipi mevcuttur ve ana tipler ile alt tipler arasında çapraz bağışıklık yoktur (12,15).

Virus normal şartlarda dış ortamda haftalarca canlılığını korur (7,15,33). Ancak güneş ışığı ve yüksek ısıya dayanıksızdır (18). Virus pH 6.5'ten aşağı veya 11.0'den yukarı olduğunda inaktive olur. Süt ve süt ürünlerindeki virus 70°C'de

15 saniye ve pH 4.6 ile 6.7 arasında 9 saniye canlı kalabilir. Bunun yanısıra virusun dayanıklılığı ısının azalması ile artar; hücre kültürlerinde +4°C'de bir yıl kadar canlılığını koruyabilir. Dondurulmuş et, kemik iliği ve lenf bezlerinde de uzun süreler canlılığını sürdürebilir (60).

3.7.2. Epidemiyoloji

Başta sığır ve domuzlar olmak üzere çift tırnaklı evcil ve yabani hayvanlar hastalıktan etkilenir. Virus dış ortamda haftalarca canlı kalabildiği için bulaşma olanakları çok geniştir (4,7,12,15,33,60). Bir bölgede hastalık çıktığında hastalık duyarlı sığırlar arasında çok hızlı yayılır. Hastalıkta morbidite yüksek, mortalite düşük (4,7,15,33) olmasına rağmen (erişkin hayvanlarda %2, genç hayvanlarda %20) bazı durumlarda %50'lere ulaşabilir (12). Hastalık hızlı yayılımı, kilo kaybı, süt veriminin azalması, genç ve duyarlı hayvanlarda ölümler nedeniyle büyük ekonomik kayıplara neden olur (4,12,15,33).

Şap virusu hastalığın görülmediği bir bölgeye aşağıda belirtilen yollarla girebilir;

1. Enfekte hayvanlarla direk ve indirek temas.
2. Aerosol yoluyla yayılma: Enfekte hayvanlarla temas eden bir kişinin solunum yolu yaklaşık 24 saat süreyle virusu taşır ve duyarlı hayvanları enfekte edecek bir kaynaktır.
3. Kontamine artıklarla beslenme (süt, et, kan, kemikler, peynir v.s.)
4. Suni tohumlama
5. Kontamine objelerle temas (eller, ayakkabı, elbise) (60).

Virus aerosollerde uzun süre canlı kalır. Hayvanda klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce ve sonra idrar, süt, feces ve semen gibi tüm ekskretler enfektiftir. Bunun yanı sıra en fazla enfeksiyon riskinin olduğu dönem ağızdaki veziküllerin açıldığı dönemdir. Çünkü veziküller en yüksek konsantrasyonda virus içerirler (12,33).

Şap virusu ile enfekte sığırlarda lezyonlar domuz, koyun ve keçilerden daha hızlı gelişir ve daha şiddetli olur. Sığırların daha büyük solunum volümüne sahip olmaları nedeniyle bu türler etkene birlikte maruz kaldıklarında ilk hastalanan sığırlar olur (60).

Birçok ruminant türü şap virusunun taşıyıcısı olup virus farinks bölgesine yerleşerek uzun süre kalır. Bir enfeksiyondan iyileşmiş veya aşıli sığırlar 6-24 ay süreyle hastalığın taşıyıcısı olabilir ve diğer hayvanlara hastalığı nakledebilirler. Koyunlar 4-6 ay kadar hastalık taşıyıcısı olabilirler (60). Sığır, koyun ve keçilerin %50 kadarı taşıyıcı olabilirken domuzlar taşıyıcı değildirler (12).

3.7.3. Patogenezis

Virus hayvan vücuduna sindirim ve solunum yolu mukozasından ve zarar görmüş deriden girebilir. Vücuda ilk girdiği yerde mukoza epiteli hücrelerinde çoğalarak primer vezikül meydana getirir. Çoğalan virus kısa zamanda kana geçerek hastalığın viremi devresini (2-3 gün süren) başlatır. Hastalık sadece hayvanın ağız ve tırnaklarındaki klinik lezyonlar şekillendiğinde farkedilir. Etken sonradan kan dolaşımı ile ağız mukozası, tırnak arası deri, meme başları ve bazen de vulva, rumen, özefagus mukozasına yerleşerek sekonder vezikülleri oluşturur. Lezyonlar, lokal irritasyon nedeniyle ağız mukozası epitelyumunun hiperplastik

bölgesinde ortaya çıkar. Ayrıca duyarlı hayvanların kalp ve iskelet kaslarına yerleşerek dejenerasyonlar yapar ve akut kalp yetersizliği nedeni ile ölümler oluşur (7,12,33).

3.7.4. Klinik Bulgular

Sığırlarda tipik saha olgularında inkubasyon süresi genellikle 2-9 gün arasında değişir. Başlangıçta ani süt verimi düşüşü, yüksek ateş (40-41°C), durgunluk ve iştahsızlık vardır. Hastalığın ikinci veya üçüncü gününde ağızda (dil, dişeti, dudakların iç kısmı, yanaklar, burun delikleri ve mermede) sekonder veziküller şekillenir. Veziküller kalın duvarlı, kolaylıkla parçalanabilen ve saman rengi bir sıvı ile doludurlar. Oluşan veziküller 24 saat içerisinde patlar ve yaklaşık olarak bir haftada iyileşen ağrılı yüzeyler ortaya çıkar. Bu dönemde bol salivasyon gözlenir. Ağızdan iplik tarzında tükürük akar ve karakteristik dudak şapırtısı vardır. Ağız lezyonlarına eş zamanlı olarak, ayakta özellikle tırnak arası ve koronar bölgede veziküller şekillenir. Bu veziküllerin açılmasıyla hayvanda topallık ve sıklıkla yatalıklık ortaya çıkar. Meme başında oluşan veziküller nedeniyle şiddetli mastitis şekillenebilir. Abortus ve takiben infertilite yaygın sonuçlardır. Lezyonlar iyileşinceye kadar 2-3 gün süre ile yem yeme azalır. Genç buzağılar hastalığa daha duyarlı olup bir salgın sırasında tipik semptomlar oluşmadan ölebilirler (4,12,33,60).

Şap enfeksiyonu 2-3 hafta kadar sürer. Gelişen sekonder enfeksiyonlar iyileşmeyi geciktirebilir. Laktasyondaki hayvanlar salgı dokularının hasar görmesi nedeniyle enfeksiyon öncesi verimlerine ulaşamayabilirler (60).

3.7.5. Teşhis

Hastalığın tanısı klinik semptomlara göre (ağız mukozası, tırnaklar arası ve meme başlarında veziküller, erezyonlar, ağızdan sicim tarzında salya akması, topallık, ağız şapırtısı, hayvanın yemini güçlükle alması ve çiğnemesi vs.) kolayca konur (4,7). Ancak bir çok vesiküler hastalık benzer semptomlarla seyrettiği için kesin teşhis ve tip tayini laboratuvar muayeneleriyle yapılır (4,60). Bu amaçla laboratuara;

1. Ağızdaki veziküllerden alınan parçalar,
2. Vezikül sıvısı (mümkün olduğunca çok miktarda),
3. 5 ml antikoagülanlı kan,
4. Kan serumu (10 ml),
5. İyileşme dönemindeki sığır, koyun ve keçilerden özefagal- faringeal sıvı,
6. Ölen hayvanların epitel lezyonlu kısımları, lenf bezleri, tiroid bezi, adrenal bezler, böbrek ve kalp (yaklaşık 10 gr) gibi örnekler gönderilmelidir.

Tüm doku örnekleri formalin içine konmalıdır. Alınan numuneler 24 saat içerisinde laboratuara ulaştırılmayacak ise buz içine, daha uzun süre ulaştırılmayacak ise de derin donduruculara konmalıdır. (4,7,60). Epitel dokular gliserin içerisine konarak +4°C veya -20°C'de tutulmalıdır. Epitelin gliserine oranı 1:10'u geçmemelidir (60).

3.7.6. Tedavi

Hastalığın etkili bir sağaltımı yoktur. Yaygın olarak kullanılan dezenfektanların çoğu pratikte etkili değildir. Ağız, ayak ve meme lezyonları

büzüştürücü antiseptik solüsyonlarla yıkanır. Bu amaçla Vanodin, İodin, Sodyum hidroksit ve formalin solüsyonu (%1-2'lik) veya sodyum karbonat (%4) solüsyonları kullanılır ve bu solüsyonlar birkaç dakika içerisinde virüsü yıkımlar Sekunder enfeksiyonları önlemek için geniş spektrumlu antibiyotikler kullanılır (7,15,33,60).

3.7.7. Kontrol

Ülkemizde ihbarı mecburi bir hastalık olup (Trakya bölgesinde tazminatlı) Hayvan Sağlık Zabıtası Kurallarına göre hareket edilir. Yaygın kontrol önlemleri arasında, hayvanların eradikasyonu, aşılama veya her ikisinin birden uygulanması bulunur. Hastalığın enzootik olduğu bölgelerde eradikasyon işlemi pek pratik değildir. Enfeksiyonun ara sıra görüldüğü bölgelerde enfekte veya kontak halindeki hayvanların imhası düşünülebilir (12, 15, 33).

Enfeksiyon bölgelerinde hayvan hareketlerinin önlenmesi, tecrit, barınakların dezenfeksiyonu, ölen hayvanların yakılması veya derin çukurlara gömülerek imhası gibi önlemler alınmalıdır (4,7).

Aşısız bir anneden doğan buzağı 4 aylık olduğunda ilk aşının ve 8 aylık olduğunda ikinci aşının yapılması tavsiye edilirken, aşılı bir anneden doğan buzağıya ilk aşının 6 aylık olduğunda ve ikinci aşının 10 aylık olduğunda yapılması tavsiye edilir. Buzağılar kolosturumdan sağladıkları maternal antikoru taşıdıkları dönemde aşılardan kaçınılmalıdır (12).

Şap hastalığı yönünden canlı organizmalarda vücudun ilk defa uyarılması halinde bağışıklığı meydana getiren hücrelerin aktivasyonu zayıf olmakta ve buna bağlı olarak da antikor sentezi yeterli olmamaktadır. Antikorsuz bir hayvanda şap

hastalığına karşı kalıcı bir immun cevabın alınabilmesi, düzenli aşılama şartıyla en az 4. veya 5.'ci aşılama sonrası sağlanabilmektedir. İlk aşılama sonrası 4 gün sonra bağışıklık teşekkülü başlar ve 21. günde en yüksek düzeye ulaşır (4). Bağışıklığın oluşumundaki bu süre farkı aşının antijenitesi ile ilişkilidir (12).

Sığırlarda immun cevabın en iyi oluşma zamanı 12-22 aylık yaşlar arasındadır. Transport, başka bir hastalık, kötü sağlık şartları, parazit enfeksiyonları, sıcak, soğuk gibi stres faktörleri bağışıklık oluşumunu engelleyebilir.

Aşılar mutlaka tip spesifik olmalıdır (15). Şap hastalığına karşı kullanılan aşılar sığırlara gerdan bölgesi derisi altına uygulanmaktadır (4,15). Aşılama sonrasında aşılama yerinde fındık veya ceviz büyüklüğünde şişkinlikler oluşabilir. Ancak bu şişkinlikler 4-6 gün içinde küçülür ve kaybolurlar. Aşılama sonrası hafif ateş, iştahsızlık, süt veriminde azalma görülebilir. Bu bulgular birkaç gün içerisinde normale döner (4).

Aşılar mono, bi ve trivalan olarak hazırlanmaktadır. Şap aşısı kullanılıncaya kadar mutlaka +4 ila +8 °C arasında muhafaza edilmelidir. Aşı asla dondurulmamalıdır. Donan aşının koruyucu özelliği kaybolur (4).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç

Araştırmanın materyalini yaklaşık bir yaşında, klinikman sağlıklı, montofon ırkı, erkek 48 adet besi sığırı oluşturmuştur. Besi sığırlarının tamamı Elazığ bölgesindeki besicilik işletmelerinden (12 adedi Akçakiraz beldesi, 24 adedi Kovancılar ilçesi Yarımca köyü ve 12 adedi Kovancılar ilçesi Çaybağı köyü'nden) temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan hayvanlar her grupta 12 hayvan olmak üzere A, B, C ve D olarak 4 gruba ayrılmıştır:

A grubundaki sığırlara sadece şap aşısı,

B grubundaki sığırlara şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini,

C grubundaki sığırlara şap aşısı + aşılama sırasında AD₃E vitamini,

D grubundaki sığırlara ise şap aşısı + aşılama sırası ve sonrası 3. günde C vitamini + aşılama sırasında AD₃E vitamini uygulanmıştır.

Besi hayvanlarına Şap Enstitüsü'nün ürettiği Elazığ İl Tarım Müdürlüğü'nden temin edilen trivalan şap aşısı (Tip A, O ve Asia 1) gerdan bölgesine sc uygulanmıştır. AD₃E vitamini uygulanan sığırlara Adevilin* 2ml/100 kg CA ve C vitamini uygulanan hayvanlara Vit Ce** 10ml/100 kg CA dozunda uygulanmıştır.

***Adevilin:** Her ml'de 500.000 IU vitamin A, 75.000 IU vitamin D₃ ve 50 mg vitamin E içeren 100 ml'lik ambalaj. Vilsan.

****Vit Ce:** ml'de 200 mg vitamin C içeren 10 ml'lik ampul. Sanovel.

Tüm gruptaki hayvanlara yem olarak saman, kepek, arpa ezmesi ve besi yeminden oluşan yem karışımı, ayrıca A ve C grubundaki hayvanlara bu karışıma ek olarak yeşil ot verilmiştir.

Araştırma, klinik ve laboratuvar muayeneleri olmak üzere iki safhada yürütülmüştür.

4.2. Klinik Muayeneler

Tüm hayvanların aşılama öncesi, aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerde olmak üzere toplam dört kez klinik muayeneleri yapılmıştır. Yapılan klinik muayenelerde vücut sıcaklığı, kalp frekansı, solunum frekansı ve rumen hareketleri yanında, özellikle lenf yumruları, görülebilen mukoza ve konjunktivalar ile tırnak araları kontrol edilmiştir (12,79).

4.3. Laboratuvar Muayeneleri

4.3.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Serumun Çıkarılması

Araştırma hayvanlarından laboratuvar muayeneleri için aşılama öncesi ve aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerde olmak üzere 4 kez v. jugularis'lerinden steril kanüllerle yöntemine uygun olarak kan örnekleri alınmıştır.

Hematolojik muayeneler için kan örnekleri önceden hazırlanan EDTA'lı tüplere (5 ml'lik plastik tüplere %10'luk EDTA solüsyonundan 0.2 ml konup kuruyuncaya kadar buharlaştırılmıştır) alınmış, 5-6 kez alt-üst edilerek antikoagulantla iyice karışması sağlanmıştır.

Diğer laboratuvar muayeneleri için (kan serumunda vitamin A, β -karoten vitamin E ve vitamin C düzeylerinin saptanması, total proteinler, serum

elektroforezi ve yapılan şap aşısına karşı şekillenen antikor titrasyonu ölçümü amacıyla) 10 ml'lik steril tüplere kan alınmış ve 37°C'deki benmaride 1 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra 3000 Rpm'de 15 dk santrifüj (Janetzki TH 12) edilmiştir. Üstteki serum cam bir tüpe alınarak yukarıdaki belirtilen muayeneler yapılmıştır.

4.3.2. Hematolojik Muayeneler

Hematolojik muayenelerden; formül lökosit, total lökosit sayımı, hematokrit değer ve hemoglobin miktarı tayini yapılmıştır.

4.3.2.1. Total Lökosit Sayımı

Akyuvar sulandırma pipeti, Türk eriyiği, Thoma lamı ve lameli kullanılarak tekniğine uygun olarak sayım yapılmıştır (104).

4.3.2.2. Formül Lökosit

Temiz bir lam ve lamel kullanılarak tekniğine uygun hazırlanmış ve boyanmış kan frotisinde toplam 100 adet değişik tipteki akyuvarlar sayılarak yapılmıştır (104).

4.3.2.3. Mikrohematokrit Değer

Hematokrit ölçümleri için mikro yöntem (kılcal tüp yöntemi) kullanılmıştır. Bu amaçla 1.3-1.4 x 75 mm'lik kılcal tüplere doldurulan kanın bir ucu cam macunuyla kapatıldıktan sonra Janetzki marka santrifüjle dakikada

12000 devirde 5 dk santrifüj edilmiş ve özel okuma cetveli kullanılarak sonuç yüzde olarak okunmuştur (104).

4.3.2.4. Hemoglobin Miktarı Tayini

Hemoglobin miktarı tayini için, asit hematin yöntemi (Sahli yöntemi) kullanılmıştır. Sahli hemoglobinometresinin dereceli tüpüne 2 çizgisine kadar 0.1 N'lik HCL konmuştur. Pipetin 0.02 çizgisine kadar kan alınmış ve pipetin ucundaki kan silindikten sonra kan hemometrenin dereceli tüpündeki asit içine boşaltılmıştır. Karışımdan birkaç kez çekilerek pipetin içindeki kan bulaşığının da dereceli tüpe aktarılması sağlanmıştır. Yaklaşık bir dakika bekledikten sonra damlalıklarla damla damla distile su damlatılmış ve her dört damlada bir cam çubukla iyice karıştırılmıştır. Dereceli tüp içindeki karışımın rengi yandaki kontrol çubuklarının rengine eşit oluncaya kadar damlatma ve karıştırma işlemi sürdürülmüştür. Renk uyumu sağlandığında dereceli tüpün üzerindeki hemoglobin miktarı % gr olarak okunmuştur (104).

4.3.3. Serumda Vitamin Düzeylerinin Tayini

4.3.3.1. A vitamini ve β -karoten Tayini

Serum örneklerinde A vitamini ve β -karoten tayinleri Suziki ve Katoh'un bildirdikleri (87) UV-Spektrofotometrik metotla yapılmıştır.

Prensip:

Serumda β -karoten ve retinol analizi işlemi, örnekler spektrofotometrede sırasıyla 453 ve 325 nm'de maksimum ışık absorpsiyonuna maruz bırakılmıştır.

Ayır a lar:

1-Butyleted Hydroxytoluene, BHT (Sigma, B-1378)

2-Absolut Ethanol %99.5 (Merck): Distile su ile % 96'lık etil alkol hazırlanmış ve her ml'de 20 µg olacak şekilde butyleted hydroxytoluene (BHT) eklenmiştir.

3-n-Hexane (Merck, 4368)

4-Standart  ozeltiler: Araştırmada kullanılan β-karoten ve retinol standartları (Merck) temin edilmiş ve +5 derecede muhafaza edilmiştir. Tüm standartlar n-Hexane'de hazırlanmıştır.

a- Retinol standardı (1 µg/dl): Saf retinolden 10 mg hassas bir terazide tartılarak n-Hexane'da eritilmiş ve 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu stok retinol standardından (10 mg/dl) peş peşe n-Hexane ile dilüsyonlar yapılarak 1 µg/dl retinol çalışma standardı hazırlanmıştır.

b- β-karoten standardı (1 µg/dl): Saf β-karoten'den 10 mg tartılarak 100 ml n-Hexane ile  ozdrlmştir. Bu stok standarttan (10 mg/dl) n-Hexane ile yapılan dilüsyonlarla 1 µg/dl β-karoten çalışma standardı hazırlanmıştır.

Prensip:

Işık geçirmeyen (alimünyum folye ile sarılan ve böylece vitamin A'nın işık ile yıkımlanması nlenen) bir santrifüj tüpüne taze veya  ozlmş serum örneklerinden 1 ml alınmıştır. Serum zerine 1 ml etanol (antioksidan olarak 20 µg BHT içeren) ve daha sonra 3 ml n-Hexane eklenmiştir. Karışım 10 dk elle karıştırılmış ve daha sonra 2000 Rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Üst fazda kalan hexan ekstraktından 3 ml bir spektro küvetine alınmış (Schimadzu UV-1202

spectrophotometer), β -karoten ve retinol için sırasıyla 453 ve 325 nm'lerde absorbanslar okunmuştur.

Hesaplama:

β -karoten ($\mu\text{g/dl}$): $A_{453} / 0.00258$

Retinol ($\mu\text{g/dl}$): $\frac{A_{325} \cdot (\beta\text{-karoten konsantrasyonu} \times 0.00017)}{0.00182}$

0.00258 : 1 $\mu\text{g/dl}$ β -karoten standardının 453 nm'deki absorbansıdır.

0.00017 : Aynı β -karoten standardının 325 nm'deki absorbansıdır.

0.00182 : 1 $\mu\text{g/dl}$ retinol standardının 325 nm'deki absorbansıdır.

4.3.3.2. Serumda C Vitamini Tayini

Serumdaki C vitamini düzeyi fosfotungustat metodu kullanılarak kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (49). C vitamini tayininde gerekli reaktifler aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

1- Renk Reaktifi (Phosphotungstate acid)

A karışımı: 20 gr sodyum tungstate ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), 10 gr disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ile karıştırılmış, 30 ml distile su ilave edilerek ve ıstılarak eritilmiştir.

B karışımı: 5 ml sülfirik asit (spec. gravity 1.84), 15 ml distile suya ilave edilmiş, B karışımı sıcak A karışımına yavaş yavaş ilave edilerek 2 saat geri soğutucuda kaynatılmıştır.

2- Standart Solüsyonlar

Stok standart: 50 mg L-Askorbik asit (vitamin C, Merck), 100 ml %0.5 oksalik asit (oxal saure, Merck) solüsyonunda eritilerek hazırlanmıştır.

Çalışma standardı: Stok standart %0.5 oksalik asit solüsyonu ile 50 kez dilüe edilerek %1 mg konsantrasyonunda çalışma standardı hazırlanmıştır.

Prensip:

Üç deney tüpünden birine 2 ml serum, diğerine 2 ml çalışma standardı ve ötekine 2 ml distile su konulduktan sonra üzerlerine 2'şer ml renk reaktifi ilave edilmiş, karıştırılmış ve oda ısısında 30 dk beklendikten sonra tekrar karıştırılarak 3000 Rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantların optik dansiteleri spektrofotometrede çalışma standardına (2 ml'de 20 mg vitamin C) karşı 700 nm'de okunmuştur.

Hesaplama:

$$\frac{\text{Testin absorbansı}}{\text{Standartın absorbansı}} \times \text{Stan. Kon. (mg/dl)} = \text{mg/dl askorbik asit}$$

4.3.3.3. Serumda E vitamini Tayini

Serum E vitamini düzeyleri Martinek yöntemiyle (55) spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir.

Standart solüsyonlar

Stok standart (α -tocopherol 200 mg / 100 ml): 250 ml'lik volümetrik cam kaba 500 mg α -tocopherol konmuş ve üzerine 250 ml absolut etanol ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Bu solüsyon oda ısısında bekletilmiştir.

Çalışma standardı (α -tocopherol 1mg / 100 ml) : 0.5 ml dilüe edilmiş stok standart 100 ml absolut etanolla karıştırılmış ve oda ısısında bekletilmiştir.

TPTZ (0.12%): 2,4,6-tripiryidyl-s-triazine 100 ml n-propanol ile karıştırılmış ve oda ısısında bekletilmiştir. Presipitasyon şekillendiğinde 0.1 ml konsantre HCl ilavesi yapılmıştır.

Ferrik klorid (0.12%): 0.12 gr $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 100 ml absolut etanolde çözdürülmüş ve oda ısısında bekletilmiştir.

Prensip:

Örnek, kör ve standardı oluşturacak şekilde üç deney tüpü alınmıştır. Örnek tüpüne sırasıyla; 1 ml absolut etanol, 1ml serum ve 1 ml ksilen, kör tüpüne; 1 ml absolut etanol, 1 ml distile su ve 1 ml ksilen, standart tüpüne; 1 ml çalışma standardı, 1 ml distile su ve 1 ml ksilen konmuştur. 30 saniye süreyle kuvvetlice çalkalanmış ve 350-450 Rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra tüplerden 0.5 ml ksilen tabakası alınarak küvetlere konmuştur. Her bir küvet üzerine 0.5 ml TPTZ solüsyonu ilave edilmiştir. 460 nm'de körün absorbanı sifira ayarlanmış ve dört dakika içinde örneğin absorbanı okunmuştur. Sonra küvetlere 0.1 ml ferrik klorit solüsyonu ilave edilmiştir. Kör tekrar sıfırlanmış ve 600 nm'de örnek ve standardın absorbanları ölçülmüştür.

Hesaplama:

$$\frac{\text{Örneğin Absorbansı}_{600} - (\text{Faktör} \times \text{Örneğin Absorbansı}_{460})}{\text{Standardın Absorbansı}_{600}} = \text{mg/dl E vitamini}$$

Faktör: Birkaç tüpe değişik konsantrasyonlarda E vitamini solüsyonları hazırlanmıştır (200, 400, 600, 800, 1000 mg E vitamini). Bu solüsyonların önce 460 nm'de sonra da 600 nm'deki absorbanları okunup, sonra birbirine oranlanmıştır. $\text{Absorbans}_{600} / \text{Absorbans}_{460}$ oranı faktörü vermiştir.

4.3.4. Antioksidan Enzim Düzeylerinin Saptanması

4.3.4.1. Katalaz Aktivitesi Tayini

Eritrosit katalaz aktivitesi ölçümü için Aebi metodu (1) kullanılmıştır.

Prensip:

Katalaz aşağıdaki tepkimeye göre H_2O_2 'nin yıkımını katalize eder.



H_2O_2 'nin katalaz tarafından yıkım hızı, H_2O_2 'nin 240 nm dalga boyunda ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Ayırıcılar:

50 mM Fosfat tamponu (pH:7.0)

30 nM Hidrojen Peroksit: 0.34 ml %30'luk H_2O_2 fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Metot:

	Kör (ml)	Örnek (ml)
Fosfat Tamponu	1	-
Hidrojen Peroksit	-	1
Hemolizat	2	2

240 nm'de körle sıfırlandıktan sonra 30 saniye içindeki absorbans farkı ölçülmek suretiyle katalaz aktivitesi hesaplanmıştır.

Hesaplama:

$$k = (2.3 / 30) (\log A_1 / A_2) \times \text{dilasyon}$$

$$\text{Eritrosit için spesifik aktivite} = k / \text{g Hb}$$

4.3.4.2. Super Oksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Tayini

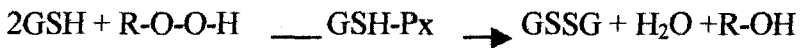
Eritrosit hemolizat SOD aktivitesi, Randox Firmasının enzimatik metoda göre çalışan RANSOD (73) adlı ticari kiti ile Shimadzu UV-1201-V (Shimadzu Corp, JAPAN) marka spektrofotometrede ölçülmüştür.

Prensip:

SOD oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik karakterli superoksit radikallerininin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem kansatin ve ksantin oksidaz kullanılarak oluşturulan superoksit radikallerininin p-iyodo nitro tetrazoolium violet (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazon bileşiğininin 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD superoksidi ortamdaki uzaklaştırarak formazon bileşiği oluşumunu inhibe eder. Oluşan kırmızı rengin şiddeti SOD aktivitesinin büyüklüğü ile ters orantılıdır ve kırmızı renkteki azalmanın belirlenmesi ile SOD aktivitesi ölçülmüştür.

4.3.4.3. Glutatiyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesi Tayini

Eritrosit GSH-Px aktivitesi ölçümü için Beutler metodu (9) kullanılmıştır. GSH-Px, H₂O₂ vasıtasıyla GSH'nin okside glutatiyona (GSSG) oksidasyonunu katalize eder.



Burada R-O-O-H bir peroksittir. T-butil hidroperoksit (t-BOOH) enzim analizi için en uygun substrattır. GSSG'nin oluşum oranı, glutation redüktaz (Graz) reaksiyonu vasıtasıyla ölçülmüştür.



H₂O₂ olarak t-BOOH'in bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, Graz ve NADPH yardımıyla GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'in NADP⁺'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de spektrofotometrik olarak okunmasıyla tayin edilmiştir.

Ayırıcılar:

1-Tris tamponu (pH:8): 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA

2- 0.1 M GSH: GSH solüsyonları taze hazırlanmıştır.

3- 10 Ü/ml Glutatyon Redüktaz

4- NADPH (2 mM)

5- 7 mM t-BOOH: (%70'lik t-BOOH'in yaklaşık 1:1000 sulandırmasından elde edilmiştir). Reaksiyon oranı, güçlü bir şekilde t-BOOH konsantrasyonuna bağlıdır. 7 mM t- BOOH günlük olarak hazırlanmıştır. GSH-Px tayininde EDTA'lı kan kullanılmıştır. Çünkü heparin interferans vermekte ve heparinize kanda GSH-Px aktivitesi anlamlı derecede yüksek gözlenmektedir.

Metot:

	Kör (µl)	Örnek (µl)
Tris tampon (pH:8)	100	100
0.1 M GSH	20	20
10 Ü / ml Glutatyon redüktaz	100	100
2 mM NADPH	100	100
Hemolizat (ya da homogenat)	10	10
Distile su	670	660
37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.		
7 mM t- BOOH	-	10

Sistemin optik dansitesindeki azalma 340 nm'de 0. ve 2.5. dakika da kaydedilmiştir.

Hesaplama:

$$\frac{OD2 - OD1}{t} \times \frac{1}{6.22 \times 0.01} = \text{Ü/gHb}$$

Hb (g/ml)

4.3.4.4. Lipit Peroksidasyon (Plazma Malondialdehit) Düzeyinin Tayini

Prensip:

Plazmada lipit peroksit (MDA) ölçümü Satoh (82) ve Yogi (103) tarafından modifiye edilen yonteme göre spektrofotometrik olarak yapılmıştır. Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyo barbütirik asit (TBA) ile ölçülebilen MDA meydana gelir. Yağ asiti peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve 532 nm'de maksimum absorbans göstermektedir.

Ayıracılar:

- 1- 0.084 N (N/12) Sülfirik asit (H₂SO₄)
- 2- %10 Fosfotungstik asit (PTA)
- 3- Tiyobarbitürik asit (TBA) ayıracı: 33.5 mg TBA 5 ml distile suda çözdürülmüş ve 5 ml glasiyel asetik asit eklenerek 10 ml ye tamamlanmıştır. Ayraç günlük hazırlanmıştır.
- 4- N-Butanol
- 5- Standart: 1,1,3,3-Tetraetoksipropan (TEP)

Metot:

	Örnek (ml)	Kör (ml)	Standart (ml)
plazma	0.3	-	-
N/12 H ₂ SO ₄	4.0	-	-
İyice karıştırılır			
%10 TPA	0.5	-	-

İyice karıştırılmış ve oda ısısında 5 dk beklenmiştir. 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş, süpernatant atılarak presipitat kullanılmıştır.

Distile su	3.0	-	-
------------	-----	---	---

Presipitat iyice homogenize edilmiş, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant atılmış ve presipitat alınmıştır.

Standart	-	-	1.0
Distile su	4.0	4.0	4.0
Presipitat iyice homogenize edilmiştir.			
TBA ayırıcı	1.0	1.0	1.0

İyice karıştırılmış, 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş üst faz

absorbansı 532 nm'de okunmuştur.

Hesaplama:

$$4.1 \times \frac{\text{Örneğin optik dansitesi}}{\text{Standartın optik dansitesi}} \times \frac{1}{0.3} = \text{Plazma MDA (nmol/ml plazma)}$$

4.1= standardın katsayısı

0.3= Örneğin hacmi

4.3.5. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez (Sds-

Page)

SDS-PAGE, Laemmli metodu (50) Hofer SE 250 sistemine uyarlanarak

gerçekleştirilmiştir.

Prensip:

Poliakrilamid jel, akrilamid monomerinin serbest fonksiyonel gruplarıyla reaksiyona giren N,N'-metilen bisakrilamid gibi bifonksiyonel bileşikler aracılığıyla karşılıklı bağlanarak polimerize olmasıyla şekillenmiştir.

Akrilamidin polimerizasyonu, amonyum persülfat ilavesiyle başlatılmış, N,N,N',N' tetrametilendiamin (TEMED)' in ilavesiyle polimerizasyon oluşumu hızlandırılmıştır. Amonyum persülfat-TEMED sisteminde TEMED, persülfattan serbest radikallerin oluşumunu katalize etmiş ve oluşan serbest radikalleri polimerizasyonu başlatmaya yöneltmiştir. TEMED yada amonyum persülfat konsantrasyonundaki artışlar polimerizasyonu hızlandırmıştır. Oksijen polimerizasyonu inhibe ettiği için jeller dökülmeden önce degaze edilmiştir.

Poliakrilamid jellerdeki por boyutu, total akrilamid konsantrasyonuna bağlıdır (% 3.5–20). Düşük akrilamid konsantrasyonu büyük porlu, yüksek akrilamid konsantrasyonu küçük porlu jelleri oluşturur. Porlaşma, polimerizasyon zincirinin uzunluğu ve karşılıklı bağlanma derecesiyle belirlenir. Karşılıklı bağlanmanın bir molü akrilamidin 29 monomerini içerir .

Poliakrilamid jellerde çok yaygın olarak kullanılan çözücü ajan iyonik bir deterjan olan sodyum dodesil sülfat (SDS)' tir. Protein karışımı, SDS ve 2-merkaptoetanol varlığında ısıtıldığında proteinlerin disülfid bağları kırılarak denatüre edilirler. Bu şartlar altında, bir çok polipeptid ağırlığına göre SDS' i bağlar (Proteinin her gramı 1.4 g SDS bağlar). İndirgeyici ajanların varlığında proteinlere SDS' in bağlanmasının iki önemi vardır. Birincisi proteinin natif yükünün tamamen yok olmasıdır. Böylece yük / kütle oranı tüm proteinler için sabitlenir. İkinci olarak, negatif yüklü SDS molekülleri arasında elektrostatik geri

itme, hem intramoleküler hem de intermoleküler tüm non-kovalent protein-protein ilişkilerini bozar. Böylece SDS' in proteine sabit bir yük / kütle oranına sahip değişmez bir yapı kazandırdığı varsayılabilir. Bunun sonucunda SDS-polipeptid komplekslerinin yük dansiteleri aynı olur ve polipeptid boyutuna göre poliakrilamid jelde göç ederler.

Proteinler, küçük porlu rezolving jelde elektroforezde separe olmadan önce büyük porlu stacking jel boyunca göç sırasında depolanır ve sıkılaştırılır. Stacking jelde stoklanmış proteinler, rezolving jeldeki moleküler elek etkisine bağlı olarak, iç yük ve polipeptid boyutlarına göre separe edilirler.

Solüsyonlar:

I. Akrilamid Stok Solüsyonu (% 30)

14.6 g akrilamid ve 0.4 g N,N'-metilen bisakrilamid 50 ml' ye distile suyla tamamlanmıştır. Süzgeç kağıdından geçirilerek süzölmüştür. Koyu renkli şişede +4 °C' de en fazla 2 hafta saklanmıştır.

II. Rezolving Jel Tamponu (1.5 M Tris-HCl, pH: 8.8)

18.15 g tris yaklaşık 60 ml distile suda eritilmiş ve 1 N HCl ile pH 8.8' e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 ml' ye tamamlanmış ve +4 °C' de saklanmıştır.

III. Stacking Jel Tamponu (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8)

6.1 g tris yaklaşık 80 ml distile suda eritilmiş ve 1 N HCl ile pH 6.8' e ayarlanmıştır. Toplam hacim 100 ml' ye tamamlanmış ve +4 °C' de saklanmıştır.

IV. Tris-Glisin Elektrod Tamponu (pH 8.3)

1.515 g tris, 7.2 g glisin ve 0.25 g sodyum dodesil sülfat (SDS) distile suyla 500 ml' ye tamamlanmıştır.

V. Örnek Tamponu

4 ml distile su, 1 ml 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8 (stacking jel tamponu), 0.8 ml gliserol, 1.6 ml % 10 SDS, 0.4 ml 2-β-merkaptöetanol, 0.2 ml % 0.05 bromfenol blue karıştırılmıştır. Koyu renkli şişede, oda ısısında en fazla 3 ay saklanmıştır.

VI. % 10 (v/w) SDS

10 g SDS 50 ml distile suda hafifçe karıştırılarak çözülmüş ve toplam hacim 100 ml' ye tamamlanmıştır.

Jel kompozisyonları aşağıda özetlenmiş olup belirtilen maddeler birbirine ilave edilerek cam plakalar arasına dökülmüştür.

	Rezolving Jel (% 10)	Stacking Jel (% 4)
distile su (ml)	2.005	3.02
Tris-HCl pH 8.8 (ml)	1.25	-
Tris-HCl pH 6.8 (ml)	-	1.25
% 10 SDS (µl)	50	50
Akrilamid stok (ml)	1.67	0.65
APS (µl)	25	25
TEMED (µl)	2.5	5.0

VII. % 10 (v/w) Amonyum Persülfat (APS)

10 mg amonyum persülfat üzerine 100 µl distile suda ilave edilmiştir.

Kullanmadan hemen önce taze olarak hazırlanmıştır.

VIII. Bromfenol Blue Solüsyonu

50 mg Bromfenol blue distile su ile 10 ml tamamlanmıştır.

IX. % 5 Asetik Asit Solüsyonu

50 ml Asetik asit distile su ile 1 L' ye tamamlanmış ve Jeller bu solüsyonda saklanmıştır.

4.3.6. Serum Total Protein Düzeyinin Ölçülmesi

Ölçümler, Biocon marka ticari kit kullanılarak schimadzu UV-1200 serisi P/N 206-62409 marka spektrofotometrede yapılmıştır.

Prensip

Total proteinin kolorimetrik olarak tespiti Biüret reaksiyonunun prensipleri temeline dayanır (alkali ortamda bakır tuzları). Plazma veya serum örneklerindeki proteinler alkali solüsyondaki cypric iyonları ile muamele edildiğinde mavi renkli bir kompleks meydana gelir. Mavi rengin yoğunluğu protein miktarını verir.

Ayıraçlar ve konsantrasyonları

Ayıraç/R₁: (biüret solüsyonu)

Potassium iodide	30 mmol/l
Potassium sodium tartate	32 mmol/l
Copper sulphate	18 mmol/l
Sodium hydroxide	200 mmol/l

Ayıraç/R₄: (standart)

Albumin bovine fraction V 6 g/100 ml

Hazırlama ve kalıcılık

Ayıraç ve standartlar kullanıma hazırdır. Ayıraç +5 ile +20 °C'de saklanmıştır.

İşlem

Kör, standart ve örnek olmak üzere 3 deney tüpü alınmıştır. Köre 1000 µl Ayıraç/R₁, standart'a 1000 µl Ayıraç/R₁, 20 µl standart/R₄ ve örneğe 1000 µl Ayıraç/R₁ ve 20 µl taze serum konulmuştur. Karışım 10 dk oda ısısında bekletilerek, spektrofotometrede (546 nm) örnek ve standardın absorbansı köre karşı okunmuştur.

Hesaplama

Örneğin absorbansı X standardın konsantrasyonu = Protein (g/dl)

Standardın absorbansı

Standart konsantrasyonu: 6 g/dl.

4.3.7. Şap Aşısına Karşı Oluşan Antikor Titrelerinin Ölçülmesi

Bu ölçümler, Şap Enstitüsü Müdürlüğü Laboratuvarlarında tekniğine uygun olarak Liquid Faiz Blocking ELISA (35) yöntemiyle yaptırılmıştır.

4.3.8. İstatistikî Analizler

İstatistikî hesaplamalar SPSS Ms Windows Release 10.0 bilgisayar programı kullanılarak, gruplar arası farklılığın istatistiksel önemliliği Varyans analizi yöntemiyle Duncan testine göre ve grup içi günler arasındaki farklılıkların istatistiksel önemliliği ise t-testi (paired) kullanılarak yapılmıştır.

5. BULGULAR

Bulgular klinik ve laboratuvar bulguları olarak iki bölümde incelenmiştir.

5.1. Klinik Bulgular

Araştırmaya alınan sağlıklı besi hayvanlarının günlere göre klinik muayene bulguları Tablo 1'de, aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki vücut sıcaklıklarının 38.0-39.1 °C, 38.5-39.4 °C, 38.0-38.9 °C ve 38.1-38.7 °C; kalp frekanslarının 68-84/dk, 72-88/dk, 68-88/dk ve 72-88/dk; solunun frekanslarının 16-32/dk, 24-36/dk, 16-32/dk ve 16-32/dk ve rumen hareketlerinin 8-12/5dk, 6-10/5dk, 8-12/5dk ve 8-12/5dk arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı tablodan anlaşılacağı gibi; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki vücut sıcaklıklarının 38.0-39.2 °C, 38.5-39.5 °C, 38.2-39.2 °C ve 38.0-38.8 °C; kalp frekanslarının 68-84/dk, 72-88/dk, 72-88/dk ve 68-84/dk; solunun frekanslarının 16-28/dk, 20-32/dk, 20-32/dk ve 16-28/dk ve rumen hareketlerinin 7-12/5dk, 8-12/5dk, 8-12/5dk ve 8-12/5dk arasında olduğu görülmektedir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki vücut sıcaklıklarının 38.1-39.2 °C, 38.4-39.2 °C, 38.0-39.1 °C ve 38.1-39.2 °C; kalp frekanslarının 68-88/dk, 76-92/dk, 68-88/dk ve 72-88/dk; solunun frekanslarının 16-32/dk, 20-

32/dk, 16-28/dk ve 16-32/dk ve rumen hareketlerinin 6-12/5dk, 7-10/5dk, 8-12/5dk ve 8-12/5dk arasında değiştiği belirlenmiştir.

Aynı tabloda; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki vücut sıcaklıklarının 38.0-39.2 °C, 38.2-39.2 °C, 38.2-38.8 °C ve 38.2-39.1 °C; kalp frekanslarının 68-84/dk, 72-84/dk, 72-84/dk ve 76-80/dk; solunun frekanslarının 16-32/dk, 20-32/dk, 20-28/dk ve 16-32/dk ve rumen hareketlerinin 8-12/5dk, 6-10/5dk, 8-12/5dk ve 8-12/5dk arasında olduğu görölmektedir.

Tablo 2'de; tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları açısından gruplar arasındaki farklılıkların; vücut sıcaklığı açısından sadece 3. günde A ve B grubunun D grubundan farklılık arzettiği ve diğer günler için (0.,14. ve 21.) gruplar arasında istatistiksel olarak önem saptanmadığı, kalp frekansları, solunum frekansları ve rumen hareketleri bakımından da tüm günler için gruplar arasında istatistiksel bir önemin olmadığı görölmektedir.

Tablo 3 incelendiğinde; tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene bulgularının günler arası grup içi aritmetik ortalamaları arasındaki farklılıkların; A grubu için vücut sıcaklıkları bakımından 3. gündeki değerin 0., 14. ve 21. günlere nazaran farklı olduğu, kalp frekansı ortalama değerleri açısından sadece 0. ve 3. gün arasında farklılık olduğu, solunum frekansı açısından 3. gündeki değerin 0., 14. ve 21. güne nazaran farklı olduğu ve rumen hareketi ortalama değerleri açısından 3. günün 14. ve 21. günden farklılık olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı tablodan anlaşılacağı gibi; günler arası grup içi aritmetik ortalamalar arasındaki farklılıkların B grubu için vücut ısıları bakımından 3. gündeki değerin

0., 14. ve 21. günlere nazaran farklı olduğu, kalp frekansı ortalama değerleri açısından 0.-3., 0.-21. ve 3.-21. günler arasında farklılık olduğu, solunum frekansı açısından 0.-3. ve 0.-14. günler arasında farklılık olduğu ve rumen hareketleri açısından günler arasındaki farklılıkların istatistiksel bir öneminin olmadığı görülmektedir.

Tablo 3'te görüldüğü gibi; C grubu için vücut sıcaklıkları ortalama değerleri bakımından günler arasında istatistiksel bir önemin olmadığı, kalp frekansı ortalama değerleri açısından sadece 0.-3. gün arasında istatistiksel önem olduğu, solunum frekansı açısından 3. gündeki değer 0., 14. ve 21. güne nazaran farklı olduğu ve rumen hareketleri açısından gün içi değerlerde istatistiksel bir önemin olmadığı belirlenmiştir.

Aynı tablo'dan; D grubu için vücut sıcaklıkları ortalama değerleri bakımından günler arasında istatistiksel bir önemin olmadığı, kalp frekansı ortalama değerleri açısından sadece 0.-3. gün arasında istatistiksel önem olduğu, solunum frekansı açısından 0.-3. gün arasında istatistiksel önem olduğu ve rumen hareketleri bakımından 3.-21. günler arasında istatistiksel bir önemin olduğu anlaşılmaktadır.

5.2. Laboratuvar Bulguları

Araştırmaya alınan hayvanların hematolojik muayene bulguları Tablo 4'te, aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 5 ve 6'da, vitamin düzeyleri Tablo 7'de, bu düzeylerin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 8 ve 9'da, antioksidan enzimler ve lipit peroksidasyon

(MDA) düzeyleri Tablo 10'da, aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 11 ve 12'de, serum total protein ve serum elektroforez sonuçları Tablo 13'te, aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 14 ve 15'te, şap aşısına karşı şekillenen antikor titreleri Tablo 16'da, aritmetik ortalamaları ile gruplar ve grup içi günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel önemleri Tablo 17 ve 18'de gösterilmiştir.

Tablo 4 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki total lökosit sayılarının 6400 - 11200 /mm³, 7600-11000 /mm³, 6800-9200 /mm³ ve 6800-9800 /mm³; mikrohematokrit yüzdelerinin 31 - 40, 32 - 39, 32 - 37 ve 33 - 38; hemoglobin % gr miktarlarının 7.6 - 12.4, 8.0 - 11.2, 8.2 - 10.4 ve 8.4 - 10.8; lenfosit 42 - 58, 46 - 56, 46 - 59 ve 46 - 58; nötrofil 33 - 47, 31 - 42, 28 - 45 ve 27 - 46; eozinofil 5 - 13, 5 - 11, 3 - 13 ve 1 - 11; monosit 3 - 7, 1 - 6, 1 - 9 ve 1 - 8 ve bazofil yüzdelerinin 0 - 1, 0 - 1, 0 - 1 ve 0 - 1 arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı tabloda; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki total lökosit sayılarının 6400-11000 /mm³, 7800-10600 /mm³, 6800-8600 /mm³ ve 7200-9600 /mm³; mikrohematokrit yüzdelerinin 30-39, 32-38, 31-38 ve 30-39; hemoglobin % gr miktarlarının 7.4-11.2, 8.2 - 10.4, 8.0 - 9.6 ve 7.8 - 9.8; lenfosit 48 -58, 44 - 54, 46 - 57 ve 43 - 54; nötrofil 33 - 44, 33 - 45, 36 - 49 ve 32 - 44; eozinofil 3 - 13, 5 - 11, 1 - 9 ve 2 - 13; monosit 0 -4, 0 - 6, 1 - 5 ve 0 - 8 ve bazofil yüzdelerinin 0-1, 0-1, 0-1 ve 0-1 arasında olduğu görülmektedir.

Tablo 4'te; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki total lökosit sayılarının 6400 -11000 /mm³, 6800-9400 /mm³, 6800-9800 /mm³ ve 6800-9200 /mm³; mikrohematokrit yüzdelerinin 31 - 41, 32 - 39, 32 - 38 ve 29 - 39; hemoglobin % gr miktarlarının 8.4 – 10.2, 8.2 - 11.4, 7.8 - 10.4 ve 7.8 – 9.6; lenfosit 47 - 60, 47 - 57, 48 - 58 ve 45 - 56; nötrofil 29 - 45, 34 -43, 31 - 45 ve 35 - 45; eozinofil 4 - 11, 4 - 9, 2 - 11 ve 2 - 9; monosit 1 - 8, 1 - 3, 0 - 5 ve 1 – 5 ve bazofil yüzdelerinin 0 - 1, 0 - 1, 0 - 1 ve 0 - 1 arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4'ten de anlaşılacağı gibi; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrası 3., 14. ve 21. günlerdeki total lökosit sayılarının 6800 -10800 /mm³, 6400-10200 /mm³, 6800-9200 /mm³ ve 7200-9200 /mm³; mikrohematokrit yüzdelerinin 31 - 39, 33 - 39, 32 - 36 ve 32 - 36; hemoglobin % gr miktarlarının 7.8 – 11.8, 8.2 – 10.4, 7.8 - 9.4 ve 8.0 – 9.4; lenfosit 45 - 55, 47 - 61, 46 - 58 ve 48 - 57; nötrofil 33 - 44, 33 -43, 32 - 46 ve 28 - 46; eozinofil 4 - 9, 3 - 11, 2 - 11 ve 2 - 10; monosit 1 - 7, 0 - 5, 1 - 6 ve 1 – 6 ve bazofil yüzdelerinin 0 - 1, 0 - 1, 0 - 1 ve 0 - 1 arasında belirlenmiştir.

Tablo 5 incelendiğinde; tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları açısından gruplar arasındaki farklılıkların; tüm günler için total lökosit ve mikro hematokrit ortalama değerleri bakımından istatistiksel olarak önem arzetmediği, hemoglobin miktarları açısından sadece A grubunun 21. gün değerinin B, C ve D grubunun 21. gün değerlerinden, lenfosit yüzde değer ortalamaları açısından 0. gün için A ve D gruplarının C grubundan, 3. gün için A ve B grubunun D grubundan ve ayrıca B grubunun C grubundan farklılık gösterdiği, 14. ve 21. günler için ise ortalama

değerler bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı; nötrofil yüzde değer ortalamaları açısından gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı; eozinofil yüzde değer ortalamaları açısından 0. ve 21. günlerde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 3. gün için A grubu ile C ve D grupları arasında, 14. günde ise A ve B grupları arasında önemli farklılığın olduğu; monosit yüzde değer ortalamaları açısından 0. günde B grubunun A ve D'den, 3. gün için C grubunun A ve B den farklılık gösterdiği, 14. ve 21. günler için ise ortalama değerler bakımından gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı; bazofil yüzde değer ortalamaları açısından da gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı anlaşılmaktadır.

Tablo 6 incelendiğinde; tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene bulgularının günler arası grup içi aritmetik ortalamaları arasındaki farklılıkların; A grubu için total lökosit ortalama değerleri açısından sadece 3.- 14. günler arasında istatistiksel olarak önemli olduğu, mikrohematokrit değerler bakımından günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı, hemoglobinin miktarı açısından 0. -14. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, lenfosit, nötrofil, eozinofil, monosit ve bazofil yüzdelilerinin ortalama değerleri bakımından günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı görülmektedir.

Aynı tablo incelendiğinde; B grubu için total lökosit ortalama değerleri açısından sadece 14. gün ile 3. ve 21. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu, mikrohematokrit değer ve hemoglobinin miktarı açısından günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı, lenfosit

yüzdeleri açısından 0.-3. günler arasında, nötrofil yüzdeleri açısından 0.-14., eozinofil yüzdeleri açısından 14. günün 0., 3. ve 21. günden, monosit yüzdeleri açısından 0.-14. günler arasındaki farklılıkların istatistiki olarak önemli olduğu ve bazofil yüzdelerinin ortalama değerleri bakımından günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı anlaşılmaktadır.

Tablo 6'da; C grubu için total lökosit ortalama değerleri açısından sadece 0.-14. gün ile 3.-14. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu, mikrohematokrit değer açısından 0. ve 3. günler ile 14. ve 21. günler arasında, hemoglobin miktarı açısından 0.-3., 0.-14., 0.-21. ve 3.-14. günler arasındaki farklılıkların istatistiki olarak önemli olduğu, lenfosit, eozinofil, monosit, ve bazofil yüzdelerinin ortalama değerleri bakımından günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, nötrofil yüzdelerinin ortalama değerleri bakımından ise 0.-21. ve 3.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir.

Aynı tablodan anlaşılacağı üzere; D grubu için total lökosit ortalama değerleri açısından 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, mikrohematokrit değer açısından istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı, hemoglobin miktarı açısından 0.-21., 3.-21., 14.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, lenfosit, nötrofil, eozinofil, monosit ve bazofil yüzdesi bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı belirlenmiştir.

Tablo 7 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki vitamin A değerlerinin 37.1-59.6 µg/dl, 32.8-55.7 µg/dl, 27.9-41.5 µg/dl ve 26.8-40.6 µg/dl; β-karoten

değerlerinin 77.5-214.7µg/dl, 60.8-173.2 µg/dl, 72.4-155.4 µg/dl ve 25.5-194.5 µg/dl; vitamin C değerlerinin 0.43-1.06 mg/dl, 0.47-0.89 mg/dl, 0.48-1.11 mg/dl ve 0.44-0.91 mg/dl ve vitamin E değerlerinin 0.150-0.358 mg/dl, 0.097-0.225 mg/dl, 0.063-0.202 mg/dl ve 0.067- 0.169 mg/dl arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı tabloda; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki vitamin A değerlerinin 32.1-74.8 µg/dl, 30.3-71.5 µg/dl, 32.3-62.6 µg/dl ve 26.9-56.4 µg/dl; β-karoten değerlerinin 11.2-216.2 µg/dl, 20.9-162.4 µg/dl, 17.4-202.7 µg/dl ve 18.6-165.1 µg/dl; vitamin C değerlerinin 0.53-1.06 mg/dl, 0.71-1.51 mg/dl, 0.72-1.27 mg/dl ve 0.58-1.38 mg/dl ve vitamin E değerlerinin 0.138-0.415 mg/dl, 0.105-0.310 mg/dl, 0.084-0.268 mg/dl ve 0.088- 0.192 mg/dl arasında olduğu gözlenmektedir.

Tablo 7'de görüldüğü gibi; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki A vitamini değerlerinin 24.1-46.7 µg/dl, 39.3-74.7 µg/dl, 38.1-71.4 µg/dl ve 34.5-66.2 µg/dl; β-karoten değerlerinin 76.3-183.7 µg/dl, 63.9-139.9 µg/dl, 52.0-140.3 µg/dl ve 74.8-152.7 µg/dl; C vitamini değerlerinin 0.68-1.31 mg/dl, 0.51-1.14mg/dl, 0.64-1.02 mg/dl ve 0.46-1.07 mg/dl ve E vitamini değerlerinin 0.110-0.360 mg/dl, 0.134-0.384 mg/dl, 0.102-0.265 mg/dl ve 0.128- 0.303 mg/dl arasında değiştiği belirlenmiştir.

Aynı tablodan anlaşılacağı üzere; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki A vitamini değerlerinin 23.4-71.3 µg/dl, 42.6-93.8 µg/dl, 29.0-74.3 µg/dl ve 33.1-62.6 µg/dl; β-karoten değerlerinin 17.8-117.0 µg/dl, 19.7-118.2 µg/dl, 25.1-108.9 µg/dl ve 22.0-121.7 µg/dl; C vitamini değerlerinin 0.62-1.18 mg/dl, 0.87-1.39 mg/dl, 0.85-

1.24 mg/dl ve 0.66-1.21 mg/dl ve E vitamini değerlerinin 0.098-0.292 mg/dl, 0.144-0.360 mg/dl, 0.087-0.247 mg/dl ve 0.096- 0.294 mg/dl arasında olduğu görülmektedir.

Tablo 8 incelendiğinde; tüm gruplardaki hayvanlara ait vitamin düzeylerinin aritmetik ortalamaları açısından gruplar arasındaki farklılıkların; A vitamini için 0. günde, C grubunun A, B ve D grubundan, 3. gün için A ve B grubunun C ve D grubundan, 14 gün için A grubunun B, C ve D grubundan, B grubunun A, C ve D grubundan, 21. günde ise A ve B grubunun C ve D grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; β -karoten düzeyleri açısından 0. gün için A ve D grubunun C grubundan, 3. gün için A ve D grubunun B ve C grubundan, 14. gün için A ve D grubunun C grubundan ve 21. gün için A ve D grubunun B ve C grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; C vitamini düzeyleri açısından 0. günde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiki olarak önemli olmadığı, 3. günde A grubunun B, C ve D grubundan, C grubunun A, B ve D grubundan farklı olduğu, 14. günde A ve C grubunun D grubundan farklı olduğu ve 21. günde A ve C grubunun B ve D grubundan istatistiksel olarak farklılık gösterdiği; E vitamini düzeyleri bakımından ise 0. günde A ve B grubunun D grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği, 3. günde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 14. günde A ile C grubu arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu ve 21. günde A ve B grubunun C grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği görülmektedir.

Tablo 9'dan; tüm gruplardaki hayvanlara ait vitamin düzeylerinin aritmetik ortalamaları açısından grup içi günler arasındaki farklılıkların; A vitamini için, A

grubunda 0.-3, 0.-14., 0.-21., 3.-14 ve 3.-21 günler arasında, B grubunda 0.-3, 0.-14., 0.-21, 3.-21 ve 14.-21. günler arasında, C grubunda tüm günler arasında ve D grubunda 3. günle 0., 14. ve 21. günler arasında önemli olduğu; β -karoten değerleri açısından A grubunda 0.-3. günler arasında önemli olduğu, B grubunda günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, ve C grubunda 3.-21. ve 14.-21. günler arasında ve D grubunda 0.-14. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu; C vitamini düzeyleri bakımından A grubunda 3. gün ile 0., 14. ve 21. günler arasında, B grubunda 0.-3. günler arasında, C grubunda 0.-3., 0.-14. ve 3.-21. günler arasında ve D grubunda 0.-3, 0.-21., 3.-21 ve 14.-21 günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu ve E vitamini değerleri bakımından A, B ve C gruplarında 0.-3, 0.-14., 0.-21., 3.-14 ve 3.-21 günler arasında ve D grubunda 0.-3, 0.-14., 3.-14 ve 3.-21 günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 10 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki katalaz aktiviteleri, 14-28 U/gHb, 22-34 U/gHb, 26-35 U/gHb ve 28-34 U/gHb; süper oksit dismutaz aktivitelerinin 415-543 U/gHb, 405-438 U/gHb, 339-408 U/gHb ve 338-407 U/gHb; glutathion peroksidaz aktivitelerinin 13-28 U/gHb, 25-71 U/gHb, 38-54 U/gHb ve 27-57 U/gHb ve malondialdehit aktivitelerinin 0.47-0.74 nmol/ml, 0.67-1.20 nmol/ml, 1.21-1.97 ve 0.59-0.89 nmol/ml arasında olduğu görülmektedir.

Aynı tablodan; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki katalaz aktiviteleri, 20-45 U/gHb, 34-47 U/gHb, 27-46 U/gHb ve 34-47 U/gHb; süper oksit dismutaz aktivitelerinin

548-647 U/gHb, 514-615 U/gHb, 466-529 U/gHb ve 408-452 U/gHb; glutathion peroksidaz aktivitesinin 15-24 U/gHb, 39-54 U/gHb, 34-61 U/gHb ve 14-28 U/gHb ve malondialdehit aktivitesinin 0.39-0.86 nmol/ml, 0.63-0.94 nmol/ml, 0.46-0.73 ve 0.59-0.82 nmol/ml arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 10'da; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki katalaz aktivitesi, 27-34 U/gHb, 28-44 U/gHb, 24-35 U/gHb ve 27-35 U/gHb; süper oksit dismutaz aktivitesinin 759-957 U/gHb, 927-1083 U/gHb, 548-736 U/gHb ve 457-573 U/gHb; glutathion peroksidaz aktivitesinin 45-60 U/gHb, 37-49 U/gHb, 28-45 U/gHb ve 18-32 U/gHb ve malondialdehit aktivitesinin 0.45-0.65 nmol/ml, 0.59-0.87 nmol/ml, 0.38-0.78 ve 0.64-0.87 nmol/ml arasında olduğu gözlenmektedir.

Aynı tablo incelendiğinde; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki katalaz aktivitesi, 14-28 U/gHb, 16-31 U/gHb, 20-35 U/gHb ve 21-32 U/gHb; süper oksit dismutaz aktivitesinin 678-814 U/gHb, 708-882 U/gHb, 477-586 U/gHb ve 425-522 U/gHb; glutathion peroksidaz aktivitesinin 53-84 U/gHb, 17-41 U/gHb, 19-35 U/gHb ve 18-34 U/gHb ve malondialdehit aktivitesinin 0.54-1.44 nmol/ml, 0.48-0.72 nmol/ml, 0.35-0.61 ve 0.64-0.91 nmol/ml arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 11'den, tüm gruplardaki hayvanlara ait enzim düzeylerinin aritmetik ortalamaları açısından gruplar arasındaki farklılıkların; katalaz için 0. günde A ve D gruplarının B ve C gruplarından, 3. günde A grubunun B, C ve D gruplarından, B ve C gruplarının D grubundan, 14. ve 21. günlerde ise A ve C gruplarının B ve D gruplarından, B grubunun D grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık

gösterdiği ; süper oksit dismutaz aktivitesi yönünden 0. ve 3. günde tüm grupların birbirinden istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterdiği, 14. günde A grubunun B, C ve D gruplarından, C grubunun B ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği, 21. günde ise sadece C ve D grupları arasında önemli farklılık olmadığı; glutathion peroksidaz aktivitesi yönünden 0. günde sadece A ve B grupları arasındaki farklılığın önemli olmadığı, 3. günde A grubunun C ve D gruplarından, B grubunun D grubundan, C grubunun A ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği, 14. günde tüm gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; ve 21. günde A grubu ile B, C ve D grupları ve B grubu ile D grubu arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu; malondialdehit aktiviteleri yönünden, 0. günde A, B ve C gruplarıyla D grubu arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, 3. günde A grubu ile C ve D grupları ve B grubuyla D grubu arasında önemlilik olduğu, 14. günde A grubunun B, C ve D gruplarından farklılık gösterdiği ve 21. günde ise gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı anlaşılmaktadır.

Tablo 12 incelendiğinde; tüm gruplardaki hayvanlara ait enzim aktivitelerinin aritmetik ortalamaları açısından grup içi günler arasındaki farklılıkların katalaz için A grubunda 0.-3., 0.-14., 0.-21., 3.-14. ve 3.-21. günler arasında, B grubunda 0.-3., 0.-14., 0.-21. günler arasında, C grubunda 0.-3. 3.-14. ve 3.-21. günler arasında ve D grubunda 0.-21. ve 3.-21 günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu önemli olduğu; süper oksit dismutaz için A grubunda 0.-3., 0.-14., 0.-21., 3.-14. ve 3.-21. günler arasında, B, C ve D gruplarında ise tüm günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak

önemli olduğu; glutathion peroksidaz aktivitesi yönünden A grubunda 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasında, B grubunda 0.-3., 0.-14., 3.-21 ve 14.-21. günler arasında, C grubunda tüm günler arasında ve D grubunda 0.-3. ve 0.-14. ve 0.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; malondialdehit aktivitesi yönünden ise A grubunda 0.-3., 0.-14., 3.-21. ve 14.-21. günler arasında, B grubunda 0.-3., 0.-14., 3.-14., 3.-21. ve 14.-21. günler arasında, C grubunda 0.-3., 0.-21, 3.-14. ve 14.-21. günler arasında ve D grubunda tüm günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir.

Tablo 13 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki total protein oranlarının 5.5- 7.4, 5.4-7.4, 4.9-7.2 ve 5.9-7.4 ; albumin yüzdelerinin 39.3-58.2, 43.2-52.3, 26.5-56.5 ve 30.1-54.0; albumin gram değerlerinin 2.4 –3.9, 2.7-3.7, 1.3-3.9 ve 1.9-4.0; α -1 globulin yüzdelerinin 6.4-13.0, 5.4-11.4, 5.7-13.6 ve 3.9-11.4; α -1 globulin gram değerlerinin 0.4-1.0, 0.3-0.8, 0.3-0.9 ve 0.2-0.7; α -2 globulin yüzdelerinin 5.4-13.7, 5.1-11.5, 6.7-19.9 ve 8.1-14.1; α -2 globulin gram değerlerinin 0.1-0.6, 0.1-0.5, 0.2-1.0 ve 0.3-0.7; β -globulin yüzdelerinin 4.4-11.9, 3.0-12.3, 6.3-11.5 ve 5.3-13.4; β -globulin gram değerlerinin 0.3-0.9, 0.2-0.8, 0.4-0.7 ve 0.4-0.9; γ -globulin yüzdelerinin 24.3-32.7, 25.6-35.8, 24.6-36.7 ve 25.6-42.8; γ -globulin gram değerlerinin 1.8-2.2, 1.7-2.4, 1.6-1.9 ve 1.7-2.7 ve albumin / globulin oranlarının 0.64-1.39, 0.76-1.10, 0.36-1.30 ve 0.43-1.17 arasında olduğu görülmektedir.

Aynı tablodan; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki total protein oranlarının 6.0-7.2, 6.2-7.3, 6.0-7.1 ve 6.2-6.7, albumin yüzdelerinin 44.2-54.2, 44.9-56.9, 42.1-54.9

ve 35.4-55.2; albumin gram değerlerinin 2.7-3.8, 3.0 – 4.1, 2.7-3.9 ve 2.2-3.7; α -1 globulin yüzdelерinin 1.6-16.9, 7.8-17.3, 7.0-13.3 ve 6.4-16.4; α -1 globulin gram değerlerinin 0.1-1.2, 0.5-1.2, 0.5-0.8 ve 0.4-1.1; α -2 globulin yüzdelерinin 5.6-12.5, 5.0-8.7, 6.6-11.7 ve 5.4-7.5; α -2 globulin gram değerlerinin 0.1-0.5, 0.1-0.3, 0.2-0.5 ve 0.1-0.2; β -globulin yüzdelерinin 3.0-12.8, 3.0-10.8, 1.5-11.6 ve 1.2-11.5; β -globulin gram değerlerinin 0.5-0.8, 0.5-0.8, 0.5-0.8 ve 0.5-0.7; γ -globulin yüzdelерinin 21.4-36.6, 22.2-29.6, 23.9-29.0 ve 25.3-29.2; γ -globulin gram değerlerinin 1.5-2.2, 1.6-2.0, 1.6-1.8 ve 1.6-1.9 ve albumin / globulin oranlarının 0.79-1.18, 0.81-1.32, 0.72-1.21 ve 0.55-1.23 arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 13'ten anlaşılacağı gibi; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki total protein oranlarının 5.8-7.8, 6.0-8.0, 6.1-8.0 ve 6.4-7.6; albumin yüzdelерinin 40.8-60.2, 42.5-52.5, 36.2-52.1 ve 35.7-48.6; albumin gram değerlerinin 2.7-4.7, 2.8-4.2, 2.9-3.6 ve 2.5-3.5; α -1 globulin yüzdelерinin 3.8-14.0, 6.2-13.9, 6.2-17.7 ve 7.4-15.2; α -1 globulin gram değerlerinin 0.3-0.9, 0.4-1.1, 0.4-1.4 ve 0.5-1.1; α -2 globulin yüzdelерinin 3.0-8.6, 5.5-9.8, 5.4-11.6 ve 5.5-9.0; α -2 globulin gram değerlerinin 0.0-0.3, 0.1-0.5, 0.1-0.6 ve 0.1-0.4; β -globulin yüzdelерinin 6.6-13.3, 4.2-11.5, 2.5-11.2 ve 7.0-15.6; β -globulin gram değerlerinin 0.6-0.8, 0.6-0.8, 0.5-0.7 ve 0.6-1.5; γ -globulin yüzdelерinin 24.3-36.6, 25.7-37.7, 25.8-36.7 ve 25.3-36.4; γ -globulin gram değerlerinin 1.5-2.7, 1.6-2.7, 1.6-2.9 ve 1.9-2.7 ve albumin / globulin oranlarının 0.75-1.51, 0.73-1.10, 0.56-1.09 ve 0.55-0.94 arasında olduğu belirlenmiştir.

Aynı tablo incelendiğinde; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki total protein oranlarının 5.2-7.1, 6.2-9.3, 6.1-9.1 ve 6.6-8.2; albumin yüzdelerinin 42.8-53.2, 43.8-56.7, 42.6-58.7 ve 39.1-52.1; albumin gram değerlerinin 2.2-3.5, 2.8-4.3, 2.6-4.7 ve 2.9-3.8; α -1 globulin yüzdelerinin 4.2-15.8, 4.4-16.1, 4.3-15.3 ve 5.7-14.4; α -1 globulin gram değerlerinin 0.2-1.0, 0.3-1.5, 0.3-1.4 ve 0.4-1.1; α -2 globulin yüzdelerinin 5.1-9.9, 5.1-9.2, 5.2-13.5 ve 5.3-10.9; α -2 globulin gram değerlerinin 0.1-0.4, 0.1-0.4, 0.1-0.5 ve 0.1-0.6; β -globulin yüzdelerinin 1.5-12.6, 1.5-9.6, 1.5-10.1 ve 3.5-10.5; β -globulin gram değerlerinin 0.5-0.6, 0.5-0.6, 0.5-0.8 ve 0.6-0.7; γ -globulin yüzdelerinin 25.3-32.7, 26.8-35.5, 24.0-36.0 ve 27.9-33.7; γ -globulin gram değerlerinin 1.6-2.1, 1.7-2.8, 1.6-2.8 ve 1.9-2.6 ve albumin / globulin oranlarının 0.55-1.10, 0.78-1.31, 0.74-1.42 ve 0.64-1.08 arasında değiştiği gözlenmektedir.

Tablo 14 incelendiğinde; tüm gruptaki hayvanlara ait serum elektroforez değerlerinin aritmetik ortalamaları açısından gruplar arasında; total protein için 0. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemin olmadığı, 3. günde A ile C ve D grupları arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) farklılık olduğu, 14. ($P<0.001$) ve 21($p<0.01$) günlerde ise A ve B gruplarının C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; albumin yüzdeleri açısından 0., 3. ve 14. günlerde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 21. günde ise B ve D grupları ile C grubu arasında istatistiksel olarak önemli ($p<0.01$) farklılık olduğu, albumin gram değerleri bakımından gruplar arasında 0. günde istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 3. ($p<0.05$) ve 14. günde ($p<0.01$) A grubu ile B, C ve D grupları arasında farklılık olduğu,

21. günde ($p<0.05$) ise A ve C gruplarının B ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; α -1 globulin yüzdeleri bakımından tüm günler için gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı; α -1 globulin gram değerleri açısından 0. ve 21. günlerde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 3. günde A ve B grubunun D grubundan, 14. günde ise A ve B grubunun C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; α -2 globulin yüzdeleri bakımından 0. günde A ve B grubunun C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği, 3. günde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 14. ve 21. günlerde ise A grubunun B, C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; α -2 globulin gram değerleri açısından 0. günde A ve B grubunun C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği, 3. günde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak öneminin olmadığı, 14. ve 21. günlerde ise A grubunun B, C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; β -globulin yüzdeleri bakımından tüm günler için gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı; β -globulin gram değerleri bakımından 0. ve 3. günlerde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı 14. günde A grubunun B, C ve D gruplarından ve 21. günde ise C grubunun A, B ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği; γ -globulin yüzde değerleri bakımından 0. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 3. ($p<0.001$) ve 21. ($p<0.01$) günlerde B grubunun A, C ve D gruplarından farklı olduğu, 14. günde ($p<0.05$) B grubu ile C ve D grupları arasında önemli farklılık olduğu; γ -globulin gram değerleri bakımından, 0. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 3. ve 14. günlerde

A ve B grupları ile C ve D grupları arasında, 21. günde B grubu ile A, C ve D grupları arasında ve istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu ($p<0.001$) ve albumin / globulin oranları bakımından 0. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 3. günde A ve C grupları ile B ve D grupları arasında farklılık olduğu, 14. günde C grubunun A, B ve D gruplarından ve 21. günde C grubunun A, B ve D gruplarından ve B grubunun A ve D gruplarından istatistiksel olarak farklılık ($p<0.01$) gösterdiği anlaşılmaktadır.

Tablo 15'te; tüm gruplardaki hayvanlara ait serum elektroforez sonuçlarının aritmetik ortalamaları açısından grup içi günler arasındaki farklılıkların total protein için A grubunda 0.-3., 0.-14. ve 14.-21 günlerde, B grubunda sadece 0.-14. ve 3.-14. günler arasında, C ve D gruplarında ise 0.-3., 0.-14. ve ve 0.-21. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu; albumin yüzdesi bakımından A grubunda 0.-14, 3.-14. ve 14.-21. günler arasında, C grubunda 0.-21., 3.-21. ve 14.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, B ve D grubunda ise günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı; albumin gram değerleri açısından A grubunda 0.-14. ve 3.-14. günler arasında, B grubunda 0.-3. ve 3.-14. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu, C grubunda günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı ve D grubunda ise 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; α -1 globulin yüzdeleri bakımından tüm grupların günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı; α -1 globulin gram değerleri bakımından tüm gruplarının günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı; α -2 globulin yüzdeleri bakımından A grubunda 0.-14., 3.-14. ve 3.-21. günler arasında, B

grubunda 0.-21. ve 14.-21. günlerdeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, C grubunda 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasında istatistiksel olarak önem olduğu ve D gruplarının günleri arasında ise istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı; α -2 globulin gram değerleri bakımından A grubunda 0.-14., 3.-14. ve 3.-21. günler arasında, B grubunda 0.-21. ve 14.-21 günlerde, C grubunda 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günlerdeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu ve D grubunun günleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı; β -globulin yüzdeleri bakımından A ve B gruplarının günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, C grubunda 0.-14. ve 14.-21. günler arasında ve D grubunda 3.-14. ve 3.-21 günlerdeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; β -globulin gram değerleri açısından A ve B gruplarının günleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, C grubunda 0.-14. ve 14.-21. günler arasında ve D grubunda 0.-14., 0.-21., 3.-14., 3.-21 ve 14.-21. günlerdeki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; γ -globulin yüzde değerleri bakımından A, B ve C gruplarında günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, D grubunda ise 0.-3., 0.-14., 0.-21., günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; γ -globulin gram değerleri bakımından A grubunda sadece 14.-21. günler arasında farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, B grubunda günler arasında önemli farklılıkların olmadığı, C grubunda 0.-14. ve 0.-21. günler arasında önemli farklılıkların olduğu, D grubunda 0.-3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu ve albumin / globulin oranları açısından A grubunda 0.-3., 0.-21., 3.-14. ve 14.-21. günler arasında istatistiksel olarak önem olduğu, B grubunda günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı, C grubunda 0.-

3., 0.-14. ve 0.-21. günler arasında ve D grubunda, 0.-3., 0.-14., 3.-21. ve 14.-21. günler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu görülmektedir.

Tablo 16 incelendiğinde; A grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki şekillenen antikor dilüsyon değerlerinin O tipine karşı 0-0, 0-0, 0-96 ve 0-64; A tipine karşı 0-0, 0-0, 0-45 ve 0-45 ve Asia 1 tipine karşı 0-0, 0-0, 0-192 ve 0-128 arasında olduğu anlaşılmaktadır.

Aynı tabloda; B grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki şekillenen antikor dilüsyon değerlerinin O tipine karşı 0-0, 0-0, 0-362 ve 0-45; A tipine karşı 0-0, 0-0, 0-256 ve 0-32 ve Asia 1 tipine karşı 0-0, 0-0, 96-2048 ve 96-362 arasında olduğu görülmektedir.

Aynı tabloda görüldüğü gibi; C grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki şekillenen antikor dilüsyon değerlerinin O tipine karşı 0-0, 0-0, 0-362 ve 0-362; A tipine karşı 0-0, 0-0, 0-362 ve 0-362 ve Asia 1 tipine karşı 0-0, 0-0, 96-1536 ve 96-1536 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tablo 16 incelendiğinde; D grubundaki hayvanların sırasıyla aşılama öncesi (0. gün), aşılama sonrasındaki 3., 14. ve 21. günlerdeki şekillenen antikor dilüsyon değerlerinin O tipine karşı 0-0, 0-0, 45-3096 ve 45-1024 ; A tipine karşı 0-0, 0-0, 0-362 ve 32-256 ve Asia 1 tipine karşı 0-0, 0-0, 96-4096 ve 45-4096 arasında olduğu görülmektedir.

Tablo 17'den; aşılama sonrası şekillenen antikor dilüsyon düzeylerinin aritmetik ortalamaları açısından; Tip O için 0. ve 3. günlerde gruplar arasındaki

farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 14. ve 21. günlerde ise A, B ve C grupları ile D grubu arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu; Tip A için 0. ve 3. günlerde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 14. günde A grubunun C ve D gruplarından, B grubunun D grubundan ve 21. günde A ve B grubunun C ve D gruplarından istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği ve Asia 1 tipi için yine 0. ve 3. günlerde gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı, 14. günde A grubunun C ve D gruplarından ve 21. günde ise A grubunun C ve D gruplarından, B grubunun C grubundan istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır.

Tablo 18'de; şekillenen antikor dilüsyon düzeylerinin aritmetik ortalamaları açısından grup içi günler arasındaki farklılıkların; Tip O, Tip A ve Asia 1 tipleri için, A, B, C ve D gruplarında 0.-14, 0.-21, 3.-14. ve 3.-21. günlerde istatistiksel olarak önemli farklılık gösterdiği görülmektedir.

Tablo 1: Tüm gruplardaki hayvanların günlere göre klinik muayene bulguları

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günler				Günler				Günler				Günler				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
Vücut sıcaklığı (°C)	1	38.4	38.9	38.5	38.1	38.4	38.9	38.3	38.6	38.6	38.9	38.3	38.4	38.1	38.3	38.7	38.5
	2	39.1	38.9	38.7	38.2	39.2	39.5	38.8	38.2	38.2	38.7	38.8	38.6	38.4	38.8	38.5	38.6
	3	38.5	39.4	38.8	38.2	38.2	39.4	38.2	38.7	38.8	39.1	38.7	38.4	38.0	38.4	38.7	38.8
	4	38.2	39.0	38.9	38.7	38.7	39.0	38.7	38.4	39.0	39.2	38.6	38.4	38.9	39.0	38.4	38.2
	5	38.8	38.9	38.4	38.1	38.5	38.9	39.2	38.4	38.9	38.6	38.8	38.3	38.8	38.5	38.4	38.6
	6	38.8	38.5	38.2	38.1	38.8	38.5	38.3	38.8	38.5	38.4	38.6	38.1	38.1	38.2	38.5	38.4
	7	38.4	38.8	38.2	38.5	39.0	38.8	38.4	38.8	38.3	38.9	38.3	39.2	39.2	38.8	38.6	38.4
	8	38.0	39.2	38.1	38.4	39.2	39.2	38.5	38.3	39.2	39.1	38.5	38.7	38.4	39.2	38.4	38.6
	9	38.3	38.6	38.0	38.1	38.3	38.6	38.5	38.0	38.6	38.8	39.0	38.9	38.5	38.7	38.4	38.9
	10	38.9	38.8	38.2	38.6	38.0	38.8	38.2	38.6	38.2	38.5	39.1	38.7	38.3	38.5	38.2	38.7
	11	39.1	38.8	38.4	38.7	39.1	38.8	38.8	38.6	38.8	38.5	38.0	38.5	39.1	38.7	38.8	39.1
	12	38.4	39.1	38.7	38.5	38.4	38.9	38.7	38.5	38.1	38.7	38.6	39.1	38.7	38.4	38.7	38.6
Kalp Frekansı (/dk)	1	76	88	68	76	76	84	76	80	88	92	76	80	72	76	80	80
	2	84	76	72	84	68	76	80	72	76	80	68	84	80	80	76	76
	3	80	80	88	76	72	72	76	68	76	84	84	88	80	72	80	80
	4	72	84	80	72	80	84	72	72	80	76	80	76	72	84	80	76
	5	68	72	76	80	72	80	84	80	72	80	84	88	76	84	76	76
	6	84	80	88	76	84	76	72	80	76	84	76	80	76	80	84	80
	7	84	84	76	80	76	84	88	76	84	80	80	72	80	84	80	80
	8	76	88	84	76	68	84	80	76	76	88	68	72	68	72	76	76
	9	72	80	84	80	76	84	72	72	68	76	72	80	72	84	80	76
	10	76	80	72	88	80	88	76	76	80	88	76	84	76	84	76	80
	11	80	84	76	80	80	76	72	76	68	76	72	76	84	80	72	76
	12	84	80	80	72	80	80	76	84	80	80	88	84	76	84	76	80
Solunum Frekansı (/dk)	1	16	28	24	24	20	28	24	16	16	20	20	28	20	24	28	28
	2	20	24	28	24	16	20	28	24	24	28	24	32	24	32	20	24
	3	20	28	16	20	20	24	24	20	24	32	20	20	16	24	28	20
	4	28	32	24	16	16	28	20	24	32	28	16	24	24	32	24	20
	5	24	28	20	20	20	28	32	24	28	32	28	16	24	28	24	24
	6	32	28	24	24	24	24	28	20	24	32	16	24	32	24	28	32
	7	28	28	24	28	28	28	32	20	16	20	28	20	20	24	20	16
	8	32	36	32	32	24	20	20	20	20	32	20	20	24	20	24	16
	9	28	24	28	24	20	32	28	24	24	28	24	16	16	24	20	20
	10	32	32	28	28	24	28	24	28	16	20	24	24	20	28	24	32
	11	24	28	24	20	16	20	24	24	20	28	20	24	16	20	24	24
	12	16	24	24	20	24	20	20	24	24	28	24	20	24	24	28	28
Rumen Hareketleri (/5dk)	1	8	8	10	10	8	8	10	10	8	8	10	12	10	8	10	8
	2	8	6	8	10	12	10	10	9	10	8	8	10	9	10	8	10
	3	10	8	8	8	10	9	8	10	12	10	8	10	8	8	10	10
	4	8	8	10	9	8	8	10	12	7	9	10	8	9	8	10	10
	5	10	8	8	10	9	8	8	8	8	10	12	10	10	10	10	12
	6	12	9	10	8	10	8	10	8	6	7	8	8	9	7	10	10
	7	9	8	8	10	8	8	12	10	9	8	8	10	8	10	8	12
	8	12	10	10	12	7	8	8	8	8	10	10	12	8	8	8	10
	9	10	10	12	10	7	8	10	10	9	8	8	10	10	10	10	10
	10	10	10	10	12	10	8	8	10	7	10	10	8	8	6	8	10
	11	8	10	10	10	10	12	10	10	12	10	10	10	9	10	10	10
	12	8	8	10	10	8	10	12	12	10	9	10	10	12	10	12	10

Tablo 2: Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları ($\bar{x} \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi

	Günler	A $\bar{x} \pm Sx$	B $\bar{x} \pm Sx$	C $\bar{x} \pm Sx$	D $\bar{x} \pm Sx$
Vücut sıcaklığı (°C)	0	38.5 \pm 0.4 ^A	38.6 \pm 0.4 ^A	38.6 \pm 0.4	38.5 \pm 0.4
	3	38.9 \pm 0.2 ^{aB}	38.9 \pm 0.3 ^{aB}	38.7 \pm 0.3 ^{ab}	38.6 \pm 0.3 ^{b*}
	14	38.4 \pm 0.3 ^A	38.5 \pm 0.3 ^A	38.6 \pm 0.3	38.5 \pm 0.2
	21	38.3 \pm 0.2 ^A	38.4 \pm 0.2 ^A	38.6 \pm 0.3	38.6 \pm 0.2
Kalp frekansı (/dk)	0	77.0 \pm 5.9 ^A	76.0 \pm 5.1 ^A	77.0 \pm 5.9 ^A	76.0 \pm 4.5 ^A
	3	81.3 \pm 4.6 ^B	80.6 \pm 4.8 ^B	82.0 \pm 5.3 ^B	80.3 \pm 4.7 ^B
	14	78.6 \pm 6.5 ^{AB}	77.0 \pm 5.2 ^{AB}	77.0 \pm 6.4 ^{AB}	78.0 \pm 3.2 ^{AB}
	21	78.3 \pm 4.7 ^{AB}	76.0 \pm 4.5 ^A	80.0 \pm 5.5 ^{AB}	78.0 \pm 2.1 ^{AB}
Solunum frekansı (/dk)	0	25.0 \pm 5.9 ^A	21.0 \pm 3.9 ^A	22.3 \pm 5.0 ^A	21.6 \pm 4.7 ^A
	3	29.1 \pm 3.7 ^B	25.0 \pm 4.2 ^B	27.3 \pm 4.8 ^B	25.3 \pm 3.9 ^B
	14	24.6 \pm 4.1 ^A	25.3 \pm 4.3 ^{BC}	22.0 \pm 4.0 ^A	24.3 \pm 3.2 ^{AB}
	21	23.3 \pm 4.5 ^A	22.3 \pm 3.2 ^{ABC}	22.3 \pm 4.7 ^A	23.6 \pm 5.5 ^{AB}
Rumen hareketi (/5 dk)	0	9.4 \pm 1.5 ^{AB}	8.9 \pm 1.5	8.8 \pm 1.9	9.1 \pm 1.2 ^{AB}
	3	8.5 \pm 1.2 ^B	8.7 \pm 1.3	8.9 \pm 1.1	8.7 \pm 1.4 ^B
	14	9.5 \pm 1.2 ^A	9.6 \pm 1.4	9.3 \pm 1.3	9.5 \pm 1.2 ^{AB}
	21	9.9 \pm 1.2 ^A	9.7 \pm 1.4	9.8 \pm 1.3	10.1 \pm 1.0 ^A

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : $p < 0.05$

Tablo 3: Tüm gruplardaki hayvanlara ait klinik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.

Parametreler	Günler	A $\bar{x} \pm Sx$				B $\bar{x} \pm Sx$				C $\bar{x} \pm Sx$				D $\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Vücut sıcaklığı (°C)	0		*	-	-		*	-	-		-	-	-		-	-	-
	3			***	***			**	**			-	-			-	-
	14				-				-				-				-
	21																
Kalp frekansı (/dk)	0		*	-	-		*	-	-		*	-	-		**	-	-
	3			-	-			-	*			-	-			-	-
	14				-				-				-				-
	21																
Solunum frekansı (/dk)	0		*	-	-		*	*	-		*	-	-		***	-	-
	3			**	**			-	-			-	-			*	*
	14				-				-				-				-
	21																
Rumen hareketi (/5dk)	0		-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-
	3			**	**			-	-			-	*			-	-
	14				-				-				-				-
	21																

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Tablo 4: Tüm gruplardaki hayvanların günlere göre hematolojik muayene bulguları

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günlere				Günlere				Günlere				Günlere				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
Total lökosit (birim/mm ³)	1	7400	8400	8000	8400	6800	8000	7600	8400	8200	9200	7400	8800	9600	9200	8800	8200
	2	7800	8200	8400	7800	8400	9200	7200	8000	9400	8400	6800	7200	8800	9400	7600	8000
	3	8800	9600	7800	8800	10400	8400	6800	7200	7600	8200	8800	8600	9400	8600	8400	7200
	4	9200	10000	7600	8400	11000	9200	8000	7800	10200	7800	8200	9200	9000	10200	8200	8400
	5	9600	10800	8200	8600	10200	8800	7800	8200	10800	8800	7800	6800	10600	8800	7200	8600
	6	8800	7600	8800	9400	6400	9000	7400	9600	9000	7000	8200	7600	10800	9200	7400	8200
	7	9400	7800	8600	8000	8600	7800	7400	8800	8800	9400	7800	8400	9600	8400	6800	7200
	8	10400	11000	9200	9800	7200	9400	8600	8200	11000	9200	7800	8200	8400	10000	7400	7800
	9	11200	9600	8400	9400	8400	10600	6800	7200	10600	8600	6800	7800	7000	8600	7600	9200
	10	6400	8200	7800	7200	9800	8200	7400	8800	9200	8400	9800	8200	8800	7800	8400	8800
	11	7600	8400	6800	7400	8200	8600	6800	7800	8800	6800	7200	8400	7600	8000	9200	9200
	12	9200	8400	7600	6800	8800	7800	8200	8500	6400	7600	8400	7400	6800	6400	7400	7800
Mikrohematokrit (%)	1	39	36	36	34	35	33	38	36	33	35	38	34	39	36	32	35
	2	33	34	35	37	37	35	34	32	37	34	36	33	37	37	35	33
	3	35	32	37	36	37	36	36	34	34	36	35	38	37	34	33	36
	4	40	37	36	33	39	35	33	39	31	33	34	36	39	37	36	34
	5	36	37	34	34	32	37	35	35	37	36	32	35	36	37	35	34
	6	38	35	37	36	36	34	31	36	39	34	35	39	36	39	34	32
	7	36	39	33	37	30	32	36	33	41	39	34	36	39	37	32	35
	8	33	36	35	33	38	33	37	30	36	37	33	29	34	33	35	33
	9	35	37	33	34	35	38	34	37	33	32	35	37	36	38	34	36
	10	34	36	34	34	33	35	36	35	35	37	32	34	31	33	36	34
	11	37	38	32	38	32	33	38	36	38	39	34	38	38	36	33	32
	12	31	33	34	36	37	34	32	33	35	38	35	36	37	34	35	33
Hemogloblin (%ogr)	1	8.2	8.8	8.4	9.2	8.4	8.8	8.2	7.8	9.8	10.4	8.6	8.2	10.0	9.6	8.8	8.4
	2	10.4	9.4	8.6	8.8	7.8	8.6	9.2	8.2	10.2	9.2	8.8	9.0	9.0	8.2	8.4	8.0
	3	7.6	8.0	8.8	8.4	8.6	9.0	8.8	8.8	9.0	9.4	8.6	7.8	7.8	8.2	8.0	8.8
	4	9.2	8.8	9.0	8.4	9.8	9.4	8.6	9.2	8.8	8.4	7.8	8.0	10.4	9.6	8.6	9.2
	5	10.6	9.4	8.6	10.2	10.2	9.8	8.2	9.0	9.8	9.0	10.2	8.2	9.4	9.8	8.0	8.6
	6	7.8	8.6	8.2	9.2	8.6	8.2	9.4	9.8	8.8	8.2	9.6	8.0	11.0	10.4	9.2	8.2
	7	11.4	10.8	9.4	9.8	7.4	8.2	8.6	8.6	9.2	9.6	9.0	8.4	8.8	8.4	9.4	9.0
	8	10.2	8.8	9.4	8.8	8.4	8.6	8.0	8.2	8.4	9.0	9.8	7.8	8.6	8.8	7.8	9.4
	9	8.6	8.2	8.2	8.4	8.6	8.2	9.2	7.8	9.2	10.2	10.4	8.8	11.8	10.2	9.4	9.2
	10	9.6	9.8	8.6	9.0	10.4	9.6	9.2	8.8	9.8	9.6	9.2	8.2	10.4	9.8	9.0	8.6
	11	12.4	10.8	9.4	10.2	11.2	10.4	9.6	9.2	10.0	11.4	9.4	9.6	9.4	8.6	8.0	8.8
	12	11.8	11.2	10.4	10.8	10.0	9.4	8.8	8.6	9.0	9.6	8.6	9.4	9.0	8.2	8.8	8.4

Tablo 4'ün devamı.

	Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu			
		Günler				Günler				Günler				Günler			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Lenfosit (%)	1	47	51	49	54	48	51	48	46	54	57	51	49	47	50	46	54
	2	51	50	47	52	51	48	50	43	60	54	48	52	54	56	54	52
	3	44	53	48	58	52	54	51	47	59	53	58	51	50	51	51	56
	4	58	47	46	54	55	52	57	52	50	56	52	45	51	53	48	57
	5	47	56	59	46	49	45	48	53	54	48	55	50	47	57	53	56
	6	42	51	50	49	48	47	52	51	50	49	53	48	45	55	49	55
	7	48	52	51	52	50	49	48	54	52	49	51	55	52	56	50	57
	8	50	46	49	48	58	44	51	48	47	47	56	51	48	49	51	50
	9	48	47	59	57	48	47	53	52	51	57	52	53	55	51	53	49
	10	49	50	50	48	48	44	46	48	55	56	50	49	54	47	58	56
	11	47	51	58	50	52	47	50	53	56	53	52	54	49	61	54	48
	12	53	53	47	52	55	52	48	51	53	57	49	56	51	54	57	49
Nötrofil (%)	1	47	37	42	31	39	40	46	43	37	35	43	42	44	37	46	35
	2	39	39	40	38	41	39	39	44	29	38	44	37	40	33	42	33
	3	37	32	44	27	37	36	39	42	35	41	31	45	39	34	37	39
	4	33	41	38	32	37	37	38	39	41	37	35	42	37	41	40	28
	5	42	38	29	41	44	42	49	44	34	43	38	43	42	40	38	31
	6	40	36	34	46	43	45	41	42	37	42	36	44	40	35	45	34
	7	43	33	35	34	37	37	36	35	33	38	45	38	41	34	40	29
	8	40	42	39	46	33	43	40	36	45	42	36	41	43	41	33	38
	9	42	38	28	30	39	44	38	40	36	34	41	38	33	43	37	46
	10	39	37	45	39	41	45	48	39	39	37	42	39	35	41	32	31
	11	36	40	30	41	34	38	41	32	36	38	43	40	37	33	34	44
	12	37	31	42	43	42	33	46	43	32	35	41	35	39	37	39	42
Eozinofil (%)	1	5	9	5	8	8	6	2	5	8	6	5	6	6	7	7	6
	2	6	7	11	5	7	10	9	11	6	7	3	8	5	8	2	10
	3	13	8	3	9	10	5	4	5	5	4	7	3	7	11	7	2
	4	5	9	6	5	6	9	4	3	7	6	11	9	8	5	9	9
	5	8	5	4	10	4	7	1	3	9	6	6	5	7	3	8	7
	6	11	9	13	4	5	8	2	6	5	7	8	7	7	5	2	5
	7	5	10	8	7	13	11	5	3	7	9	3	5	5	8	3	9
	8	5	9	8	4	6	9	3	13	5	9	4	6	4	7	11	9
	9	7	11	7	9	9	5	4	7	10	7	6	8	9	5	7	4
	10	9	9	4	11	9	5	3	7	4	6	3	7	7	7	4	7
	11	11	6	7	3	12	10	6	9	5	6	2	2	8	5	9	6
	12	7	9	8	1	3	9	2	2	11	5	7	6	7	6	2	7

Tablo 4'ün devamı.

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günler				Günler				Günler				Günler				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
Monosit (%)	1	4	3	4	7	4	3	4	6	1	2	1	3	3	5	1	4
	2	4	4	2	5	1	2	2	2	4	1	4	2	1	3	2	5
	3	5	6	5	5	1	5	5	6	1	2	4	1	4	4	4	3
	4	4	3	9	8	2	2	1	5	2	1	2	4	4	1	3	6
	5	3	1	7	3	3	6	2	-	3	3	1	2	3	-	1	5
	6	7	4	3	1	4	-	5	1	7	2	3	1	7	5	4	6
	7	4	5	6	7	-	3	1	8	8	3	-	2	2	2	6	5
	8	5	3	4	2	3	4	5	3	3	2	4	2	5	3	5	3
	9	3	4	5	4	4	4	5	1	3	2	1	1	3	1	3	1
	10	3	4	1	2	2	6	3	5	2	1	5	5	4	4	5	5
	11	5	3	5	6	2	5	3	6	3	3	3	4	5	1	3	2
	12	3	6	3	4	-	6	4	4	3	2	3	3	3	3	2	2
Bazofil (%)	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
	2	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	1	1	-	-	-	-
	3	1	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	4	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
	6	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-
	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1	-
	8	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	9	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	1
	11	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	12	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-

Tablo 5. Tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene bulgularının aritmetik ortalamaları ($\bar{x} \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farkların istatistiksel önemi.

	Günler	A $\bar{X} \pm Sx$	B $\bar{X} \pm Sx$	C $\bar{X} \pm Sx$	D $\bar{X} \pm Sx$
Total lökosit (mm^3)	0	8817 \pm 1341 ^{AB}	8517 \pm 1550 ^{AC}	8867 \pm 1269 ^A	9167 \pm 1367 ^A
	3	9000 \pm 1157 ^A	8750 \pm 805 ^A	8716 \pm 1028 ^A	8283 \pm 846 ^B
	14	8100 \pm 641 ^B	7500 \pm 575 ^{BC}	7867 \pm 720 ^B	7917 \pm 855 ^B
	21	8333 \pm 935 ^{AB}	8217 \pm 690 ^A	8217 \pm 668 ^{AB}	8050 \pm 704 ^B
M.hematokrit (%)	0	35.5 \pm 2.6	35.0 \pm 2.8	36.5 \pm 2.3 ^A	35.7 \pm 2.8
	3	35.8 \pm 2.0	34.5 \pm 1.8	35.9 \pm 2.0 ^A	35.8 \pm 2.3
	14	34.6 \pm 1.6	35.0 \pm 2.2	34.1 \pm 1.4 ^B	34.4 \pm 1.7
	21	35.1 \pm 1.7	34.6 \pm 2.4	33.9 \pm 1.4 ^B	35.4 \pm 2.7
Hemoglobün (gr)	0	9.8 \pm 1.6 ^A	9.1 \pm 1.2	9.6 \pm 1.1 ^A	9.3 \pm 0.6 ^A
	3	9.3 \pm 1.1 ^{AB}	9.0 \pm 0.7	9.1 \pm 0.8 ^B	9.5 \pm 0.9 ^A
	14	8.9 \pm 0.6 ^B	8.8 \pm 0.5	8.6 \pm 0.6 ^C	9.1 \pm 0.7 ^A
	21	9.2 \pm 0.8 ^{aAB}	8.6 \pm 0.6 ^b	8.7 \pm 0.4 ^{bBC}	8.4 \pm 0.6 ^{b*^B}
Lenfosit (%)	0	48.6 \pm 4.1 ^a	51.1 \pm 3.3 ^{abA}	53.4 \pm 3.8 ^b	50.2 \pm 3.2 ^{a*}
	3	50.5 \pm 2.9 ^{ac}	48.3 \pm 3.3 ^{ab}	53.0 \pm 3.8 ^{bc}	54.1 \pm 5.0 ^{b**}
	14	51.0 \pm 4.8	50.1 \pm 2.9 ^{AB}	52.2 \pm 2.9	52.0 \pm 3.5
	21	51.6 \pm 3.7	49.8 \pm 3.4 ^{AB}	51.0 \pm 3.1	53.2 \pm 3.4
Nötrofil (%)	0	39.3 \pm 3.2	38.9 \pm 3.4 ^A	36.1 \pm 4.2 ^{AB}	39.1 \pm 3.2
	3	37.0 \pm 3.5	39.9 \pm 3.9 ^{AB}	38.3 \pm 3.0 ^B	37.4 \pm 3.6
	14	37.1 \pm 5.9	42.5 \pm 4.1 ^B	39.5 \pm 4.3 ^{BC}	38.5 \pm 4.4
	21	37.3 \pm 6.4	39.9 \pm 3.9 ^{AB}	40.3 \pm 3.0 ^C	35.8 \pm 5.9
Eozinofil (%)	0	7.6 \pm 2.8	7.6 \pm 3.0 ^A	6.8 \pm 2.2	6.6 \pm 1.4
	3	8.4 \pm 1.7 ^a	7.8 \pm 2.1 ^{abA}	6.5 \pm 1.4 ^b	6.4 \pm 2.0 ^{b*}
	14	7.0 \pm 2.9 ^a	3.7 \pm 2.2 ^{bB}	5.4 \pm 2.6 ^{ab}	5.9 \pm 3.2 ^{ab*}
	21	6.3 \pm 3.1	6.1 \pm 3.4 ^A	6.0 \pm 2.0	6.7 \pm 2.3
Monosit (%)	0	4.1 \pm 1.2 ^a	2.1 \pm 1.5 ^{bA}	3.3 \pm 2.1 ^{abA}	3.6 \pm 1.5 ^{a*}
	3	3.8 \pm 1.4 ^a	3.8 \pm 1.9 ^{aAB}	2.0 \pm 0.7 ^{bB}	2.6 \pm 1.7 ^{ab**}
	14	4.5 \pm 2.2	3.3 \pm 1.5 ^B	2.5 \pm 1.6 ^{AB}	3.2 \pm 1.6
	21	4.5 \pm 2.2	3.9 \pm 2.5 ^{AB}	2.5 \pm 1.3 ^{AB}	3.9 \pm 1.7
Bazofil (%)	0	0.1 \pm 0.4	0.08 \pm 0.3	0.2 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4
	3	0.1 \pm 0.4	0.08 \pm 0.3	0.1 \pm 0.4	0.1 \pm 0.4
	14	0.2 \pm 0.4	0.1 \pm 0.4	0.1 \pm 0.4	0.2 \pm 0.4
	21	0.1 \pm 0.4	0.1 \pm 0.4	0.9 \pm 0.3	0.2 \pm 0.4

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : $p < 0.05$ ** : $p < 0.01$

Tablo 6: Tüm gruplardaki hayvanlara ait hematolojik muayene sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Parametreler	Günler	A				B				C				D			
		$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Total Lökosit (/mm ³)	0		-	-	-		-	-	-		-	-	-		*	*	*
	3			*	-			**	-			*	-			-	-
	14				-				**				-				-
	21																
M. hematokrit	0		-	-	-		-	-	-		-	*	**		-	-	-
	3			-	-			-	-			*	*		-	-	-
	14				-				-				-				-
	21																
Hemoglobin (gr)	0		-	*	-		-	-	-		*	**	**		-	-	****
	3			-	-			-	-			*	-		-		****
	14				-				-				-				*
	21																
Lenfosit (%)	0		-	-	-		*	-	-		-	-	-		-	-	-
	3			-	-			-	-			-	-		-	-	-
	14				-				-				-				-
	21																
Nötrofil (%)	0		-	-	-		-	**	-		-	-	-		-	-	**
	3			-	-			-	-			-	-		-	-	*
	14				-				-				-				-
	21																
Eozinofil (%)	0		-	-	-		-	****	-		-	-	-		-	-	-
	3			-	-			****	-			-	-		-	-	-
	14				-				*				-				-
	21																
Monosit (%)	0		-	-	-		-	*	-		-	-	-		*	-	-
	3			-	-			-	-			-	-			-	-
	14				-				-				-				-
	21																
Bazofil (%)	0		-	-	-		-	-	-		-	-	-		-	-	-
	3			-	-			-	-			-	-			-	-
	14				-				-				-				-
	21																

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tablo 7: Tüm gruptaki hayvanların günlere göre A vitamini, β -karoten, E vitamini ve C vitamini değerleri

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günler				Günler				Günler				Günler				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
A Vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	1	45.9	40.4	41.5	36.3	47.4	42.4	34.7	26.9	35.1	51.4	44.6	47.2	52.2	70.9	58.4	62.6
	2	37.1	35.4	29.3	32.9	54.3	55.8	49.1	33.4	24.1	63.1	49.3	55.4	42.7	55.2	44.9	51.4
	3	49.3	44.9	31.5	33.4	37.0	30.9	42.3	39.4	27.7	39.3	38.1	35.6	39.6	42.6	29.0	33.1
	4	43.1	36.4	27.9	31.4	39.6	37.2	36.8	36.5	31.5	54.3	52.8	40.1	56.5	81.3	45.7	35.4
	5	37.4	33.2	35.4	27.1	51.6	41.1	34.7	32.7	27.3	63.1	49.6	42.4	67.2	71.1	61.5	43.0
	6	43.1	40.5	34.8	30.5	32.1	30.3	36.7	29.4	36.8	68.3	64.3	44.8	48.5	80.4	55.1	44.5
	7	49.5	43.7	34.7	29.7	52.8	48.6	41.3	34.1	43.8	66.8	67.2	49.7	71.3	93.8	74.3	52.2
	8	52.7	46.1	31.8	35.4	45.7	47.1	42.4	37.2	41.1	59.9	54.7	58.2	23.4	53.4	51.0	42.7
	9	39.0	32.8	28.4	26.8	74.8	71.5	62.6	56.4	35.9	59.3	53.4	34.5	46.2	62.4	56.7	50.9
	10	46.3	42.4	38.5	40.6	38.9	32.7	32.3	28.9	42.8	71.8	60.3	38.7	31.1	42.8	33.9	35.6
	11	59.6	55.7	32.9	37.4	50.4	49.3	51.2	42.2	46.7	68.1	71.4	62.1	25.7	46.7	29.6	34.7
	12	45.0	42.8	35.6	29.2	43.5	40.7	36.9	31.4	41.7	74.7	63.2	66.2	52.2	81.2	66.3	58.3
β - karoten($\mu\text{g/dl}$)	1	214,7	173,2	142,6	180,2	32,9	39,5	30,2	37,5	102,7	82,9	80,2	90,6	29,0	36,4	39,1	48,4
	2	180,2	163,3	112,0	194,5	23,6	20,9	17,4	20,1	128,2	138,3	82,5	152,7	24,4	19,7	37,2	36,8
	3	102,7	63,9	124,0	25,5	14,7	25,1	24,4	18,6	183,7	136,0	126,5	136,4	34,4	24,8	25,1	52,3
	4	127,1	111,2	155,4	103,8	11,2	20,9	34,4	22,8	109,6	63,9	72,0	137,2	17,8	27,5	32,1	39,9
	5	77,5	91,0	124,4	65,5	24,8	22,8	31,3	33,3	93,7	107,7	56,9	143,0	32,5	39,5	46,8	22,0
	6	119,7	72,8	75,9	136,0	79,0	56,9	96,1	60,8	120,9	137,2	65,1	134,4	39,1	48,5	31,3	57,3
	7	130,2	125,9	103,4	154,2	186,8	124,4	137,9	36,0	106,5	93,4	121,7	84,4	65,1	47,6	39,5	39,9
	8	129,0	117,0	82,9	100,0	58,90	81,7	100,0	84,8	117,8	139,9	138,7	74,8	90,6	78,6	64,7	98,4
	9	97,6	60,8	115,5	125,5	216,2	151,5	142,2	165,1	76,3	77,9	52,0	97,2	93,0	63,1	89,5	121,7
	10	82,9	98,4	139,9	75,9	194,9	162,4	202,7	162,0	104,2	110,0	64,7	92,2	107,3	118,2	63,9	119,3
	11	93,7	73,2	72,4	59,6	177,5	133,0	155,8	147,6	150,0	125,5	140,3	108,9	77,5	95,7	108,9	104,2
	12	176,7	143,0	125,9	141,0	115,8	93,4	72,8	122,8	84,1	70,5	93,4	126,7	117,0	102,7	83,3	110,0
C Vitamini (mg/dl)	1	0.83	0.64	0.76	0.44	0.87	1.51	0.86	1.29	1.09	0.89	1.00	0.69	0.72	1.09	1.04	0.98
	2	0.67	0.53	0.78	0.63	0.76	1.10	0.72	0.84	0.69	0.72	0.89	0.46	0.88	1.39	1.24	1.21
	3	0.60	0.47	1.11	0.87	0.63	0.82	0.75	0.58	1.31	1.14	0.76	0.75	1.05	0.91	1.19	0.85
	4	1.04	0.75	0.77	0.82	0.97	1.04	1.27	0.92	1.14	1.02	0.96	1.07	1.04	1.24	1.02	1.16
	5	0.71	0.56	0.61	0.53	1.03	1.09	0.91	0.88	0.86	0.75	0.83	0.61	0.88	1.06	1.08	1.12
	6	0.97	0.79	1.01	0.85	0.53	0.71	0.79	1.08	0.68	0.51	0.64	0.61	0.86	0.98	0.92	0.66
	7	0.59	0.61	0.48	0.54	0.95	0.82	1.09	0.83	0.73	0.68	0.87	0.68	1.13	1.18	0.92	0.83
	8	0.43	0.64	0.72	0.54	1.06	1.18	0.93	0.84	1.18	1.12	0.96	0.83	0.78	0.98	0.85	1.02
	9	0.98	0.53	1.09	0.91	0.80	0.94	1.20	0.86	0.87	0.71	0.76	0.61	0.62	0.87	0.86	0.75
	10	0.72	0.66	0.94	0.74	0.87	1.29	1.21	0.85	0.98	1.04	0.99	0.74	0.81	0.98	1.16	1.03
	11	1.03	0.89	0.76	0.89	0.93	0.97	0.83	0.84	0.97	0.81	1.02	0.69	1.18	1.27	1.08	0.74
	12	1.06	0.67	0.71	0.76	1.06	1.04	0.82	1.38	1.03	0.87	0.77	0.82	0.87	1.23	1.00	0.68
E Vitamini (mg/dl)	1	0.320	0.220	0.124	0.169	0.385	0.290	0.132	0.162	0.360	0.384	0.265	0.193	0.098	0.144	0.087	0.099
	2	0.252	0.216	0.143	0.133	0.341	0.298	0.167	0.154	0.110	0.134	0.106	0.128	0.173	0.270	0.121	0.198
	3	0.215	0.198	0.098	0.135	0.415	0.310	0.268	0.192	0.202	0.216	0.148	0.155	0.197	0.214	0.139	0.145
	4	0.257	0.198	0.157	0.128	0.210	0.105	0.124	0.136	0.175	0.203	0.154	0.183	0.202	0.187	0.095	0.126
	5	0.150	0.105	0.076	0.084	0.297	0.256	0.163	0.144	0.185	0.201	0.139	0.156	0.135	0.199	0.087	0.096
	6	0.230	0.105	0.122	0.067	0.183	0.155	0.174	0.123	0.214	0.252	0.174	0.147	0.192	0.213	0.183	0.147
	7	0.245	0.225	0.149	0.092	0.240	0.197	0.168	0.178	0.360	0.351	0.213	0.303	0.191	0.236	0.176	0.105
	8	0.309	0.198	0.106	0.124	0.138	0.129	0.099	0.133	0.178	0.150	0.195	0.166	0.219	0.359	0.247	0.294
	9	0.277	0.191	0.134	0.108	0.231	0.158	0.106	0.088	0.127	0.160	0.102	0.134	0.292	0.360	0.194	0.153
	10	0.358	0.188	0.127	0.163	0.184	0.142	0.117	0.092	0.240	0.266	0.157	0.187	0.118	0.158	0.127	0.108
	11	0.297	0.179	0.202	0.143	0.243	0.147	0.084	0.108	0.219	0.242	0.138	0.167	0.105	0.149	0.133	0.165
	12	0.203	0.097	0.063	0.078	0.165	0.158	0.093	0.126	0.262	0.257	0.214	0.186	0.224	0.211	0.118	0.168

Tablo 8. Tüm gruplardaki hayvanlara ait A vitamini, β - karoten, C vitamini ve E vitamini değerlerinin aritmetik ortalamaları ($\bar{x} \pm Sx$) ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemi

Günler		A $\bar{x} \pm Sx$	B $\bar{x} \pm Sx$	C $\bar{x} \pm Sx$	D $\bar{x} \pm Sx$
A Vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	0	45.6 \pm 6.5 ^{aA}	47.3 \pm 11.0 ^{aA}	36.2 \pm 7.3 ^{bA}	46.3 \pm 15.0 ^{a*A}
	3	41.1 \pm 6.4 ^{aB}	43.9 \pm 11.7 ^{aB}	61.6 \pm 9.8 ^{bB}	65.1 \pm 17.1 ^{b***B}
	14	33.5 \pm 4.0 ^{aC}	41.7 \pm 8.7 ^{bB}	55.7 \pm 9.8 ^{cC}	50.5 \pm 14.4 ^{c***A}
	21	32.5 \pm 4.2 ^{aC}	35.7 \pm 7.9 ^{aC}	47.9 \pm 10.5 ^{bD}	45.3 \pm 9.8 ^{b***A}
β - karoten($\mu\text{g/dl}$)	0	127.6 \pm 42.6 ^{aA}	94.6 \pm 79.3 ^{ab}	114.8 \pm 29.2 ^{aAB}	60.6 \pm 35.2 ^{b*A}
	3	107.7 \pm 38.0 ^{aB}	66.8 \pm 55.0 ^b	106.9 \pm 28.5 ^{aA}	58.5 \pm 33.0 ^{b***AB}
	14	114.5 \pm 26.6 ^{aAB}	87.1 \pm 61.8 ^{ab}	91.1 \pm 32.3 ^{aA}	55.1 \pm 26.8 ^{b***B}
	21	121.8 \pm 42.9 ^{aAB}	75.9 \pm 58.0 ^b	114.8 \pm 26.4 ^{aB}	70.8 \pm 36.7 ^{b***AB}
C Vitamini (mg/dl)	0	0.80 \pm 0.2 ^A	0.87 \pm 0.2 ^A	0.96 \pm 0.2 ^A	0.90 \pm 0.2 ^A
	3	0.64 \pm 0.1 ^{aB}	1.04 \pm 0.2 ^{bB}	0.85 \pm 0.2 ^{cB}	1.09 \pm 0.2 ^{b***B}
	14	0.81 \pm 0.2 ^{aA}	0.94 \pm 0.2 ^{abAB}	0.87 \pm 0.1 ^{abc}	1.03 \pm 0.1 ^{b*AB}
	21	0.71 \pm 0.2 ^{aA}	0.93 \pm 0.2 ^{bAB}	0.71 \pm 0.1 ^{aAC}	0.91 \pm 0.2 ^{b***C}
E Vitamini (mg/dl)	0	0.259 \pm 0.1 ^{aA}	0.252 \pm 0.9 ^{aA}	0.219 \pm 0.8 ^{abA}	0.178 \pm 0.6 ^{b*A}
	3	0.176 \pm 0.5 ^B	0.195 \pm 0.7 ^B	0.234 \pm 0.7 ^B	0.225 \pm 0.7 ^B
	14	0.125 \pm 0.4 ^{aCD}	0.141 \pm 0.5 ^{abCD}	0.167 \pm 0.5 ^{bCD}	0.142 \pm 0.5 ^{ab*C}
	21	0.118 \pm 0.3 ^{ad}	0.136 \pm 0.3 ^{ad}	0.175 \pm 0.4 ^{bD}	0.150 \pm 0.5 ^{ab*AC}

a,b,c,d : Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tablo 9: Tüm gruplardaki hayvanlara ait vitamin düzeylerinin grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Parametreler	Günler	A $\bar{x} \pm Sx$				B $\bar{x} \pm Sx$				C $\bar{x} \pm Sx$				D $\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
A Vitamini ($\mu\text{g/dl}$)	0		***	***	***		**	*	***		***	-	-		***	***	**
	3			**	***			-	**			***	***			**	***
	14				-				***				-				*
	21																
β -karoten ($\mu\text{g/dl}$)	0		**	-	-		-	-	-		-	*	-		-	-	-
	3			-	-			-	-			-	-			-	*
	14				-				-				-				*
	21																
C Vitamini (mg/dl)	0		**	-	-		*	-	-		**	*	-		***	-	***
	3			*	-			-	-			-	*			-	**
	14				-				-				-				**
	21																
E Vitamini (mg/dl)	0		***	***	***		***	***	***		**	*	-		*	**	*
	3			***	***			**	**			***	***			***	**
	14				-				-				-				-
	21																

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Tablo 10. Tüm gruplardaki hayvanların günlere göre antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günler				Günler				Günler				Günler				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
Katalaz (U/gHb)	1	18	28	29	31	20	45	28	39	30	34	30	33	15	17	31	23
	2	14	27	32	32	21	42	27	47	28	28	24	31	17	16	28	21
	3	16	27	31	28	45	44	31	41	28	31	25	33	14	20	35	28
	4	27	34	34	32	41	47	45	42	31	44	31	31	28	31	24	27
	5	28	22	35	33	29	38	41	38	30	43	32	34	27	22	26	27
	6	28	26	28	32	30	34	42	42	28	41	35	35	24	24	23	31
	7	24	28	27	32	31	35	46	38	34	42	31	29	23	20	24	32
	8	23	28	31	33	35	41	41	42	30	44	28	32	28	31	21	25
	9	25	24	29	32	38	35	42	41	28	43	27	30	27	22	20	23
	10	24	25	30	34	38	41	46	42	34	41	25	32	24	24	23	27
	11	19	26	27	30	33	38	39	35	27	37	26	27	19	22	20	23
	12	22	28	26	32	36	34	35	34	31	35	30	33	21	24	22	26
Süper oksit dismutaz (U/g Hbg)	1	415	418	382	370	565	522	520	432	852	1083	548	475	814	722	544	465
	2	543	414	391	391	598	589	529	423	957	944	679	573	701	882	558	432
	3	532	432	398	407	647	615	518	421	759	1043	686	497	694	842	477	471
	4	445	425	408	349	604	541	487	427	841	1015	710	471	705	791	507	481
	5	447	419	357	340	586	545	491	408	875	987	705	468	703	731	501	425
	6	448	421	349	338	578	521	468	409	841	985	698	458	684	708	498	485
	7	532	425	357	349	548	518	498	421	935	948	686	468	697	842	503	471
	8	445	419	348	340	586	532	491	427	875	1015	710	481	705	791	501	481
	9	447	421	351	338	578	518	468	408	841	987	705	457	703	731	489	425
	10	445	438	339	345	548	532	498	409	935	985	698	481	684	708	501	483
	11	423	405	365	375	564	514	466	422	857	945	722	512	678	732	544	488
	12	437	425	378	362	556	525	492	452	825	927	736	524	706	744	586	522
Glutathion peroksidaz (U/gHb)	1	27	28	47	54	19	52	34	24	50	47	45	18	61	28	24	18
	2	13	25	51	57	24	39	58	16	60	48	42	24	84	41	25	23
	3	17	54	49	34	23	41	45	16	58	49	41	28	81	38	35	23
	4	18	71	48	38	23	40	61	22	57	49	43	25	56	28	33	31
	5	16	57	38	27	21	54	58	14	49	38	28	21	64	25	24	34
	6	28	58	45	48	18	44	49	17	45	37	34	24	61	17	19	28
	7	17	71	44	38	15	45	54	16	48	41	41	20	81	38	21	34
	8	18	57	41	27	21	53	58	23	49	49	43	18	56	28	32	31
	9	16	58	39	48	18	45	49	15	45	38	28	25	64	25	28	34
	10	18	58	45	34	15	53	54	17	48	37	34	22	67	17	32	28
	11	22	54	51	45	22	47	51	28	51	42	35	28	53	21	23	25
	12	18	45	54	57	18	45	49	25	53	43	38	32	61	24	21	29
Malondialdehit (nmol/ml)	1	0.50	1.08	1.21	0.89	0.39	0.67	0.46	0.74	0.61	0.87	0.48	0.67	1.44	0.62	0.51	0.77
	2	0.47	0.83	1.78	0.59	0.58	0.81	0.55	0.79	0.53	0.59	0.68	0.64	0.54	0.66	0.38	0.74
	3	0.74	0.67	1.49	0.78	0.81	0.63	0.67	0.59	0.45	0.71	0.49	0.64	0.66	0.53	0.50	0.91
	4	0.73	1.18	1.41	0.69	0.77	0.81	0.55	0.76	0.61	0.75	0.38	0.87	0.72	0.67	0.52	0.68
	5	0.73	0.74	1.97	0.66	0.69	0.91	0.68	0.81	0.59	0.79	0.78	0.68	0.69	0.72	0.61	0.87
	6	0.57	1.08	1.38	0.89	0.81	0.85	0.64	0.74	0.57	0.78	0.48	0.71	0.63	0.71	0.48	0.77
	7	0.66	0.83	1.21	0.59	0.80	0.78	0.46	0.79	0.61	0.74	0.68	0.67	0.57	0.62	0.56	0.74
	8	0.50	1.20	1.78	0.78	0.58	0.87	0.55	0.59	0.53	0.87	0.49	0.64	0.72	0.66	0.38	0.91
	9	0.47	0.87	1.49	0.69	0.81	0.83	0.67	0.76	0.45	0.59	0.38	0.64	0.81	0.53	0.50	0.68
	10	0.74	0.74	1.41	0.66	0.77	0.79	0.55	0.81	0.61	0.71	0.78	0.87	0.72	0.67	0.52	0.87
	11	0.51	0.76	1.34	0.84	0.86	0.94	0.67	0.74	0.65	0.76	0.56	0.71	0.72	0.48	0.35	0.64
	12	0.58	0.75	1.47	0.76	0.74	0.82	0.73	0.82	0.57	0.65	0.63	0.75	0.63	0.54	0.47	0.72

Tablo 11. Tüm gruplardaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipid peroksidasyon (MDA) düzeylerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri

	Günler	A ($\bar{x} \pm Sx$)	B ($\bar{x} \pm Sx$)	C ($\bar{x} \pm Sx$)	D ($\bar{x} \pm Sx$)
Katalaz (U/gHb)	0	22.3 \pm 4.6 ^{aA}	33.0 \pm 7.5 ^{bA}	29.9 \pm 2.3 ^{bAC}	22.2 \pm 5.0 ^{a***AB}
	3	26.9 \pm 2.9 ^{aB}	39.5 \pm 4.5 ^{bB}	38.5 \pm 5.4 ^{bB}	22.7 \pm 4.6 ^{c***B}
	14	29.9 \pm 2.8 ^{aC}	38.5 \pm 6.8 ^{bB}	28.6 \pm 3.4 ^{aA}	24.7 \pm 4.6 ^{c***BC}
	21	31.7 \pm 1.5 ^{aC}	40.0 \pm 3.5 ^{bB}	31.6 \pm 2.2 ^{aC}	26.0 \pm 3.3 ^{c***C}
Süper oksit dismutaz (U/gHb)	0	463.2 \pm 44.9 ^{aA}	579.8 \pm 27.9 ^{bA}	866.2 \pm 54.9 ^{cA}	706.1 \pm 35.2 ^{d***A}
	3	421.8 \pm 8.4 ^{aB}	539.3 \pm 31.2 ^{bB}	988.6 \pm 45.3 ^{cB}	768.6 \pm 59.4 ^{d***B}
	14	368.5 \pm 22.2 ^{aC}	493.8 \pm 20.7 ^{bC}	690.2 \pm 47.5 ^{cC}	517.4 \pm 32.6 ^{b***C}
	21	358.6 \pm 22.7 ^{aC}	421.5 \pm 12.7 ^{bD}	488.7 \pm 33.5 ^{cD}	469.0 \pm 28.8 ^{c***D}
Glutathion peroksidaz (U/gHb)	0	19.0 \pm 4.5 ^{aA}	19.7 \pm 3.0 ^{aA}	51.0 \pm 4.9 ^{bA}	67.5 \pm 10.5 ^{c***A}
	3	53.0 \pm 14.2 ^{aB}	46.5 \pm 5.3 ^{abB}	43.1 \pm 5.0 ^{bB}	27.5 \pm 7.9 ^{c***B}
	14	46.0 \pm 5.0 ^{ab}	51.6 \pm 7.4 ^{bB}	37.6 \pm 5.8 ^{cC}	26.4 \pm 5.4 ^{d***B}
	21	42.2 \pm 10.8 ^{ab}	19.5 \pm 2.3 ^{bA}	23.7 \pm 4.2 ^{bcD}	28.1 \pm 5.1 ^{c***B}
Malondialdehit (nmol/ml)	0	0.6 \pm 0.5 ^A	0.7 \pm 0.1 ^A	0.6 \pm 0.1 ^{AC}	0.6 \pm 0.1 ^A
	3	0.9 \pm 0.6 ^{aB}	0.8 \pm 0.1 ^{abB}	0.7 \pm 0.1 ^{bcB}	0.6 \pm 0.1 ^{c***A}
	14	1.5 \pm 0.5 ^{aC}	0.5 \pm 0.1 ^{bc}	0.6 \pm 0.1 ^{bc}	0.5 \pm 0.1 ^{b***B}
	21	0.7 \pm 0.1 ^A	0.7 \pm 0.1 ^A	0.7 \pm 0.1 ^B	0.8 \pm 0.1 ^C

a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A,B,C,D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

*: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

Tablo 12: Tüm gruplardaki hayvanların antioksidan enzim (katalaz, süperoksit dismutaz, glutathion peroksidaz) ve lipid peroksidasyon (MDA) sonuçlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Parametreler	Günler	A $\bar{x} \pm Sx$				B $\bar{x} \pm Sx$				C $\bar{x} \pm Sx$				D $\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
Katalaz (U/gHb)	0		*	***	***		*	*	*		-	-	*		***	-	-
	3			*	***			-	-			-	*			***	**
	14				-				-				-				**
	21																
Süper oksit dismutaz (U/gHb)	0		**	***	***		***	***	***		*	***	***		***	***	***
	3			***	***			***	***			***	***			***	***
	14				-				***				***				***
	21																
Glutathion peroksidaz (U/gHb)	0		***	***	***		***	***	-		-	-	***		***	***	***
	3			-	-			-	***			-	***			***	***
	14				-				***				***				***
	21																
Malondialdehit (nmol/ml)	0		*	**	-		*	**	-		***	***	***		-	**	***
	3			*	***			***	*			***	***			**	***
	14				***				***				***				**
	21																

* :p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001

Tablo 13. Tüm Gruplardaki Hayvanların Serum Total Protein ve Protein fraksiyonlarının % ve gr/dl miktarları ile A/G oranları

Hayvan no	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu					
	Günler				Günler				Günler				Günler					
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21		
Total protein (g/dl)	1	7.4	6.3	6.2	6.9	6.0	6.9	6.4	6.2	7.8	8.0	7.9	7.0	6.3	7.7	6.2	7.4	
	2	6.8	6.2	4.9	6.5	7.1	7.3	6.0	6.2	7.1	7.9	7.9	6.4	6.9	7.6	8.9	7.4	
	3	7.3	6.2	5.1	6.3	5.9	6.2	6.0	6.2	7.2	6.7	7.9	7.5	7.1	9.3	8.0	7.6	
	4	7.4	6.3	6.0	7.2	7.1	6.7	6.3	6.4	7.7	8.0	7.8	7.4	6.2	7.8	6.1	7.2	
	5	6.7	6.2	4.9	6.1	7.0	7.2	6.0	6.2	7.1	7.9	8.0	6.6	5.2	7.9	9.1	7.2	
	6	7.4	7.4	6.8	6.8	6.1	6.4	6.0	6.5	5.8	6.0	6.4	6.6	6.3	6.8	7.5	6.6	
	7	5.9	6.5	6.8	6.4	6.7	6.5	6.2	6.7	6.3	7.0	6.2	7.6	6.2	6.7	7.5	7.0	
	8	6.1	6.0	5.5	5.9	6.3	6.4	6.5	6.2	6.4	6.8	6.1	7.2	6.1	7.0	7.2	6.6	
	9	6.2	6.1	6.8	6.3	7.2	6.9	6.3	6.5	6.0	6.6	7.0	7.4	6.6	7.3	7.4	8.2	
	10	5.5	5.4	5.8	7.4	6.2	6.6	7.1	6.7	6.2	6.6	6.2	7.0	6.1	6.3	6.1	6.9	
	11	6.2	5.6	5.8	6.4	6.0	6.3	6.4	6.7	6.1	6.3	6.8	6.6	6.3	6.5	6.9	6.8	
	12	7.2	6.7	7.2	7.1	6.4	6.4	6.7	6.5	6.7	6.1	6.9	7.1	6.3	6.2	6.7	7.1	
Albumin	1	%	50.0	51.3	51.6	37.6	45.0	44.9	42.1	45.1	60.2	52.5	39.2	35.7	52.3	55.8	43.5	44.5
		g/dl	3.7	3.3	3.2	2.6	2.7	3.1	2.7	2.8	4.7	4.2	3.1	2.5	3.3	4.3	2.7	3.3
	2	%	48.5	50.0	36.7	40.0	49.2	53.4	48.3	51.6	40.8	49.3	39.2	39.0	49.2	44.7	43.8	39.1
		g/dl	3.3	3.1	1.8	2.6	3.5	3.9	2.9	3.2	2.9	3.9	3.1	2.5	3.4	3.4	3.9	2.9
	3	%	47.9	43.5	27.4	30.1	45.7	54.8	45.0	51.6	43.0	43.2	39.2	40.0	49.2	51.8	58.7	46.0
		g/dl	3.5	2.7	1.4	1.9	2.7	3.4	2.7	3.2	3.1	2.9	3.1	3.0	3.5	4.3	4.7	3.5
	4	%	52.7	52.3	33.3	41.6	49.2	50.7	49.2	53.1	45.4	42.5	41.0	41.8	48.3	46.1	42.6	44.4
		g/dl	3.9	3.3	2.0	3.0	3.5	3.4	3.1	3.4	3.5	3.4	3.2	3.1	3.0	3.6	2.6	3.2
	5	%	58.2	45.1	26.5	40.9	54.2	56.9	46.6	35.4	45.0	48.1	36.2	42.4	42.3	50.6	45.0	48.6
		g/dl	3.9	2.8	1.3	2.5	3.8	4.1	2.8	2.2	3.2	3.8	2.9	2.8	2.2	4.0	4.1	3.5
	6	%	47.2	50.0	56.5	50.0	44.2	46.8	46.6	47.6	48.2	50.0	51.5	43.9	49.2	48.5	48.0	51.5
		g/dl	3.5	3.7	3.9	3.4	2.7	3.0	2.8	3.1	2.8	3.0	3.3	2.9	3.1	3.3	3.6	3.4
	7	%	44.0	44.6	42.6	48.4	50.7	47.6	51.6	52.2	44.4	50.0	48.3	42.1	50.0	56.7	54.6	51.4
		g/dl	2.6	2.9	2.9	3.1	3.4	3.1	3.2	3.5	2.8	3.5	3.0	3.2	3.1	3.8	4.1	3.6
	8	%	39.3	46.6	49.0	47.4	46.0	48.4	52.3	54.8	43.7	47.0	49.1	48.6	50.8	45.7	51.3	46.9
		g/dl	2.4	2.8	2.7	2.8	2.9	3.1	3.4	3.4	2.8	3.2	3.0	3.5	3.1	3.2	3.7	3.1
	9	%	46.7	49.1	50.0	49.2	44.4	53.6	50.7	53.8	53.3	45.4	51.4	44.5	43.9	43.8	45.9	46.3
		g/dl	2.9	3.0	3.4	3.1	3.2	3.7	3.2	3.5	3.2	3.0	3.6	3.3	2.9	3.2	3.4	3.8
	10	%	45.4	51.8	48.2	54.0	45.1	48.4	54.9	55.2	48.3	48.4	48.3	40.0	47.5	55.5	52.4	49.2
		g/dl	2.5	2.8	2.8	4.0	2.8	3.2	3.9	3.7	3.0	3.2	3.0	2.8	2.9	3.5	3.2	3.4
	11	%	50.0	50.0	53.4	53.1	48.3	49.2	46.8	53.7	44.2	44.4	44.1	43.9	42.8	44.6	47.8	50.0
		g/dl	3.1	2.8	3.1	3.4	2.9	3.1	3.0	3.6	2.7	2.8	3.0	2.9	2.7	2.9	3.3	3.4
	12	%	43.0	43.2	45.8	49.2	51.5	50.0	52.2	50.7	51.6	49.1	52.1	46.4	47.6	45.1	50.7	52.1
		g/dl	3.1	2.9	3.3	3.5	3.3	3.2	3.5	3.3	3.2	3.0	3.6	3.3	3.0	2.8	3.4	3.7

Tablo 13'ün devamı.

α-1 globulin	1	%	9.3	5.9	7.0	7.8	1.6	17.3	11.7	11.2	3.8	6.2	12.6	12.1	4.2	6.1	5.0	6.8
		g/dl	0.7	0.4	0.4	0.5	0.1	1.2	0.7	0.7	0.3	0.5	1.0	1.0	0.2	0.4	0.3	0.5
	2	%	10.5	9.9	6.5	11.1	11.2	13.6	10.0	11.2	12.6	10.1	15.1	8.3	11.4	8.6	15.3	14.4
		g/dl	0.7	0.6	0.3	0.7	0.8	1.0	0.6	0.7	0.9	0.8	1.2	0.5	0.8	0.8	1.4	1.1
	3	%	12.3	11.2	8.4	11.4	11.6	9.5	13.3	11.2	11.2	9.0	15.1	11.2	11.2	16.1	10.9	11.8
		g/dl	0.9	0.7	0.4	0.7	0.7	0.6	0.8	0.7	0.8	0.6	1.2	0.8	0.8	1.5	1.0	0.9
	4	%	9.8	5.4	10.0	10.5	16.9	13.0	12.6	10.9	11.5	13.9	13.9	11.2	11.2	12.8	8.3	12.3
		g/dl	0.7	0.3	0.6	0.7	1.2	0.9	0.8	0.7	0.9	1.1	1.1	0.8	0.7	1.0	0.5	0.9
	5	%	6.4	11.4	8.4	10.2	14.0	12.3	11.6	11.2	9.8	11.3	17.7	8.3	9.6	11.5	15.3	9.5
		g/dl	0.4	0.7	0.4	0.6	1.0	0.9	0.7	0.7	0.7	0.9	1.4	0.5	0.6	0.9	1.4	0.7
	6	%	13.0	11.1	9.1	10.7	9.6	10.7	8.3	9.2	11.6	8.3	6.2	11.2	15.8	10.4	12.0	9.0
		g/dl	1.0	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	0.5	0.4	0.7	1.0	0.7	0.9	0.6
	7	%	7.2	9.5	13.6	9.4	10.4	10.7	7.8	16.4	12.6	8.5	11.2	15.2	6.4	4.4	10.6	8.5
		g/dl	0.4	0.6	0.9	0.6	0.7	0.7	0.5	1.1	0.8	0.6	0.7	1.1	0.4	0.3	0.8	0.6
	8	%	11.6	8.6	6.0	10.5	14.2	9.3	7.6	6.4	14.0	7.3	6.5	8.6	7.9	14.2	11.1	10.7
		g/dl	0.7	0.5	0.3	0.6	0.9	0.6	0.5	0.4	0.9	0.5	0.4	0.6	0.5	1.0	0.8	0.7
	9	%	12.9	10.0	10.5	8.2	9.6	10.1	9.5	7.6	5.0	13.6	7.1	7.1	12.1	13.6	10.8	12.1
		g/dl	0.8	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	0.6	0.5	0.3	0.9	0.5	0.5	0.8	1.0	0.8	1.0
	10	%	7.6	10.8	7.3	8.3	12.9	10.6	7.0	7.4	9.6	10.6	9.6	13.6	9.8	4.7	8.1	7.2
		g/dl	0.4	0.6	0.4	0.5	0.8	0.7	0.5	0.5	0.6	0.7	0.6	0.9	0.6	0.3	0.5	0.5
	11	%	9.9	7.6	5.7	3.9	8.0	9.5	10.9	7.4	9.8	12.6	13.2	11.2	15.8	12.3	4.3	10.2
		g/dl	0.6	0.4	0.3	0.2	0.5	0.6	0.7	0.5	0.6	0.8	0.9	0.7	1.0	0.8	0.3	0.7
	12	%	8.7	6.5	10.0	7.6	9.3	7.8	7.4	10.7	8.0	6.5	8.6	7.4	14.2	11.2	7.4	5.7
		g/dl	0.6	0.4	0.7	0.5	0.6	0.5	0.5	0.7	0.5	0.4	0.6	0.5	0.9	0.7	0.5	0.4
α-2 globulin	1	%	6.5	6.1	9.8	13.0	12.5	5.1	11.7	6.4	3.0	9.7	11.6	9.0	9.9	9.2	13.5	10.9
		g/dl	0.2	0.1	0.4	0.7	0.5	0.1	0.5	0.3	0.2	0.5	0.6	0.4	0.4	0.4	0.6	0.5
	2	%	5.4	5.3	12.5	14.1	8.7	5.2	10.2	5.7	5.8	7.1	7.3	7.3	5.5	5.5	6.3	6.1
		g/dl	0.1	0.1	0.5	0.6	0.3	0.1	0.4	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2
	3	%	5.4	7.2	19.3	11.9	9.2	5.0	6.6	6.3	6.8	7.0	6.2	6.9	5.1	5.2	5.6	6.4
		g/dl	0.1	0.2	0.8	0.5	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	0.2
	4	%	5.6	7.2	19.9	11.3	8.2	5.1	7.0	7.5	4.6	6.0	6.7	6.3	5.2	5.1	5.2	5.9
		g/dl	0.1	0.2	1.0	0.5	0.3	0.1	0.2	0.2	0.0	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
	5	%	5.6	5.1	18.9	10.4	7.3	5.2	7.3	7.1	4.5	5.9	6.3	7.0	5.6	5.1	6.5	5.3
		g/dl	0.1	0.1	0.8	0.4	0.2	0.1	0.2	0.2	0.0	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1
	6	%	7.7	9.0	6.7	8.1	8.8	8.6	9.0	7.0	7.3	7.3	8.6	7.2	5.5	8.4	5.3	5.5
		g/dl	0.3	0.4	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1
	7	%	13.3	9.7	12.4	8.2	6.9	8.6	8.6	6.9	7.1	8.2	8.8	6.7	5.6	6.9	5.3	5.4
		g/dl	0.6	0.4	0.8	0.3	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1
	8	%	10.0	8.6	12.3	8.7	8.7	7.1	7.0	5.6	8.6	9.8	7.2	8.3	8.7	5.4	5.3	5.5
		g/dl	0.4	0.3	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.3	0.4	0.2	0.3	0.3	0.1	0.1	0.1
	9	%	11.9	11.5	10.4	9.7	5.6	7.8	9.7	7.0	7.3	5.5	7.8	6.8	7.0	8.1	6.7	6.4
		g/dl	0.4	0.5	0.4	0.4	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2
	10	%	9.3	5.6	8.7	8.4	7.2	7.0	6.8	5.4	7.2	5.5	5.6	5.5	5.6	7.1	7.2	8.3
		g/dl	0.2	0.1	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3
	11	%	8.9	7.3	8.7	9.8	8.8	8.7	8.6	6.9	7.2	7.1	5.4	7.2	5.5	5.5	6.8	5.4
		g/dl	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1
	12	%	13.7	9.5	11.7	9.3	7.1	8.6	6.9	7.0	5.6	7.2	8.3	6.9	5.5	7.2	5.4	5.4
		g/dl	0.6	0.4	0.6	0.4	0.2	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1

Tablo 13'ün devamı.

β-globulin	1	%	10.1	7.6	8.5	7.5	4.0	3.0	10.5	8.0	9.2	4.2	5.4	15.5	1.5	1.5	1.5	3.5	
		g/dl	0.8	0.5	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.7	0.5	0.7	0.6	0.6	1.2	0.6	0.5	0.5	0.6
	2	%	11.1	9.7	11.5	10.4	5.0	3.0	3.0	3.0	2.5	8.5	5.4	2.5	7.0	3.0	3.6	9.3	8.0
		g/dl	0.8	0.6	0.6	0.7	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.5	1.3	0.5	0.6	0.8	0.7
	3	%	11.9	12.3	10.3	7.8	4.0	3.5	10.8	6.0	8.4	9.0	2.5	7.2	8.4	3.6	7.8	6.3	
		g/dl	0.9	0.8	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	1.5	0.6	0.6	0.6	0.7	
	4	%	9.9	9.7	9.6	5.3	3.0	3.5	1.5	7.8	6.6	5.4	4.2	7.8	12.6	4.2	9.9	7.2	
		g/dl	0.8	0.7	0.6	0.4	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	1.5	0.6	0.6	0.7	0.6	
	5	%	7.4	10.4	10.6	13.4	3.0	3.0	4.8	1.2	6.6	10.2	4.8	15.6	2.5	4.2	5.8	7.2	
		g/dl	0.5	0.7	0.6	0.9	0.5	0.5	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	0.6	
	6	%	10.1	7.5	6.7	6.9	11.2	9.0	11.6	11.5	13.3	11.5	9.0	11.2	1.5	8.4	9.1	9.0	
		g/dl	0.8	0.6	0.5	0.5	0.7	0.6	0.7	0.7	0.8	0.7	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	0.6	
	7	%	6.2	10.0	7.0	7.0	8.4	10.5	9.0	10.1	10.8	11.2	9.6	10.9	9.6	8.4	9.1	8.4	
		g/dl	0.4	0.7	0.5	0.5	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7	0.8	0.6	0.8	0.6	0.6	0.7	0.6	
	8	%	10.6	9.2	6.6	6.3	9.0	10.8	9.0	11.2	9.0	8.4	9.6	9.8	9.0	8.4	7.8	10.5	
		g/dl	0.7	0.6	0.4	0.4	0.6	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7	
	9	%	4.4	3.0	6.8	5.7	11.2	8.4	9.0	10.5	9.6	9.0	9.8	9.8	9.0	7.8	7.8	7.2	
		g/dl	0.3	0.2	0.5	0.4	0.7	0.6	0.6	0.7	0.6	0.6	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.6	
	10	%	10.0	6.5	9.5	10.2	12.8	10.5	11.2	10.1	11.2	9.0	11.2	10.5	2.5	9.0	9.6	8.4	
		g/dl	0.6	0.4	0.6	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.7	0.7	0.5	0.6	0.6	0.6	
	11	%	7.4	6.6	6.3	7.3	11.2	9.0	10.8	10.1	11.2	9.0	10.1	9.6	9.0	3.0	9.8	10.1	
		g/dl	0.5	0.4	0.4	0.5	0.7	0.6	0.7	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	0.6	0.5	0.7	0.7	
	12	%	9.0	8.3	9.0	6.6	9.0	10.8	10.9	9.0	11.2	9.6	9.8	10.1	9.0	9.6	10.1	8.4	
		g/dl	0.7	0.6	0.7	0.5	0.6	0.7	0.7	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7	0.6	0.6	0.7	0.6	
γ-globulin	1	%	27.0	30.1	25.8	37.6	36.6	28.9	28.1	29.0	24.3	27.5	32.9	27.1	28.5	27.2	33.8	33.7	
		g/dl	2.0	1.9	1.6	2.6	2.2	2.0	1.8	1.8	1.9	2.2	2.6	1.9	1.8	2.1	2.1	2.5	
	2	%	27.5	29.0	34.6	29.2	26.7	24.6	26.6	25.8	36.6	30.3	35.4	29.6	30.4	35.5	31.8	33.7	
		g/dl	1.9	1.8	1.7	1.9	1.9	1.8	1.6	1.6	2.6	2.4	2.8	1.9	2.1	2.7	2.8	2.5	
	3	%	25.6	29.0	35.2	42.8	28.8	25.8	28.3	25.8	36.1	35.8	36.7	25.3	29.5	33.7	32.5	30.1	
		g/dl	1.9	1.8	1.8	2.7	1.7	1.6	1.7	1.6	2.6	2.4	2.9	1.9	2.1	2.8	2.6	2.3	
	4	%	25.6	28.5	30.0	36.1	22.5	25.3	26.9	25.0	35.0	37.7	34.6	25.6	29.0	32.0	36.0	33.3	
		g/dl	1.9	1.8	1.8	2.6	1.6	1.7	1.7	1.6	2.7	2.7	2.7	1.9	1.8	2.5	2.2	2.4	
	5	%	26.0	30.6	36.7	27.8	21.4	22.2	28.3	29.2	36.6	31.6	36.2	36.3	29.0	29.1	29.6	31.9	
		g/dl	1.8	1.9	1.8	1.7	1.5	1.6	1.7	1.6	2.6	2.5	2.9	2.4	1.8	2.3	2.7	2.3	
	6	%	24.3	25.6	24.6	27.9	29.5	29.6	28.3	25.3	25.8	26.6	28.1	31.8	25.3	27.9	29.3	28.7	
		g/dl	1.8	1.9	1.7	1.9	1.8	1.9	1.7	1.9	1.5	1.6	1.8	2.1	1.6	1.9	2.2	1.9	
	7	%	32.2	29.2	25.0	29.6	26.8	26.1	29.0	27.4	28.5	25.7	25.8	30.2	32.2	26.8	24.0	30.0	
		g/dl	1.9	1.9	1.7	1.9	1.8	1.7	1.8	1.7	1.8	1.8	1.6	2.3	2.0	1.8	1.8	2.1	
	8	%	31.1	30.0	29.0	30.5	25.3	28.1	27.6	26.1	28.1	30.8	31.1	30.5	26.2	30.0	27.7	28.7	
		g/dl	1.9	1.8	1.6	1.8	1.6	1.8	1.8	1.7	1.8	2.1	1.9	2.2	1.6	2.1	2.0	1.9	
	9	%	29.0	29.5	26.4	30.1	36.1	24.6	25.3	25.3	28.3	30.3	28.5	36.4	31.8	30.1	32.4	31.7	
		g/dl	1.8	1.8	1.8	1.9	2.6	1.7	1.6	1.7	1.7	2.0	2.0	2.7	2.1	2.2	2.4	2.6	
	10	%	32.7	31.4	29.3	25.6	25.8	25.7	23.9	26.8	27.4	30.3	29.0	35.7	32.7	26.9	26.2	30.4	
		g/dl	1.8	1.7	1.7	1.9	1.6	1.7	1.7	1.7	1.7	2.0	1.8	2.5	2.0	1.7	1.6	2.1	
	11	%	29.0	32.1	29.3	29.6	26.6	26.9	26.5	26.1	31.1	30.1	30.6	33.3	30.1	33.8	34.7	27.9	
		g/dl	1.8	1.8	1.7	1.9	1.6	1.7	1.7	1.8	1.9	1.9	2.1	2.2	1.9	2.2	2.4	1.9	
	12	%	30.5	35.8	26.3	30.9	26.5	26.5	26.8	26.1	27.4	31.1	24.6	33.8	26.9	30.6	29.8	32.3	
		g/dl	2.2	2.4	1.9	2.2	1.7	1.7	1.8	1.7	1.7	1.9	1.7	2.4	1.7	1.9	2.0	2.3	

Tablo 13'ün devamı.

Albumin / Globulin	1	1.00	1.10	1.06	0.60	0.81	0.81	0.72	0.82	1.51	1.10	0.64	0.55	1.10	1.26	0.77	0.80
	2	0.94	1.00	0.58	0.66	0.97	1.14	0.93	1.06	0.69	0.97	0.64	0.64	0.97	0.80	0.78	0.64
	3	0.92	0.77	0.37	0.43	0.84	1.21	0.81	1.06	0.75	0.76	0.64	0.66	0.97	1.07	1.42	0.85
	4	1.11	1.10	0.50	0.71	0.97	1.03	0.96	1.13	0.83	0.73	0.69	0.72	0.93	0.85	0.74	0.80
	5	1.39	0.82	0.36	0.69	1.18	1.32	0.87	0.55	0.82	0.92	0.56	0.73	0.55	1.02	0.82	0.94
	6	0.89	1.00	1.30	1.00	0.79	0.88	0.87	0.91	0.93	1.00	1.06	0.78	0.96	0.94	0.92	1.06
	7	0.78	0.80	0.74	0.93	1.03	0.91	1.00	1.09	0.80	1.00	0.93	0.72	1.00	1.31	1.20	1.05
	8	0.64	0.87	0.96	0.90	0.85	0.93	1.09	1.21	0.77	0.88	0.96	0.94	1.03	0.84	1.05	0.88
	9	0.87	0.96	1.00	0.96	0.80	1.15	1.03	1.16	1.14	0.83	1.05	0.80	0.78	0.78	0.85	0.86
	10	0.89	1.07	0.93	1.17	0.82	0.94	1.21	1.23	0.93	0.94	0.93	0.66	0.90	1.25	1.10	0.97
	11	1.00	1.00	1.14	1.13	0.93	0.96	0.88	1.16	0.79	0.80	0.78	0.78	0.75	0.80	0.91	1.00
	12	0.75	0.76	0.84	0.97	1.06	1.00	1.09	1.03	1.06	0.96	1.09	0.86	0.90	0.82	1.03	1.08

Tablo 14: Tüm gruplardaki hayvanların deneme günlerindeki serum total protein ve protein fraksiyonlarının aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farkın istatistiksel önemi

	Günler	A x + Sx	B x + Sx	C x + Sx	D x + Sx
T protein (g/dl)	0	6.6 ± 0.7 ^A	6.5 ± 0.4 ^A	6.5 ± 0.7 ^A	6.3 ± 0.3 ^A
	3	6.2 ± 0.5 ^{aBC}	6.6 ± 0.4 ^{abA}	6.9 ± 0.8 ^{bB}	6.9 ± 1.0 ^{b**B}
	14	5.9 ± 0.8 ^{aB}	6.3 ± 0.3 ^{aB}	6.9 ± 0.8 ^{bB}	7.3 ± 1.2 ^{b***B}
	21	6.4 ± 0.3 ^{aAC}	6.4 ± 0.2 ^{aAB}	6.8 ± 0.5 ^{bB}	7.1 ± 0.5 ^{b**B}
Albumin yüzdesi	0	47.7 ± 1.4 ^A	47.7 ± 0.9	47.3 ± 1.3 ^A	47.1 ± 1.3
	3	48.2 ± 0.9 ^A	50.3 ± 1.0	47.4 ± 0.8 ^A	49.0 ± 1.3
	14	43.4 ± 2.9 ^C	48.9 ± 1.0	46.9 ± 1.6 ^A	48.6 ± 1.4
	21	45.1 ± 2.0 ^{acAB}	50.4 ± 1.6 ^a	41.5 ± 1.2 ^{bcB}	47.5 ± 1.0 ^{a**}
Albumin gram	0	3.2 ± 0.5 ^A	3.1 ± 0.4 ^A	3.1 ± 0.5	3.0 ± 0.2 ^A
	3	3.0 ± 0.3 ^{aA}	3.4 ± 0.4 ^{bB}	3.3 ± 0.4 ^b	3.5 ± 0.5 ^{b*B}
	14	2.5 ± 0.8 ^{aB}	3.1 ± 0.4 ^{bA}	3.1 ± 0.2 ^b	3.5 ± 0.6 ^{b**B}
	21	2.8 ± 0.4 ^{aAB}	3.2 ± 0.2 ^{bAB}	3.0 ± 0.3 ^a	3.4 ± 0.2 ^{b*B}
α ₁ glb yüzdesi	0	9.9 ± 2.2	10.7 ± 3.4	9.9 ± 3.3	10.8 ± 3.7
	3	8.9 ± 2.1	11.2 ± 2.2	9.8 ± 2.6	10.4 ± 3.4
	14	8.9 ± 2.1	9.8 ± 2.6	11.4 ± 3.0	9.9 ± 2.5
	21	9.1 ± 2.9	10.0 ± 1.8	10.4 ± 2.5	9.8 ± 2.5
α ₁ glb gram	0	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.3	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.2
	3	0.5 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.2 ^{ab}	0.5 ± 0.3 ^{b*}
	14	0.5 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.3 ^b	0.8 ± 0.4 ^{b**}
	21	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.7 ± 0.2
α ₂ glb yüzdesi	0	8.6 ± 2.7 ^{aAB}	8.2 ± 1.7 ^a	6.2 ± 1.4 ^{bA}	6.2 ± 1.5 ^{b**}
	3	7.6 ± 1.9 ^B	6.8 ± 1.6	7.1 ± 1.5 ^B	6.5 ± 1.4
	14	12.6 ± 4.5 ^{aAC}	8.2 ± 1.6 ^b	7.4 ± 1.7 ^{bB}	6.5 ± 1.7 ^{b***}
	21	10.2 ± 2.0 ^{aA}	6.5 ± 0.7 ^b	7.0 ± 1.3 ^{bB}	6.3 ± 1.6 ^{b***}
α ₂ glb gram	0	0.3 ± 0.2 ^{aAC}	0.3 ± 0.1 ^{aA}	0.1 ± 0.1 ^{bA}	0.2 ± 0.1 ^{b*}
	3	0.2 ± 0.1 ^A	0.3 ± 0.1 ^A	0.2 ± 0.1 ^B	0.2 ± 0.1
	14	0.6 ± 0.2 ^{aB}	0.3 ± 0.1 ^{bA}	0.2 ± 0.1 ^{bB}	0.2 ± 0.1 ^{b***}
	21	0.4 ± 0.1 ^{aBC}	0.2 ± 0.04 ^{bB}	0.2 ± 0.1 ^{bB}	0.2 ± 0.1 ^{b***}
β glb yüzdesi	0	9.0 ± 2.2	7.6 ± 1.4 ^A	9.6 ± 1.2 ^A	6.4 ± 0.6 ^{AB}
	3	8.4 ± 2.4	7.0 ± 1.3 ^{AB}	8.5 ± 1.0 ^{AB}	6.0 ± 0.6 ^A
	14	8.5 ± 1.8	8.5 ± 1.2 ^A	7.4 ± 1.0 ^B	8.1 ± 0.9 ^B
	21	7.8 ± 2.4	8.2 ± 1.1 ^B	10.4 ± 5.1 ^A	7.8 ± 0.7 ^B
β glb gram	0	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^A	0.5 ± 0.05 ^A
	3	0.6 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^{AB}	0.5 ± 0.03 ^A
	14	0.5 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	0.6 ± 0.1 ^{bB}	0.6 ± 0.1 ^{b*B}
	21	0.6 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.3 ^{bA}	0.6 ± 0.04 ^{a***C}
γ glb yüzdesi	0	28.5 ± 0.7	26.8 ± 1.6	30.4 ± 1.2	27.3 ± 0.6 ^A
	3	30.0 ± 0.7 ^a	26.1 ± 0.5 ^b	30.3 ± 0.8 ^a	30.3 ± 0.8 ^{a***B}
	14	29.3 ± 1.1 ^{ac}	27.1 ± 0.4 ^{ab}	31.0 ± 1.2 ^c	30.6 ± 1.0 ^{c**B}
	21	30.6 ± 1.3 ^a	26.4 ± 0.4 ^b	31.3 ± 1.1 ^a	31.0 ± 0.5 ^{a**B}
γ glb gram	0	1.9 ± 0.3 ^{AB}	1.8 ± 0.9	2.0 ± 1.2 ^A	1.9 ± 0.5 ^A
	3	1.9 ± 0.5 ^{aAB}	1.7 ± 0.3 ^a	2.1 ± 0.9 ^{bAB}	2.2 ± 0.9 ^{b***B}
	14	1.8 ± 0.2 ^{aA}	1.7 ± 0.2 ^a	2.2 ± 1.4 ^{bB}	2.2 ± 1.0 ^{b***B}
	21	2.0 ± 1.0 ^{ab}	1.7 ± 0.2 ^b	2.2 ± 0.7 ^{ab}	2.2 ± 0.7 ^{a***B}
Alb/Glb oranı	0	0.92 ± 0.3 ^A	0.92 ± 0.2	0.91 ± 0.5 ^A	0.90 ± 0.2 ^A
	3	0.87 ± 0.3 ^{aB}	0.93 ± 0.4 ^b	0.82 ± 0.2 ^{aB}	0.94 ± 0.4 ^{b**B}
	14	0.91 ± 0.5 ^{aA}	0.94 ± 0.3 ^a	0.83 ± 0.5 ^{bB}	0.93 ± 0.3 ^{a**B}
	21	0.88 ± 0.3 ^{aB}	0.93 ± 0.2 ^b	0.84 ± 0.2 ^{cB}	0.89 ± 0.3 ^{a***A}

a.b.c.d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A.B.C.D: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : p<0.05. ** : p<0.01. *** : p<0.001

Tablo 15: Tüm gruplardaki hayvanlara ait total serum protein ve protein fraksiyonları ile albumin-globulin oranlarının grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması.

Parametreler	Günler	A x + Sx				B x + Sx				C x + Sx				D x + Sx			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
T. Protein (g/dl)	0		*	*	-		-	**	-		**	***	*		**	**	**
	3			-	-			**	-			-	-			-	-
	14				*				-				-				-
	21																
Albumin (%)	0		.	*	**		.	.	.
	3			**	**		.	.	.
	14				*				-			*					.
	21																
Albumin (gr)	0		.	**	.		*		**	**	*
	3			*	.			*
	14			
	21						
α1- globulin (%)	0	
	3		
	14			
	21			
α1- globulin (gr)	0	
	3		
	14			
	21			
α2- globulin (%)	0		*		*	*	*		.	.	.
	3			**	*	
	14				.			**
	21			
α2- globulin (gr)	0		.	*	.		.	*	.		*	*	*		.	.	.
	3			**	*	
	14				.			**
	21			
β- globulin (%)	0		**
	3				*	*	*
	14				.			.	.			*	.				.
	21			
β- globulin (gr)	0		*	.		.	**	**
	3				*	*	*
	14				.			.	.			*	.			*	*
	21							*
γ- globulin (%)	0			**	**	**
	3		
	14			
	21			
γ- globulin (gr)	0		*	.		**	**	**
	3		
	14				**		
	21			
Alb/Glb	0		**	.	**		.	.	.		***	***	**		**	**	.
	3			*	**
	14				*						**
	21							**

* : p<0.05. ** : p<0.01. *** : p<0.001

Tablo 16. Tüm guplardaki hayvanların aşılama öncesi (0) ve sonrası (3. 14. 21) günlerdeki antikor titrasyon değerleri

Hayvan No	A grubu				B grubu				C grubu				D grubu				
	Günler				Günler				Günler				Günler				
	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	
O tipi antikor dilusyonu	1	0	0	0	0	0	45	45	0	0	0	0	0	0	45	362	
	2	0	0	64	64	0	0	0	0	0	0	96	64	0	0	96	96
	3	0	0	64	64	0	0	45	45	0	0	96	192	0	0	712	362
	4	0	0	32	32	0	0	0	0	0	0	192	192	0	0	64	45
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	192	192
	6	0	0	0	45	0	0	362	45	0	0	0	0	0	0	1400	362
	7	0	0	0	45	0	0	0	45	0	0	192	128	0	0	3096	128
	8	0	0	0	32	0	0	96	45	0	0	192	192	0	0	362	362
	9	0	0	96	45	0	0	192	45	0	0	192	96	0	0	362	362
	10	0	0	45	0	0	0	96	45	0	0	45	32	0	0	1400	712
	11	0	0	0	0	0	0	32	0	0	0	362	362	0	0	362	192
	12	0	0	0	45	0	0	32	45	0	0	362	362	0	0	1536	1024
A tipi antikor dilusyonu	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	45	0	0	0	0	96	
	2	0	0	0	0	0	0	32	32	0	0	64	45	0	0	45	96
	3	0	0	45	45	0	0	0	32	0	0	192	192	0	0	0	192
	4	0	0	32	45	0	0	0	0	0	0	96	96	0	0	45	45
	5	0	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	192	192
	6	0	0	0	32	0	0	256	0	0	0	0	0	0	0	362	192
	7	0	0	0	45	0	0	0	0	0	0	362	192	0	0	362	192
	8	0	0	0	0	0	0	128	0	0	0	96	96	0	0	96	32
	9	0	0	0	0	0	0	96	0	0	0	128	96	0	0	362	192
	10	0	0	0	0	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	192	192
	11	0	0	32	0	0	0	0	0	0	0	192	192	0	0	192	96
	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	256	362	0	0	362	256
Asta 1 tipi antikor dilusyonu	1	0	0	0	0	0	96	96	0	0	362	362	0	0	128	712	
	2	0	0	45	64	0	0	256	362	0	0	362	712	0	0	712	192
	3	0	0	192	128	0	0	96	192	0	0	362	712	0	0	192	1536
	4	0	0	96	128	0	0	256	256	0	0	712	712	0	0	96	45
	5	0	0	0	0	0	0	96	96	0	0	192	192	0	0	256	256
	6	0	0	45	96	0	0	2048	96	0	0	192	192	0	0	1400	712
	7	0	0	0	45	0	0	96	192	0	0	712	362	0	0	362	362
	8	0	0	45	32	0	0	192	192	0	0	1536	712	0	0	712	712
	9	0	0	96	96	0	0	256	96	0	0	712	512	0	0	512	512
	10	0	0	0	32	0	0	192	96	0	0	96	96	0	0	1400	2048
	11	0	0	45	0	0	0	96	192	0	0	1536	1536	0	0	712	712
	12	0	0	45	96	0	0	96	96	0	0	1536	1536	0	0	4096	4096

Tablo 17. Tüm gruplardaki hayvanların tüm günler için şekillenen antikor titrasyonu değerlerinin aritmetik ortalamaları ile gruplar ve günler arası farklılıkların istatistiksel önemleri

Günler		A $\bar{x} \pm Sx$	B $\bar{x} \pm Sx$	C $\bar{x} \pm Sx$	D $\bar{x} \pm Sx$
O tipi antikor dilusyonu	0	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A
	3	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A
	14	25.0 ± 34.2^{aB}	75.0 ± 106.5^{aB}	144.0 ± 128.2^{aB}	$802.2 \pm 909.1^{b***B}$
	21	31.0 ± 24.8^{aB}	30.0 ± 22.1^{aB}	135.0 ± 129.5^{aB}	$349.9 \pm 276.7^{b***B}$
A tipi antikor dilusyonu	0	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0^A
	3	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0^A
	14	9.0 ± 16.7^{aB}	45.3 ± 78.9^{abB}	119.2 ± 113.0^{bcB}	$184.1 \pm 148.0^{c***B}$
	21	16.5 ± 20.9^{aB}	5.3 ± 12.4^{aB}	105.9 ± 111.4^{bB}	$147.7 \pm 71.0^{b***B}$
Asia I tipi antikor dilusyonu	0	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A
	3	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A	0.0 ± 0.0^A
	14	50.7 ± 56.0^{aB}	314.6 ± 550.3^{abB}	881.5 ± 1104.3^{bB}	$692.5 \pm 549.3^{b*B}$
	21	59.7 ± 48.3^{aB}	163.5 ± 84.5^{abB}	991.2 ± 1130.7^{cB}	$636.3 \pm 476.2^{bc***B}$

a.b.c.d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

A.B.C.D :Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında fark önemli bulunmuştur.

* : $p<0.05$. ** : $p<0.01$. *** : $p<0.001$

Tablo 18: Tüm gruplardaki hayvanlara ait antikor titrasyonu değerlerinin grup içi günleri arasındaki farklılıklarının karşılaştırılması

Günler		A				B				C				D			
		$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$				$\bar{x} \pm Sx$			
		0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21	0	3	14	21
O tipi antikor dilusyonu	0		-	*	*		-	*	**		-	**	**		-	**	**
	3			*	*			*	**			**	**			**	**
	14				-				-				-				*
	21																
A tipi antikor dilusyonu	0		-	-	*		-	*	-		-	**	*		-	**	**
	3			-	*			*	-			**	*			**	**
	14				-				-				-				-
	21																
Asia 1 tipi antikor dilusyonu	0		-	**	**		-	**	**		-	**	**		-	**	**
	3			**	**			**	**			**	**			**	**
	14				-				-				-				-
	21																

* : $p < 0.05$. ** : $p < 0.01$. *** : $p < 0.001$

6.TARTIŞMA

Ülkemiz hayvancılığı için önemli bir sorun olan, tüm önlemlere rağmen her yıl ortaya çıkan dolayısıyla ülke ekonomisini olumsuz etkileyen ve en son olarak İngiltere’de ortaya çıkışıyla dünyada büyük yankı uyandıran şap hastalığı ile mücadelede oldukça duyarlı olmamız gerekmektedir.

Şap hastalığına karşı mücadelede aşılama en önemli korunma yöntemi olmasına rağmen gerek şap virusunun serotiplerinin fazla sayıda olması, gerekse aşılama sırasındaki bazı olumsuz etkiler aşının koruyuculuk gücünde azalmalara neden olabilmektedir. Sadece aşılama işlemi bile bir stres faktörü olarak etkileyerek bağışıklığın yeter düzeyde oluşmasını engellemektedir.

Çalışma gruplarındaki hayvanların tüm deneme günlerindeki (0., 3., 14. ve 21.) klinik muayene bulgularının (vücut sıcaklıkları, kalp frekansları, solunum frekansları ve rumen hareketleri) kaynaklarda belirtilen (12,15,79) sağlıklı hayvanlardaki bildirimlerle uyum içinde olduğu görülmektedir (Tablo 1).

Aşı uygulamasından sonraki 3. günde A ve B gruplarının ortalama vücut sıcaklığı değerlerinin özellikle D grubundan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu, kalp frekansı, solunum frekansı ve rumen hareketleri ortalama değerleri bakımından ise gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı belirlenmiştir (Tablo 2). Ayrıca tüm gruplardaki ortalama değerlerin fizyolojik sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir (12,15,79). Gruplar arasında 3. gündeki vücut sıcaklıkları değerlerindeki artışlar ile grup içi günleri arasındaki genelde aşı uygulamasını takiben 3. günde vücut sıcaklıkları (C ve D gruplarındaki artışlar önemsiz), kalp ve solunum frekanslarındaki önemli derecede artışlar ve rumen hareketlerindeki geçici azalmalar (önemsiz derecede) (Tablo 3) aşı uygulamasının normal sonuçları olarak gözlenebilir (4).

Araştırma hayvanlarına ait tüm günlerindeki (0., 3., 14. ve 21.) total lökosit, mikro hematokrit, hemoglobin miktarı ve formül lökosit (lenfosit, nötrofil, eozinofil, monosit ve bazofil yüzdeleri) ortalama değerlerinin (Tablo 4) kaynaklarda (8,12,15,104) belirtilen sağlıklı hayvanlardaki değerlerle uyum içinde olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışmada; total lökosit, mikrohematokrit değer, nötrofil ve bazofil yüzdeleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmadığı hemoglobin miktarları, lenfosit, eozinofil, monosit yüzde değer ortalamaları açısından değişik günlerde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Tablo 5).

Reddy ve ark. (75), günlük vitamin E ihtiyaçlarını saptamak amacıyla 0-6 aylık buzağuları kontrol (0), 125, 250 ve 500 IU vitamin E/gün/buzağı olacak şekilde E vitamini uygulayarak çeşitli deneme gruplarına ayırmışlar ve çalışma sonucunda tüm deneme grupları arasında hemoglobin ve mikrohematokrit değerleri arasında önemli bir farklılık tespit etmemişlerdir.

Reddy ve ark. (77), yaklaşık 6 haftalık buzağuları üç deneme grubuna ayırarak bu buzağılara 6 hafta süreyle 0, 1400 ve 2800 mg dl- α -tocopherol asetatı bir hafta arayla ve ayrıca 1400 mg dl- α -tocopherol asetatı yine birer hafta arayla enjekte etmişlerdir. Kontrollerle karşılaştırıldığında oral ve enjeksiyon tarzında E vitamini verilen hayvanlar arasında lenfosit stimülasyonu bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır.

Keçeci ve ark. (44), vitamin C ve çevre sıcaklığının İsviçre esmeri boğalarda bazı hematolojik değerlere olan etkilerini araştırdıkları çalışmada, kontrol ve C vitamini uygulanan boğalarda 20.8°C çevre sıcaklığı şartlarında belirledikleri hemoglobin miktarı artışı dışında aynı ısı derecelerinde vitamin C

uygulanan ve uygulanmayan hayvanların kan parametrelerinde (hematokrit, total lökosit) önemli bir farklılık saptamamışlardır. Yine aynı çalışmada C vitamini uygulanan ve uygulanmayan boğalarda sadece yüksek ısıda (20.8°C çevre ısısı şartlarında) akyuvar sayılarının fazla olduğu ($p<0.05$) fakat akyuvar tiplerinin oranları arasında ise önemli bir fark olmadığını saptamışlardır.

Çalışmada, total lökosit ve mikrohematokrit değerler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıkların olmayışı (Tablo 5), ayrıca grup içi günleri arasında lenfosit yüzdeleri bakımından genelde farklılıkların istatistiksel olarak önemin olmayışı (B grubunda 0.-3. günler dışında) (Tablo 6) bu literatür (44,75,77) bilgileriyle uyum içerisindedir.

Araştırma hayvanlarında, tespit edilen A vitamini, β -karoten, C vitamini ve E vitamini düzeylerinin araştırmacıların (13,43,57,58,70,92) sağlıklı hayvanlardaki bildirimleriyle uyum içerisinde olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışma sonuçlarına göre; A vitamini yönünden özellikle 3., 14. ve 21. günlerde A ve B gruplarındaki ortalama değerlerin C ve D gruplarındaki ortalama değerlerden önemli derecede ($p<0.001$) düşük olduğu dikkati çekmektedir. A ve B gruplarında tüm günlerde, C ve D gruplarında 14. ve 21. günlerde A vitamini düzeyleri azalmıştır (Tablo 8). Özellikle stresin karotenoidlerin A vitamini'ne dönüşümünü azaltarak A vitamini düzeylerini düşürmesi nedeniyle A vitamini uygulanmayan A ve B gruplarında aşı stresine bağlı olarak 3. günde düzeylerin düşmesi literatürleri destekler niteliktedir (12,57,58,70). Ayrıca A vitamini değerlerinin 21. güne kadar azalmasının nedeni devamlı kullanılması sonucudur. Aşı uygulamasına rağmen C ve D gruplarında 3. günde görülen A vitamini düzeylerindeki artışlar (Tablo 8 ve 9) bu gruplardaki sığırlara şap aşısı uygulamasına ilaveten AD₃E vitamini

uygulanmasının sonucudur. Bu bulgular, bu vitaminlerin uygulanmasıyla kan düzeylerinin artırıldığını ifade eden araştırmacıların bildirimlerini (37,39) destekler niteliktedir..

A vitamini ve E vitamini'ne ilaveten antioksidan olmayan D₃ vitamininin birlikte uygulanmasının nedeni, sahadaki preparatların bir arada bulunması ve yetiştiricilerin de bu kombinasyonları rutin olarak kullanmalarındır.

Çalışmada, A ve C gruplarındaki hayvanların tüm günlerdeki (0., 3., 14. ve 21.) β -karoten ortalama düzeylerinin B ve D gruplarındaki hayvanlardan daha yüksek ve özellikle 3. ve 21. günde A ve C grupları ile B ve D grupları arasında önemli istatistiksel farklılıkların olduğu görülmektedir (Tablo 8). Gruplar arasındaki bu farklılıkların muhtemelen gruplardaki hayvanların beslenme şekliyle alakalı olduğu düşünülmektedir. Zira A ve C grubundaki hayvanlara besi yemine ilaveten yeşil ot verilmiştir. Serum beta karoten değerlerinin beslenme ve çevre şartlarına göre büyük varyasyon gösterdiği düşünülerek farklılıkların olabilmesi normal karşılanabilir (90,92). Yeşil yem verilmesine rağmen A ve C gruplarında bile beta karoten miktarlarının kritik düzeylerde olması (79) yeşil yemin yetersiz verildiğini düşündürmektedir.

β -karoten düzeylerinin tüm gruplarda aşı uygulamasından sonraki 3. günde önemli derecede olmasa da azaldığı (A grubunda önemli, $p < 0.01$) ve son deneme gününe doğru (21. gün) ise tekrar yükselmeye (B grubunda azalmış) başladığı anlaşılmaktadır. Bu da, aşı uygulamasına bağlı olarak hayvanlarda başlangıçta görülen iştahsızlığın düzelmesiyle açıklanabilir (4).

C vitamini düzeyleri açısından başlangıçta (0. gün) gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığı, 3. günde A grubunun diğer gruplardan daha düşük, C grubunun B ve D grubundan daha düşük olduğu

($p<0.001$), 14. günde A ve C grubunun D grubundan düşük olduğu ($p<0.05$) ve 21. günde A ve C grubunun B ve D grubundan istatistiksel olarak önemli derecede düşük olduğu ($p<0.01$) görülmektedir (Tablo 8 ve 9). Genel olarak B ve D gruplarındaki C vitamini düzeylerindeki artışların aşı uygulaması sırası ve sonrasındaki ilave C vitamini uygulamalarına bağlı olduğu düşünülmektedir. C vitamini enjeksiyonu yapılmayan A ve C gruplarında özellikle 3. günde görülen düşüşlerin aşılama ile kan plazması askorbik asit konsantrasyonlarında geçici azalma oluştuğunu ifade eden Kolb (46)'un bildiriyle uyum içerisindedir.

E vitamininin grup ortalama değerleri bakımından 0. günde genelde A ve B grubunun C ve D grubundan daha yüksek olduğu görülmektedir. Diğer deneme günlerinde ise (3., 14. ve 21.) A ve B grubundaki düzeylerin C ve D gruplarından daha düşük olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 8). Bu durumda muhtemel nedeni C ve D gruplarına aşı uygulamasına ilaveten AD₃E vitamini uygulanmış olmasıdır. Çalışmada şap aşısı uygulaması sırasında AD₃E vitamininin kullanıldığı C ve D gruplarında vitamin düzeylerinin yüksek olması bu vitaminlerin uygulanmasıyla düzeylerin artırılacağını ifade eden literatürle uyum içerisinde bulunmuştur (39). Ayrıca aşı uygulamasına bağlı stres nedeniyle A ve B gruplarında E vitamini düzeylerinin düştüğü kanısına varılmıştır. Bu sonuçlar stres ile E vitamini düzeylerinin düştüğünü ifade eden literatürü destekler niteliktedir (65).

Yarahoğlu (102) yapmış olduğu çalışmada, sağlıklı erkek sığırların kan plazmasında glutathion peroksidaz (GsH-Px) aktivitesini ortalama 54.81 U/g Hb (21.73 -88.27 U/g Hb arasında), katalaz (CAT) aktivitesini ortalama 89.72 U/g Hb (57.9 -119.1 Ü/g Hb arasında) ve malondialdehit (MDA) aktivitesini ortalama 3.01 mmol/ml (1.99-3.98 mmol/ml) plazma olarak saptamıştır. Yalnız

tespit ettiği katalaz ve malondialdehit değerlerini yeterli literatür bilgisine rastlayamadığı ve mevcut literatürlerde de farklı tayin metotları kullanıldığı için tartışamadığını ifade etmiştir.

Scholz ve ark. (83), kan GSH-Px aktivitesini buzağularda 20-50 U/g Hb, Wilson ve ark. (98) sığırlarda kan GSH-Px aktivitesini 2-30 U/gHb ve Ozan ve ark (69) sağlıklı sığırlardaki kan GSH-Px aktivitesini 75.62 U/gHb olarak bildirmişlerdir.

Çalışma sonucunda elde edilen değerlerden katalaz ve malondialdehit değerlerinin Yaralıoğlu (102)'nun bildirimleriyle uyum içerisinde olmadığı, ancak glutation peroksidaz değerlerinin araştırmacılar (83,98,102) tarafından bildirilen en düşük (2 U/g Hb) ve en yüksek (88.2 U/g Hb) değerler arasında olduğu görülmektedir (Tablo 10).

Enzim aktivitelerinin ölçülmesi ve değerlendirmesinde; örneklerin saklanmasıdaki zorluklar, özellikle GSH-Px aktivitesi tayini için hemoliz oluşturmada farklı maddelerin kullanılması, enzim konsantrasyonlarını ifade etmede kullanılan ünite birimindeki bazı tutarsızlıklar, ayrıca her laboratuvar tarafından farklı bir ölçüm metodunun kullanılması gibi nedenlerden dolayı dikkatli olunmalıdır (83,97).

Yapılan taramalarda, sığırlarda süperoksit dismutaz enzim değerleriyle ilgili bir yayına rastlanamadığı için tespit edilen düzeyler tartışılmamıştır.

Çalışma sonuçlarına göre, katalaz ortalama değerlerinin çalışmanın başlangıcında B ve C gruplarında A ve D gruplarından önemli derecede yüksek olduğu ($p<0.001$), düzeylerin aşı uygulamasından sonraki 3. günde de B ve C gruplarında A ve D gruplarından önemli derecede yüksek olduğu ($p<0.001$), 14. ve 21. günlerde B grubunun katalaz ortalama düzeyinin tüm gruplardan yüksek

($p<0.001$), D grubunda ise en düşük olduğu ($p<0.001$); malondialdehit düzeyleri bakımından 0. günde gruplar arasında fark olmadığı, 3. günde en yüksek A grubunda, en düşük D grubunda, 14. günde yine en yüksek A grubunda en düşük B ve D gruplarında bulunduğu ($p<0.001$), 21. günde ise gruplar arasında fark olmadığı; süper oksit dismutaz düzeylerinin 0., 3., 14. ve 21. günlerde A grubunda en düşükken C grubunda en yüksek olduğu; glutatyon peroksidaz düzeylerinin 0. günde sadece C ve D gruplarında A ve B gruplarından yüksek olduğu, 3. ve 14. günde en düşük D grubunda 21. günde en düşük B grubunda olduğu görülmektedir (Tablo 11). Katalaz ve malondialdehit için aşı uygulaması sonrası 3. günde tüm gruplarda enzim değerlerinin (katalaz için D grubunda önemli olmayan artış) arttığı, 14. günde A grubunda düzeyler artmaya devam ederken B, C, ve D gruplarında genel olarak azalma eğiliminde olduğu (D grubunda sadece katalaz düzeyinde önemsiz artış) ve 21. günde tekrar arttığı (A grubunda MDA düzeyinde azalma); süper oksit dismutaz değerlerinde A ve B gruplarında aşılama sonrası günlerde önemli derecede azalmalar saptanırken C ve D gruplarında önce artma (3. günde) sonra azalma ve glutatyon peroksidaz değerleri bakımından A ve B gruplarında aşılama sonrası günlerde (3. günde belirgin) önce artma (B grubunda 14. günde önemsiz artış) sonra azalma saptanırken C ve D gruplarında azalma saptanmıştır.

Bu bilgiler ışığında katalazın sadece aşı yapılan grupta devamlı belirgin artışı stresin devam etmesi ile açıklanabilir. Ancak B ve C gruplarında vitamin uygulamalarının 3. günde artışı önleyemediği, D grubunda ise AD₃E ve C vitaminlerinin bir arada uygulanmasının 3. günde önemsiz derecede artışa neden olduğu; süper oksit dismutaz değerlerinin gruplar arasında her ne kadar istatistiksel olarak önemlilik saptansa da vitamin uygulamalarından

etkilenmediği ve glutatyon peroksidaz değerlerinin özellikle C (AD₃E) ve D (AD₃E + C) gruplarında uygulanan vitaminlerden olumlu etkilendiği ve malondialdehit düzeylerinin B, C ve D gruplarında uygulanan vitaminlerden olumlu etkilendiği, özellikle D grubunda 3. günde artışın olmayışı ve 14. gündeki düşüşler uygulanan vitaminlerle açıklanabilir.

Zira aşılamanın hayvanlarda bir stres faktörü olarak etkiyerek vücutlarındaki radikal düzeylerini artırabileceği ve E vitamini ve C'nin stresin olumsuz etkilerini azaltıcı etkilerinin olduğu ifade edilmektedir (78,80,85).

Çeşitli hastalıklara bağlı olarak serum veya plazmadaki total protein miktarındaki değişikliklerin belirlenmesinde birçok metot olmasına rağmen çalışmada basit olması nedeniyle en fazla kullanılan Biüret tekniği tercih edilmiştir.

Serum protein fraksiyonlarındaki değişiklikler enzimatik, refraktometrik, spektrometrik ve elektroforetik olarak belirlenmektedir. Elektroforez yöntemi ile globulin fraksiyonlarının ayrı ayrı kalitatif ve kantitatif değişimlerini belirlemek mümkün olduğundan bu metot tercih edilmiştir.

Tüm gruplardaki hayvanların başlangıç günündeki (0.gün) total protein, albumin, α , β , γ - globulin yüzde ve gram değerlerinin ve A/G oranlarının literatürlerle uyumlu (5,8,61,94,95) olduğu görülmektedir (Tablo 13).

Özellikle sadece şap aşısının uygulandığı grupta (A) 3. ve 14. günde total protein miktarlarındaki düşüş aşı stresine bağlı olarak gelişen geçici iştahsızlıkla açıklanabilir.

Sığırların serum elektroforez işleminde elde edilen sonuçlar bakım, besleme, bireysel farklılık ve yaşa bağlı olarak da farklılık gösterebilir. Bu farklılıklar, bir canlıda veya türde proteinlerin genetik kontrol altında

sentezlendiği ve bu nedenle bireyler ve türler arasında varyasyonlar olduğu ve bu varyasyonların normal serum protein elektroforetik yapılarının türlere göre değişiklik göstermesiyle açıklanabilir (95).

Genelde organizmanın hastalıklara karşı verdiği cevabı yansıtan serum elektroforez işlemi sonucunda, gruplar ve gruplarının günleri arasında her ne kadar istatistiksel olarak önemli farklılıklar saptansa da, özellikle bağışıklıkla ilgili olarak dikkat edilmesi gereken gama globulin gram değerlerindeki C ve D grubundaki belirgin artışın (3., 14. ve 21. günlerde belirgin artış) bağışıklığın gelişmesi üzerine AD₃E ve C vitaminlerinin bir arada kullanılmasının etkili olduğunu göstermektedir (Tablo 14 ve 15).

Hıdıroğlu ve ark (37), buzağuların immun yanıtları üzerine E vitamini ve C vitamini'nin tek başlarına ve birarada etkilerini araştırmışlar ve buzağuları iki ayrı deneme grubuna ayırarak birinci gruba 0, 1 ve 2 gr/gün dozunda C vitamini uygulamışlar, sonuç olarak askorbik asit konsantrasyonlarının kontrollere nazaran önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Tedavi grupları arasında IgG₁ ve IgG₂ yönünden bir farklılık saptanılmamıştır. İkinci gruba ise C vitamini ve E vitamini beraber uygulanmış ve yine vitamin düzeyleri kontrollere nazaran önemli derecede artarken IgG₁, IgG₂ ve IgM'de önemli bir farklılık saptanamazken sadece IgM kontrollere nazaran biraz daha yüksek düzeyde saptanmıştır.

Tespit edilen bu sonuçlar; Brian, R'nin (81) stres sırasında immun fonksiyonların tipik olarak azaldığını ve C vitamini ilavelerinin özellikle stres yapıcı faktörlerin immunosupressiv etkisini ortadan kaldırdığını ve Lundquist ve ark.'nın (52), C vitamini uygulamalarının buzağılarda tek başına ve E vitamini

ile birlikte uygulanmasıyla immun yanıtın olumlu etkilediğine dair bildirimleriyle uyum içerisinde.

Tüm gruplardaki hayvanların hiçbirinde aşı uygulamasından sonraki ilk 3 günde antikor oluşmadığı, bağışıklığın 14. günde bile O ve A 1 tipine karşı B ve C grubunun bazı hayvanlarında oluşmadığı, D grubunda iki hayvanda A tipine karşı antikor oluşmadığı ayrıca 21. günde D grubu dışındaki tüm gruplarda antikor düzeyleri belirlenemeyen hayvanlar olduğu dikkati çekmektedir (Tablo 16). Bu durum individual farklılıklar ve uygulanan vitaminlerle (AD₃E + C) açıklanabilir. Araştırma sonuçlarına göre, 14. ve 21. günlerde sadece Asia 1 tipine karşı A grubunda antikor oluşmayan hayvanların olduğu görülmektedir (Tablo 16).

Çalışma gruplarının hiçbirinde ilk 3 günde her üç tipe karşı antikor oluşmadığı, 14. ve 21. günlerde ise O tipine karşı D grubunda antikor titrasyonunda önemli derecede artış olduğu, ayrıca B ve C gruplarında bile antikor oluşumu önemli olmasa da A grubundan daha fazla olduğu (B grubunda 21. günde A'dan düşük) dikkat çekici bulunmuştur. Tip A'ya karşı yine en fazla antikorun 14. günde D grubunda olduğu, 21. günde C ve D gruplarında A ve B'den önemli derecede fazla olduğu, Tip Asia 1'e karşı ise 14. günde özellikle C ve D grubunda artışların A grubundan önemli derecede fazla olduğu, 21. günde ise C ve D gruplarında antikor seviyesinin A ve B'den fazla ve en yüksek C grubunda olduğu anlaşılmaktadır (Tablo 17).

Tüm gruplarda önce de ifade edildiği gibi 0. ve 3. günlerde antikor teşekkülünün olmadığı, 14. ve 21. günlerde ise belirli düzeylerde antikor şekillendiği görülmektedir. Bu da bağışıklığın 2. haftadan itibaren şekillendiğini ifade eden literatürle uyum içerisinde (34).

Şap hastalığı yönünden canlı organizmalarda vücudun ilk defa uyarılması halinde bağışıklığı meydana getiren hücrelerin aktivasyonu zayıf olmakta ve buna bağlı olarak da antikor sentezi fazla olmamaktadır. Bir hayvanda bağışıklığı sağlayabilmek için en az 4-5 aşılama gerekmektedir (4).

Yalım ve ark (101), O₁ tipi şap aşısının bağışıklık süresinin tespiti üzerine yaptıkları çalışmada; şap hastalığına duyarlı ve kanında şap virusuna karşı antikor taşımayan, sağlıklı 12-18 aylık danaları kullanmış ve çalışmanın sonunda şap hastalığına karşı hayvanlarda koruyucu seviyede antikor oluşması ve dolayısıyla hastalığın eradikasyonu için hayvanlara ilk aşının 5. ayda, ikinci aşının 8 ve üçüncü aşının 12. ayda yapılmasını ve 12. aydan itibaren hayvanların altı ayda bir aşılanmalarının yeterli bağışıklığı sağlayacağını bildirmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar hayvanların gerek yapılan epruvasyon sonucunda ve gerekse kan serumlarındaki antikor seviyelerinin serum nötralizasyon testiyle tespit edilen serum nötralizan indeks sonuçlarına göre hayvanların altı ay müddetle bağışık kaldığı (% 60 oranında) ve altınca ayın sonunda revaksine edilmeleri gerektiğini saptamışlardır.

Sığırlarda bağışıklığın aşılardan sonra kısa bir süre içinde teşekkül edeceği, iyi bir aşı ile hayvanda 7-8 gün içinde tespit edilebilir bir bağışıklık meydana gelebileceği, genellikle bu süre 8-12 gün olarak hesap edilirse de 20 güne kadar uzayabileceği ifade edilmektedir. Bağışıklığın aşılardan sonraki 3.-4. haftada en yüksek düzeye ulaşacağı, devamlılığının ise aşının kalitesine bağlı olabileceği, hiçbir tek aşılamada bağışıklığın 8 aydan fazla sürmeyeceği ifade edilmektedir. Ayrıca hayvanın bireysel durumunun bağışıklıkta etkisinin çok olduğu ve aşının bağışıklık gücünün aşılamanın tekrarı ile artacağı belirtilmiştir (34).

İlk kez şap aşısıyla aşılanmış danalarda aşılama sonrası ilk 21 gün içerisinde aşılama karşı antikor titresinin tespit edilememesi normal bir reaksiyon olarak kabul edilebileceği düşünülürse; çalışmadaki bazı olgularda antikor düzeylerin yetersiz olması (1/64 düzeyi: -, 1/64 – 1/96 : şüpheli, 1/96 ve üzeri: +) yine de iyi sonuç olarak değerlendirilebilir, çünkü en azından hayvanda immun sistem uyarılmıştır ve bir sonraki aşılama da daha iyi sonuçlar alınabileceğinin göstermektedir.

Bazı araştırmacılar (26) C vitamini ilavelerinin buzağuların immun fonksiyonları üzerine faydalı etki göstermediğini bildirmelerine karşın, Lundquist ve Philips (52) C vitamini ilavelerinin enfeksiyonlara karşı direnci artırdığını bildirmişlerdir. Çeşitli tipteki stres olayları plazmada askorbik asit konsantrasyonunu ve spesifik bir antijene karşı immun yanıtı azaltmaktadır.

Stres sırasında immun fonksiyonlar tipik olarak azalmaktadır ve C vitamini ve E ilaveleri özellikle stres yapıcı faktörlerin immunosupresif etkisini ortadan kaldırır (24,37,75,81). Bu olay birkaç şekilde olmaktadır;

Birinci olarak askorbik asit bir antioksidan olarak etkir. Serbest radikaller hücre membranlarına kolayca zarar verdiklerinden antioksidanlar lenfositleri oksidasyondan korumada önemlidir ve böylece immun sistemin devamlılığı sağlanmış olur. İkinci muhtemel neden ise askorbik asit ilaveleri immun sistemi baskıladığı bilinen adrenal steroidlerin aşırı üretilmesini baskılar (81).

Çalışmada şap aşısı uygulanan gruplar arasında en yüksek düzeyde antikor teşekkülü AD₃E ve C vitaminlerinin bir arada kullanıldığı D grubunda tespit edilmiş olup, bu durumun özellikle A, E ve C vitaminlerinin stresi önlemedeki etkilerinden kaynaklandığı ve aşı stresini en aza indirerek yeter

düzeyde antikor teşekkülünü sağladığı, muhtemelen D₃ vitamininin etkili olabileceği de düşünülmektedir.

Sonuç olarak; Ülkemiz hayvancılığını her dönem olumsuz etkileyen ve büyük ekonomik kayıplara neden olan şap hastalığıyla mücadelede aşılama en önemli ve yaygın korunma metodu olduğundan, aşılama stresinin neden olduğu bir takım olumsuz etkileri azaltmak ve sonuç olarak daha güçlü ve yeter düzeyde bir bağışıklık şekillenmesini sağlamak amacıyla aşılama işlemi sırasında A, E ve C vitaminleri gibi antistres özelliği olan vitaminlerin uygulanmasının yaralı olacağı, ancak antikor düzeylerinin ne kadar süre yüksek kaldığını belirlemek için 21. günden sonraki takip eden aylarda (en azından 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. aylarda) antikor titrelerinin tespit edilmesinin gerektiği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Aebi, H. (1974). In: Bergmeyer, H.U., ed. *Methods of enzymatic analyses*. New York: Academic Press;: 673-683.
2. Akaike, T. (2001): Role of free radicals in viral pathogenesis and mutation. *Rev. Med. Virol.* 11: 87-101.
3. Akaike, T. and Maeda, H. (2000): Nitric oxide and virus infection. *Immunology.* 101: 300-308.
4. Aksın, M., Adıbeş, M., Erdem, H. ve Cinoğlu, L. (1997): Şap Hastalığı ile Mücadele. Şap Enstitüsü. 5-20, Ankara,
5. Altıntaş, A ve Fidancı, U.R.(1993): Evcil Hayvanlarda ve İnsanlarda Kanın Normal Biyokimyasal Değerleri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.* 40(2): 173-186.
6. Arda, M., Mimbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür, M. ve Diker, S.(1994): İmmunoloji. *Medisan Yayınları.* Ankara, 53-58.
7. Aytuğ, C.N., Görgül, S., Tuncer, Ş.D., Alaçam, E., Gökçen, H. ve Yılmaz, K. (1991): Sığır Hastalıkları, 2. baskı, 310-315.
8. Batmaz, H. (1990): Klinik olarak normal sığırlar ile Retikulo-Peritonitis Travmaticalı sığırların teşhis ve prognozunda serum protein elektroforezi ve SGOT, SGPT ile LDH enzim düzeyleri üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar. *Doğa Tr. J.of Vet Anim Sci.* 14, 467-478.
9. Beutler, E. (1975): *A Manual of Biochemical Methods*. 2nd Ed. Grunef Strotton, New York.
10. Blair, R. and Cummings, K.A. (1984): Ascorbic acid on blood immunoglobulin concentration in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 67 (supp 1):138-139.
11. Blaner, W.S., H.F.J. Hendriks, A. Brauwer, A.M. de Leeuw, D.L. Knook, and D.S. Goodman.(1985): Retinoids, retinoid-binding proteins and retinyl palmitate hydrolase distribution in different types of rat liver cells. *J. Lipid Res.*26: 1241.
12. Blood, D.C., Radostits, D.M. and Handerson, J.A. (1990): *Veterinary Medicine*. Bailliere Tindall London.
13. Booth, A., Raid, M. and Clark, T.(1987): Hypovitaminosis A in a feedlot cattle. *J.A.V.M.A.* 190 (10): 1305-1307.
14. Bourre, J.M. and Clement, M. (1991): Kinetics of rat peripheral nerve, forebrain and cerebellum alpha-tocopherol depletion-comparison with different organs. *J. Nutr.* 121:1204-1207.
15. Bradfort, P.S. (1990): *Large Animal Internal Medicine*. The C.V. Mosby Company. Philadelphia.
16. Bramley, P.M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F.J.,Manios, Y., Roxborough, H.E., Schuch, W., P.J.A. Sheehy, and K-H Wagner. (2000): Vitamin E. (review). *J. Sci. Food Agric.* 80: 913-938.
17. Buettner, G.R. (1993): The pecking order of free radikals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 300:535-543.

18. Burton, G.W., Wronska, U., Stone, L., Foster, D.O. and Ingold, K.U. (1990): *Biokinetics of dietary RRR-alpha-tocopherol in the male guinea pig at 3 dietary levels of vitamin C and 2 levels of vitamin E- evidence that vitamin C does not spare vitamin E in vivo.* *Lipids.* 25(4):199-210.
19. Burton, G.W., Joyce, A. and Ingold, K.U.(1983): *Is Vitamin E Only Lipid-Soluble, Chain-Breaking Antioxidant in Human Blood Plasma and Erythrocyte Membranes?.* *Arch. Biochem. Biophys.* 221(1); 281-290.
20. Butera, S.T. and Krakowa, S. (1986): *Assesment of lymphocyte function during the vitamin A deficiency.* *Am. J. Vet. Res.* 47:850-855.
21. Carr, A. and Frei, B.(1999): *Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions?, The FASEB Journal, 1008 (13): 1007-1024.*
22. Chew, B. P. (1987): *Vitamin A and beta carotene on host defence. Symposium:Immune function: Relationship of nutrition and disease control.* *J. Dairy Sci.* 70: 2732-2743.
23. Chew, B.P., D.M. Holpuch, and J.V. O'Fallon. (1984): *Relative concentrations of vitamin A and β -carotene in bovine and porcine plasma, liver corpora lutea and follicular fluid.* *J. Dairy Sci.* 67: 1316-1322.
24. Cipriano, J.E., Morrill, J.L. and Anderson, N.V. (1982): *Effect of dietary vitamin E on immun response of calves.* *J Dairy Sci.* 65: 2357-2365.
25. Cole, C.L., Rasmussen, R.A., et al. (1944): *Ascorbic acid deficiency in cows.* *Vet. Med.* 39: 204-211.
26. Cummins, K.A. and C.J. Brunner (1989): *Dietary ascorbic acid and immun response in dairy calves.* *J. Dairy Sci.* 72, 129.
27. David, M., Martin, J.R., Peter, A. Mayes, Victor W. Rodwell. and Daryl K. Granner.(1992): *Harper's Review of Biochemistry. Twentieth edition.* 118-125.
28. Eicher-Pruiett, S.D., Morrill, J.L., Blecha, F., Chitko-Mc. Kown, C.J. and Anderson, N.V. (1991): *Leucocyte function and health status of calves supplemented with vitamins A and D.* *Journal of Dairy Science., 74: Supplement 1, 290.*
29. Fridovich, I. (1995): *Superoxide radical and superoxide dismutases.* *Ann. Rev. Biochem.* 64: 97-112.
30. Fridovich, I. (1997): *Superoxide anion radical (O_2^-), superoxide dismutases, and related matters.* *J. Biol. Chem.* 272: 18515-18517.
31. Fukui, Y., K. Imai, N. F. Alfonso, and H. Ono. (1987): *Follicle culture enhances fertilizability and cleavage of bovine oocytes matured in vitro.* *J. Anim. Sci.* 64: 935
32. Gopalakrishna, R. and Jaken, S. (2000): *Protein kinase C signaling and oxidative stress.* *Free Radic. Biol. Med.* 28:1349.
33. Gül, Y. 'Enfeksiyon Hastalıklar': *Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları (Sığır, Koyun, Keçi).* Editör: Gül, Y. , Medipres, Ankara, 153-157.
34. Gürtürk, S. (1977): *Viroloji. F.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No:11 198-217.*

35. Hamplin, C. (1993): A New Enzyme Linked Immunoabsorbed Assay (ELISA) or Detection of Antibodies Against Foot and Mouth Disease Virus., *J. Immunol. Methods.* 115-121.
36. Haris, L.R., Cake, M.H. and Macey, D.J. (1994): Iron release from ferritin and its sensitivity to superoxide ions differs among vertebrates. *Biochem. J.* 301: 385-389.
37. Hidiroğlu, M., Batra, T.R. and Ivan, M.(1995): Effects of supplemental vitamin E and C on the immun responses of calves. *J Dairy Sci.* 78: 1578-1583.
38. Hidiroğlu, M., Batra, T.R., Laflamme, L.F. and Markham, F.(1992): Possible Role of Vitamin E in Immun Response of Calves. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 62(4): 308-311.
39. Hidiroğlu, N., Laflamme, L.F. and McDowell, L.R. (1988): Blood plasma and tissue concentrations of vitamin E in beef cattle as influenced by supplementation of various tocopherol compounds. *J Anim Sci.* 66: 3227-3234.
40. Hogan, J.S., Weiss, W.P., D.A. Todhunter, K.L. Smith, and P.S. Schoenberger. (1992): Bovine neutrophyl responses to parenteral vitamin E. *J. Dairy Sci.* 75: 399-405.
41. İssi, M. ve Gül, Y. (2001): Sığırların Bazı Enfeksiyöz Hastalıklarında Serum Vitamin C Düzeyleri Üzerine Araştırmalar. *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.* 15(1), 113-120.
42. Itze, L. (1984): Ascorbic acid metabolism in ruminants. In: *Ascorbic acid domestic animals*, ed by I Wegger, FJ Tagwerker, et al. Copenhagen, The Danish Agri Soc. 120-130.
43. Jucola, E., Hakkarainen, J., Saloniemi, H. and Sankari, S. (1996): Effect of selenium fertilization on selenium, vitamin E and β -carotene concentration in blood of cattle. *Journal of dairy science.* 79(5): 831-837.
44. Keçeci, T., Keskin, E. and Durgun, Z. (2000): Çevre ısısı ve vitamin C'nin İsviçre esmeri boğalarda kan serumu tiroit hormon düzeyleri ile bazı hematolojik değerler üzerindeki etkileri. *Turk J Anim Sci* 24: 353-359.
45. Kızıllı, S. ve Altıntaş, A. (2001): Şap hastalıklı sığırlarda süt ve kanda vitamin A, vitamin E ve selenyum düzeyleri. *Türk J. Vet. Anim. Sci.* 25: 961-969. U:
46. Kolb, E (1985): Recent findings on the importance and metabolism of ascorbic acid in domestic animals (a review). Published in: *Mn. Vet-Med.* 40; 489-494.
47. Kolb, E (1991): Neuere Erkenntnisse zur Bedeutung der Askorbinsäure für Haustiere und zu ihrer Anwendung in der Veterinaermedizin. *Tieraerztl. Umschau.*, 47, 163-175.
48. Köse, K. ve Doğan, P. (1992): Lipit Peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi.* Ek-1: 349-350.
49. Kyaw, A. (1978): A simple Colorimetric Method for Ascorbic Acid Determination in Blood Plasma. *Clin. Chim. Acta.*, 16, 151-157.
50. Laemmli, U.K.(1970): Cleavage of Structural Proteins During the Asseble Head of Bacteriophage T₄. *Nature*, 227(15), 680-685.
51. Lanhance, P.A., Nakat Zeina, B.S. and Woo-Sik Jeong, M.S. (2001): Antioxidants: An integrative approach. *Nutr.* 17: 835-838.
52. Lundquist, N.S. and P.H., Philips, (1943): Certain Dietary factors essential for the growing calf. *J. Dairy Sci.* 26;1023-1030.

53. Lundquist, N.S. and Philips, P.H. (1942): Age related studies on ascorbic acid metabolism in animals. *J. Dairy Sci.* 25: 586-595.
54. Marnett, L.J. (2000): Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 21: 361-370.
55. Martinek, R.G. (1964): Method for Determination of Vitamin E (total tocopherols) in Serum. *Clin. Chem.*, 10(12), 1078-1086.
56. Mates, J.M., Christina, P.G. and Castro, I.N. (1999): Antioxidant Enzymes and Human Disease. *Clin. Biochem.* 32(8). 595-603.
57. McDonald, P., Edwards, R.A. and Greenhalg, J.F.D.(1998): *Animal nutrition*. 4. edition. Longman Scientific & Technical. John Wiley & Sons, Inc. New York.
58. McDowell, L.R. (1989): *Vitamins in animal nutrition*, Academic Press inc. 365-387.
59. McIntyre, M., Bohr, D.F. and Dominiczak, A.F. (1999): Endothelial function in hypertension. *Hypertension*. 34: 539-545.
60. Mebus, C.A. (1998): *Foreign Animal Disease, 'The Gray Book'*, Richmond, Virginia, 186-193-204.
61. Meyer, D.J. and Harvey, J.W.(1998): *Veterinary Laboratory Medicine*. W.B. Saunders Company. 345.
62. Miller, J.K. and Slebodzinska, E.B. (1993): Oxidative stress, Antioxidants and animal functions. *J. Dairy Sci.* 76: 2812-2823.
63. Morrissey, P.A. and O'Brien, N.M. (1998): Dietary antioxidants in health and disease. *Int. Dairy Journal*, (8); 463-472.
64. Niki, E. (1987): Interaction of ascorbate and alpha tocopherol. *N Y Acad. Sci.* 498: 186-198.
65. Nockels, C.F., Odde, K.G. and A. M. Craig (1995): Vitamin E supplementation and stress affect tissue α -tocopherol content of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 74; 672-677.
66. Nockels, C.F. (1986): Nutrient modulation of the immune system. In *recent advances in animal nutrition*, ed by W Haresign and DJA Cole. Boston, Butterworth, : 177-192.
67. Nockels, C.F. (1988): Immunoenhancing vitamins for cattle, *Agri-Practice*. March-April:10-17.
68. Nordberg, J. and Arner, E.S.J. (2001): Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31 (11): 1287-1312.
69. Ozan, S.T., Yaraloğlu, S., Yılmaz, S., Özer, E., Şaki, C.E. ve Sevgili, M.(1999): *Theileria Annulata* ile Enfekte Sığırlarda GSHPx, G6PD, Arginaz Aktiviteleri ile Bazı Biyokimyasal Parametreler. *Tr. J. of Vet. and Anim. Sci.* 23(3), 552-557.
70. Puls, R.(1994): *Vitamin Levels in Animal Health; Diagnostic Data and Bibliographies*, 11-18, 31-33, 80, 98-102
71. Putnam, M.E. and Comben, N. (1987): Vitamin E (review article). *The Veterinary Record*, Dec (5): 541-545.
72. Radi, R., Peluffo, G., Alvarez, M.N., Naviliat, M. and Cayota, A. (2001): Unraveling peroxynitrite formation in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.* 30: 463-488.

73. RANSOD Superoksid dismutase kiti, RANDOX Laboratories Ltd, Ardmore, Diamond Road, Crumlin Co, United KINGDOM.
74. Reddy, P.G., Morrill, et al. (1985): Effects of supplemental vitamin E on the performance and metabolic profiles of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 68: 2259-2266.
75. Reddy, P.G., Morrill, J.L. and Frey, R.A (1987): Vitamin E requirements of dairy calves. *J. Dairy Sci.* 70: 123-129.
76. Reddy, P.G., Morrill, J.L., Minocha, H.C. and Stevenson, J.S. (1987): Vitamin E is immunostimulatory in calves. *J. Dairy Sci.* 70: 993-999.
77. Reddy, P.G., Morrill, J.L., Minocha, H.C., Morrill, M.B., Dayton, A.D. and Frey, R.A. (1986): Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *J Dairy Sci.* 69: 164-171.
78. Regina, B.L. and Traber, M.G.(1999): Vitamin E: Fuction and Metabolism. *The FASEB Journal.* 13: 1145-1155.
79. Rosenberger, G. (1970): *Krankheiten des Rindes.* Verlag Paul Parey Berlin.
80. Roth, J.A., Kaeberle, M.L. (1985): In vivo effect of ascorbic acid on neutrophyl function in health and dexamethasone-treated cattle. *Am. J. Vet. Res.* 46:2434-2437.
81. Rund, B. (1989): Vitamin C plays role in immunity. *Poultry Digest,* 44-50.
82. Satoh, K.(1978): Serum Lipid Peroxidase in Cerebrovascular Disorders Determined by a New Colorimetric Method. *Clin. Chim. Acta.,* 90, 37-43.
83. Scholz, R.W., Todhunter, D.A. and Cook, L.S. (1981): Disturibution of Selenium Dependent and Selenium Nondependent Gluthation Peroxidase Activity in Tissues of Young Cattle. *American Journal of Veterinary Research.* 42 (10), 1724-1729.
84. Sies, H., Stahl, W., and Alfred, R. Sundquist. (1992): Antioxidants functions of vitamins; Vitamin E and C, Beta-carotene, and other carotenoids. *Annals New York Academy of Science,* 669: 7-19.
85. Sies, H., Stahl, W.M. (1995): Vitamin E, and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition.* 62, 1315-1321.
86. Spears, J.W.(2000): Micronutrients and Immune Function in Cattle. *Proc. Nutr. Soc. Nov.* 59(4): 587-594.
87. Suzuki, J. and Katoh, N. (1990): A Simple and Cheap Methods for Measuring Serum Vitamin A in Cattle Using Only a Spectrofotometer. *Jpn. J. Vet. Sci.,* 52 (6), 1281-1283.
88. Swenson, M.J. and Reece, W.O. (1993): *Duke's Phisiolgy of Domestic Animals.* Eleventh edition.41-43.
89. Şener, S.(1990): *Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller.* Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları I. İstanbul.
90. Tekpetey, F.R., Palmer, W.M., Ingals, J.R. (1987): Seosanal variation in serum beta carotene and vitamin A and their association with postpartum reproductive performance of holstein cows. *Can. J. Anim. Sci.* 67; 477-489.

91. Thomas, M.J. (2000): The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*, Vol 16, (7-8), 716-718.
92. Tiftik, A.M. (1990): Konya bölgesinde sağlıklı ve hastalıklı buzağı ve sığırarda kan plazması beta karotin ve vitamin A (retinol) düzeylerinin tespiti ve bu düzeylerle hastalıklararasındaki ilişkilerin araştırılması. Doktora Tezi. Konya.
93. Traber, M.G., Sokol, R.J., Burton, G.W., Ingolđ, K.U., Papas, A.M., Huffaker, J.E. and Kayden, H.J. (1990): Impaired ability of patients with familial isolated vitamin E deficiency to incorporate alpha tocopherol into lipoproteins secreted by the liver. *J. Clin. Invest.* 85: 397-407.
94. Turgut, K.(1995): Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Özel Basım. 418-428.
95. Uyanık, F., Mengi, A. ve Koçak, Ö. (1998): Holstein, Montafon ve Simental ırkı ineklerde serum protein konsantrasyonları ve transferaz aktiviteleri. *Vet Hek Der Derg.* 69 (3).
96. Van der Vliet A. and Cross, C.E. (2000): Oxidants, nitrosants and the lung. *Am. J. Med.* 109: 398.(var)
97. Waldner, C., Campbell, J., Jim, G.K., Guichon, P.T. and Booker, C.(1998): Comparison of 3 Methods Selenium Assesment in Cattle. *Can. Vet. J.*39, 225-231.
98. Wilson, P.S. and Judson, G.J.(1976): Gluthation Peroxidase Activity in Bovine and Ovine erythrocytes in Relation to Blood Selenium Concentration. *Br. Vet. J.*, 132, 428-434.
99. Wilson, R.L.(1987): Vitamin, Selenium, zinc and copper interactions in free radical protection against ill-placed iron. *Proc. Nutr. Soc.* 46:27.
100. Yalçın, S. (1992): Serbest radikaller ve patolojik etkileri, *Sendrom. Ekim*, 40-59.
101. Yalın, Y.N., Gürsoy, Ç. Ve Erol, N. (1983): Adjuvant ve İnaktifan Kullanılarak Hazırlanan O₁ tipi Şap Aşılarının Bağışıklık Sürelerinin Tesbiti Üzerine Çalışmalar. *Doğa Bilim Dergisi.* D₁. 764-777.
102. Yaralıoğlu, S.(2000): Ruminantlarda Kan ve Karaciğer Dokusu Antioksidan Enzim Düzeyleri ve Lipit Peroksidasyon Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Elazığ.
103. Yogi, K. (1984): Assay for Blood Plasma or Serum. *Methods in Enzymol.* 105., 328-331.
104. Yılmaz, K. ve Otlu, A. (1989): Veteriner Hematoloji El Kitabı. Hatipoğulları Yayınları. No:54,Ankara.

8.ÖZGEÇMİŞ

1973 Osmaniye doğumluyum. İlk öğrenimimi Osmaniye Atatürk İlkokulunda, orta öğrenimimi de Osmaniye Atatürk Lisesinde tamamladım. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1990 yılında girerek 1995 yılında mezun oldum. F. Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda 1996 yılı Bahar döneminde doktora öğrencisi olarak çalışmaya başladım. Halen aynı Anabilim dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

Arş. Gör. Ömer KIZIL

