

CLINICAL AND BASIC STUDIES IN VETERINARY MEDICINE

EDITOR

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

AUTHORS

Prof. Dr. Gülcan AVCI

Prof. Dr. Mehmet YAMAN

Prof. Dr. Murat GÜZEL

Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Assoc. Prof. Dr. Aliye SAGKAN OZTURK

Assoc. Prof. Dr. Nurgül ZENGİN

Assoc. Prof. Dr. Sezer OKAY

Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR

Assist. Prof. Dr. Güzin Yasemin TUNÇAY

Assist. Prof. Dr. Olga BÜYÜKLEBLEBICI

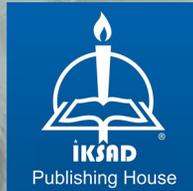
Assist. Prof. Dr. Savaş Volkan GENÇ

Dr. Murat TANRISEVER

Veterinarian Hindreen Mohammed radhi radhi

Vet. Hek. Yasin KOÇAK

Uzm. Osman KINA



CLINICAL AND BASIC STUDIES IN VETERINARY MEDICINE

EDITOR

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

AUTHORS

Prof. Dr. Gülcan AVCI

Prof. Dr. Mehmet YAMAN

Prof. Dr. Murat GÜZEL

Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

Assoc. Prof. Dr. Aliye SAGKAN OZTURK

Assoc. Prof. Dr. Nurgül ZENGİN

Assoc. Prof. Dr. Sezer OKAY

Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR

Assist. Prof. Dr. Güzin Yasemin TUNÇAY

Assist. Prof. Dr. Olga BÜYÜKLEBLEBICI

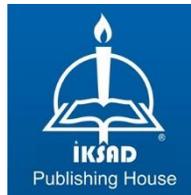
Assist. Prof. Dr. Savaş Volkan GENÇ

Dr. Murat TANRISEVER

Veterinarian Hindreen Mohammed RADHI RADHI

Vet. Hek. Yasin KOÇAK

Uzm. Osman KINA



Copyright © 2021 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced,
distributed or transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or
mechanical methods, without the prior written permission of the publisher,
except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic
Development and Social
Researches Publications®
(The Licence Number of Publisher: 2014/31220)
TURKEY TR: +90 342 606 06 75
USA: +1 631 685 0 853
E mail: iksadyayinevi@gmail.com
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.
Iksad Publications – 2021©

ISBN: 978-625-7562-88-1
Cover Design: İbrahim KAYA
September / 2021
Ankara / Turkey
Size = 16x24 cm

CONTENTS

PREFACE

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR1

CHAPTER 1

COMPARISON OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES (TNF-A, IL-1B), NITRIC OXIDE AND MYELOPEROXIDASE CHANGES IN CANINE DIROFILARIASIS

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR,

Assist. Prof. Dr. Olga BÜYÜKLEBLEBICI,

Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR, Prof. Dr. Murat GÜZEL,

Prof. Dr. Mehmet YAMAN3

CHAPTER 2

CURRENT TREATMENT METHODS IN OSTEOARTHRITIS

Dr. Murat TANRISEVER21

CHAPTER 3

ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN VETERINARY MEDICINE AND MEDICINE

Veterinarian Hindreen Mohammed radhi radhi

Assoc. Prof. Dr. Aliye SAGKAN OZTURK49

CHAPTER 4

DOGS WITH THEIR ENVIRONMENTAL BIOETHICS ASPECT EVOLUTION PROCESS

Assist. Prof. Güzin Yasemin TUNÇAY71

CHAPTER 5

A CHRONOLOGICAL LOOK AT CATTLE RAISING FROM DOMESTICATION TO THE PRE-INDUSTRIAL PERIOD

Assist. Prof. Savaş Volkan GENÇ93

CHAPTER 6

TİROİD BEZİ FONKSİYON BOZUKLUKLARINDA ÇÖREK OTU (NİGELLA SATİVA L.) KULLANIMININ YERİ

Prof. Dr. Gülcan AVCI113

CHAPTER 7

SİĞİR TÜBERKÜLOZU VE AŞI ÇALIŞMALARI

Doç. Dr. Şinasi AŞKAR, Vet. Hek. Yasin KOÇAK

Doç. Dr. Sezer OKAY137

CHAPTER 8

SAMANDAĞ YEŞİL DENİZ (Chelonia mydas) KAPLUMBAĞALARININ KAN BİYOKİMYA DEĞERLERİNİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR, Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ

Doç. Dr. Şinasi AŞKAR, Uzm. Osman KINA

Doç. Dr. Nurgül ZENGİN165

PREFACE

Veterinary medicine is a branch of medicine related to animal health, public health, preventive medicine, food safety and therefore human health. Most human infectious diseases (about 60%) are caused by animals, and veterinarians are very important in protection of public health from these diseases (such as COVID-19, Ebola, HIV, SARS, MERS, Avian flu) that can be transmitted from animal to human, and from human to animal. In addition to health services, veterinarians also make a significant contribution to the country's economy by ensuring food safety from farm to fork.

Nowadays, there is a great need for veterinarians due to the use of experimental animals in health researches, especially in pharmaceutical raw materials and cosmetic products researches. During these researches, it is also the duty, authority and responsibility of veterinarians to ensure that they live in prosperity and serve humanity by providing their natural conditions and by giving the least harm to the animals. Therefore in this book; it is aimed to present basic and clinical developments in veterinary medicine.

Hoping to be useful to readers with this book.

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

ÖNSÖZ

Veteriner hekimlik hayvan sağlığı başta olmak üzere, halk sağlığı, koruyucu hekimlik, gıda güvenliği ve dolayısı ile insan sağlığı ile ilgili bir hekimlik dalıdır. İnsanların bulaşıcı hastalıklarının çoğu (yaklaşık % 60) hayvanlardan kaynaklanmaktadır ve hayvandan insana, insandan hayvana geçebilen zoonoz adı verilen bu hastalıklardan (Covid-19, Ebola, HIV, SARS, MERS, Kuş gribi gibi) halk sağlığının korunmasında veteriner hekimler en ön sırada görev almaktadır. Ayrıca veteriner hekimler; sağlık hizmetlerinin yanında, sağlıklı hayvansal üretimin ve güvenilir gıdaya ulaşım sağlanması açısından ülke ekonomisine de önemli katkı sağlamaktadırlar.

Günümüzde sağlık araştırmalarında, özellikle ilaç hammadde ve kozmetik ürünleri araştırmaları için deney hayvanı kullanılması sebebi ile veteriner hekimlere büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Bu araştırmalar sırasında hayvanlara en az zarar verilerek; doğal şartları sağlanarak, refah içinde yaşamaları ve insanlığa hizmet etmelerini sağlamak yine veteriner hekimlerin görev, yetki ve sorumluluğundadır.

Bu nedenle bu kitapta; bu kadar önemli sorumluluklar yüklenen, çiftlikten çatala gıda güvenliğinin sağlanmasında en etkili olan veteriner hekimlik ile güncel temel ve klinik gelişmeleri sizlere aktarılması amaçlanmıştır.

Kitabımızın okuyuculara faydalı olmasını dilerim.

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR

CHAPTER 1

COMPARISON OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES (TNF-A, IL-1B), NITRIC OXIDE AND MYELOPEROXIDASE CHANGES IN CANINE DIROFILARIASIS

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR¹,
Assist. Prof. Dr. Olga BÜYÜKLEBLEBİCİ^{2*},
Assoc. Prof. Dr. Şinasi AŞKAR,³ Prof. Dr. Murat GÜZEL⁴,
Prof. Dr. Mehmet YAMAN⁵

¹ Çankırı Karatekin University, Faculty of Health Sciences, Çankırı, Turkey, tunaykontas@yahoo.com ORCID ID 0000-0002-1121-8799

^{2,*} Mersin University, Technical Sciences Vocational School, Department of Veterinary, Mersin, Turkey, olgadogan1@hotmail.com ORCID ID: 0000-0002-6702-5769

³ Çankırı Karatekin University, Faculty of Health Sciences, Çankırı, Turkey, ORCID ID0000-0002-7836-3798

⁴ On Dokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine, Samsun, Turkey, muratguzel05@gmail.com ORCID ID0000-0003-0276-4576

⁵ Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary, Department of Parasitology, Hatay, Turkey, mehmetyaman@mku.edu.tr ORCID ID0000-0001-5399-8060

INTRODUCTION

Dirofilariasis is a zoonotic disease of canids which particularly causes cardiopulmonary diseases (Saritaş et al, 2005; Montaya et al, 2006). *Dirofilaria immitis* is the causal agent of canine heartworm illness, and it is transmitted by various genera and species of mosquitoes (Sevimli et al, 2007). Dogs are the main hosts of this parasite. In dogs, *D. immitis* adults specially exist in pulmonary arteries, in the right-side of the heart (Çakıroğlu and Meral, 2007). *Dirofilaria* species can also be transmitted to humans by mosquitoes and cause human disease (Kartashe et al, 2011). Dogs between the ages of 4–7 compose the most vulnerable group (McCall et al, 2004; Öncel and Vural, 2005). Dirofilariasis generally proceeds as clinical and subclinical. Despite the presence of microfilaria in the peripheral blood in most of subclinical events, symptoms in dogs may not be seen (Venco et al, 2014).

Pathogenic mechanisms against adult worms or microfilaria involve host inflammatory response and factor released by filarial parasites (Mendez et al, 2014). Both innate and acquired immune responses are characteristic of natural dirofilaria infection. Due to do stimulation of innate host defense system by proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6 from macrophages) in infection, the occurrence and sway of other cytokines (IL-2, IL-8, IL-10) and cytotoxic factors like free oxygen radicals and nitric oxide (NO) increase (Knot, 1939; Kramer et al, 2008). Cytokines plays an essential role in growing and formation of inflammatory response, and immunity level in diseases.

Macrophages, neutrophil and other phagocytic cells are substantial components of the host's defense towards the parasite. And induced NO synthase (iNOs) and TNF- α are important proinflammatory mediators of dirofilaria infection (Kruidenier et al, 2003). Nitric oxide is an essential cytotoxic and cytostatic mediator for several intracellular parasites and plays important role in chronic diseases. It is stated the interaction between NO and myeloperoxidase (MPO) may have an extensive impact on the toxic content of neutrophils (McCall et al, 2004; Mendez et al, 2014). Myeloperoxidase (MPO) is an antimicrobial enzyme and plays important roles in the chronic process of diseases (Montoya et al, 2006).

Different scala of inflammation arise from the result of vascular and pulmonary tissue damage caused by mature forms and microfilariae during dirofilaria infection (Morchon et al, 2007). Although the immune response induced by an infection with *Dirofilaria immitis* has been the subject of many investigations (Öncel and Vural, 2005; Saritaş et al, 2005; Sevimli et al, 2007; Simon et al, 2007), the pathways that lie behind the host resistance and pathogenesis in Dirofilariasis are not wholly revealed. More over most dogs infected with chronic heartworm disease do not display any clinical sign. We therefore aimed to determine the inflammatory changes in different clinical forms of canine dirofilariasis by determining the levels of nitric oxide (NO), myeloperoxidase (MPO), and cytokines (TNF- α and IL-1 β). We also aimed to determine the positive predictive value of MPO in the diagnosis of different clinical forms of the disease.

1. MATERIAL AND METHODS

100 privately owned dogs were enrolled in this study. Of the total 100 owned dogs, 70 dogs were positive for *D. immitis*, and 30 dogs were not infected. They were between age of 1-11 years and 15-35 kg body weight in various gender and sex. Dogs without a diagnosis and treatment of heartworm infection in the past 24 months based on the history of this study. Dogs that had been previously diagnosed and treated with an adulticide within 24 months were excluded from the study.

The animals were added to the appropriate groups after clinical examinations which utilized modified Knott test and antigen-ELISA assay; Dogs, lacking any clinical signs, a negative Knott test and antigen-ELISA assay were regarded as not infected. Dogs with the presence of microfilariae in peripheral blood were regarded as microfilaremic and the dogs displaying clinical signs such as coughing, weight loss, exercise intolerance etc. (based on their owner's observations), as well as the presence of adult *D. immitis* circulating antigens in their blood were regarded as having an occult (amicrofilaremic) infection.

1.1. Parasitological Analysis

For the determination of afloat microfilariae and antigens of *Dirofilaria immitis* (occult infection-amicrofilariae), blood specimen were analysed by altered Knott and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods, respectively. The existence of microfilariae

in peripheral blood was detected with the Knott test (Figure 1). Blood and a 2% formalin blend was centrifuged for 5 min, at 1500 rpm and the filtrate was excreted and precipitate was stired with 0.5% methylene blue stain. Stained sediment was analysed with a microscope at 400x expansion for the existance of the microfilariae (Tamarozzi, 2014). In order to detect the occult infection, the existance of adult *D. immitis* circulating antigens in blood were determined with a commercial ELISA kit (DiroCHEK[®], Synbiotics, San Diego, USA) specific for *D. immitis*. ELISA kit was done according to manufacturer's instructions by adding a spectrophotometric reading for detecting the optical density. After the supplementation of the last solution, in 5 minutes, the plate was analyzed for a clear to blue color change before placing in a spectrophotometric plate-reader (Synergy HTX Multi-Mode Microplate Reader, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT).

Table. The Demographical Datas of Dogs with *D. immitis* In The Present Study

Demographic datas		Amicrofilarem	Microfilaremic
		ic	
Gender	Male	53	3
	Female	10	4
Age	< 2	11	5
	2 - 4	29	1
	4 - 6	9	1
	> 6	14	-

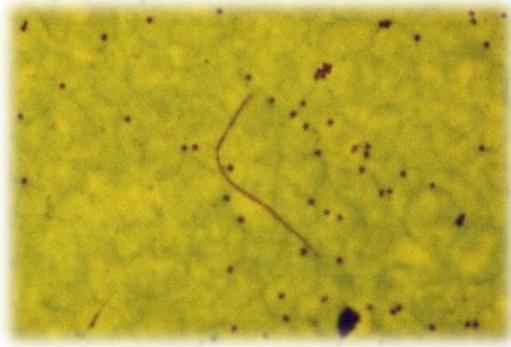


Figure 1. *D. immitis* Microfilaria Detected With Modified Knott-Method

1.2. Biochemical Analysis

Blood specimens were gathered from dogs and supplemented to lithium heparin and silicon gel-coated test tubes. Serum/plasma was spared with centrifugation at 2500 rpm for 10 min at room temperature and waited at -80°C until for the next process. Serum was examined for MPO enzyme activity in addition to NO and cytokines (TNF- α and IL-1 β). The generation of nitric oxide was detected mediately by surveying the nitrite levels lean on Griess reaction (Testastica et al, 2014). Myeloperoxidase activity was quantified utilizing the method of Kruidenier et al, 2003. Serum samples were kept waiting for 30 minutes with 0.5 % hexadecyl trimethyl ammonium bromide (HTAB) solution (pH 5.5) and 0.026% ortho-dianisidine dihydrochloride plus 0.018% H_2O_2 . The reaction was particularly ensured by sodium azide (0.1 mM). MPO activity was showed as U/L. Canine interleukin-1 β (Eastbiopharm, Cat. No. CK-E90800) and canine tumor necrosis factor- α (Eastbiopharm, Cat. No. CK-E90806) levels were evaluated using the ELISA method. The

Thermo Scientific™ Pierce™ Canine TNF-alpha (TNF) ELISA Kit and Canine interleukin-1 β (Eastbiopharm, Cat. No. CK-E90800) are enzyme-linked immunosorbent assays for measuring canine TNF-alpha and Canine interleukin-1 β in serum. Evaluable precision of IL-1 β was 0.1 pg/mL, and the test interval of IL-1 β level was 0.2 pg/mL and 50 pg/mL. The intra-assay and inter-assay variation of IL-1 β from the average of three replicates were determined as 1.05 ± 0.06 and 1.18 ± 0.09 , respectively. Moreover, measurable precision of TNF- α is 0.01 ng/L and test gap of TNF- α level was 0.02 ng/L and 8 ng/L. The intra-assay and inter-assay variation of TNF- α from the average of three replicates were determined as 1.12 ± 0.07 and 1.21 ± 0.14 , respectively.

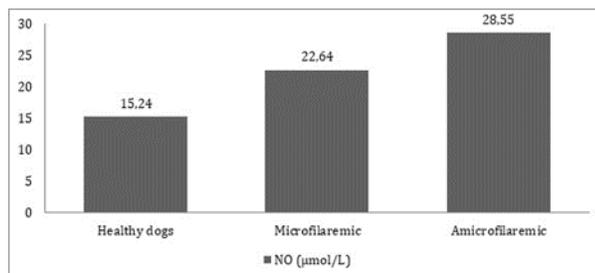


Figure 2. Changes in NO Levels of Amicrofilaremic (occult infection), Microfilaremic, and Not Infected Dogs

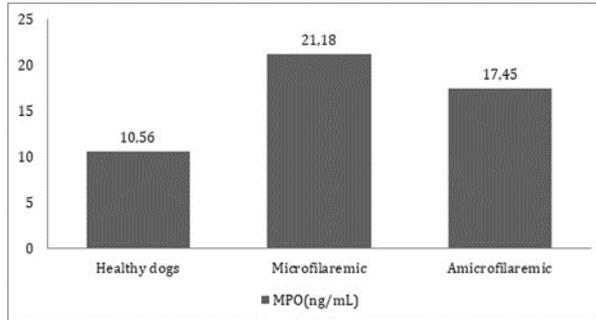


Figure 3. Changes in MPO Activities of Amicrofilaremic (occult infection), Microfilaremic, and Not Infected Dogs

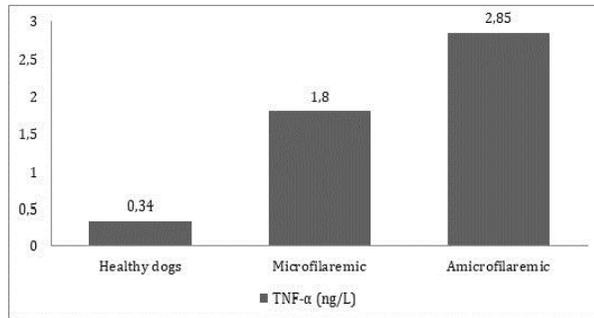


Figure 4. Changes in TNF-α levels of Amicrofilaremic (occult infection), Microfilaremic, and Not Infected Dogs

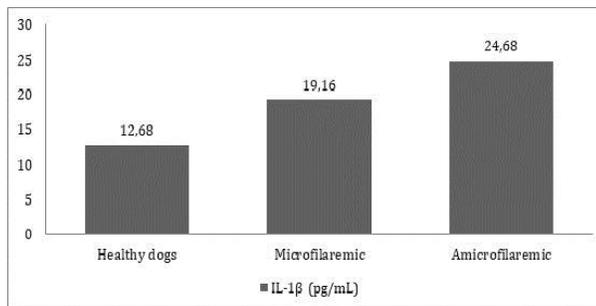


Figure 5. Changes in IL-1β Levels of Amicrofilaremic (occult infection), Microfilaremic, and Not Infected Dogs

1.3. Statistical Analysis

Student's t-test was done for statistical analysis; P values < 0.05 were regarded statistically important. Biochemical analyse results are shown as mean \pm SD. The correlation of TNF- α concentration with IL-1 β , MPO, and NO concentrations were evaluated with Pearson's rank correlation coefficient.

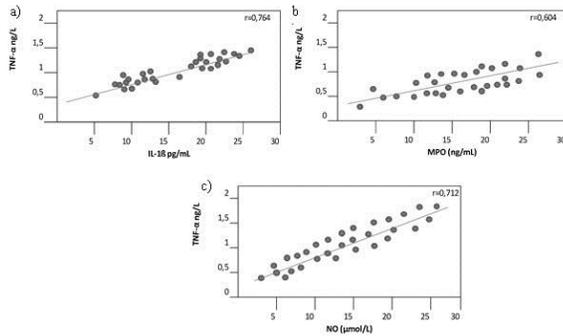


Fig. 6. a) The Correlation of TNF- α and IL-1 β Level in Dogs with Dirofilaria.

Pearson's Rank Correlation Coefficient Was $r = 0.764$, $P < 0.001$.

b) The Correlation of TNF- α and MPO Level in Dogs with Canine Dirofilaria.

Pearson's Rank Correlation Coefficient Was $r = 0.604$, $P < 0.01$.

c) The Correlation of TNF- α and NO Level in Dogs With Canine Dirofilaria.

Pearson's Rank Correlation Coefficient Was $r = 0.712$, $P < 0.001$.

RESULTS

According to results of altered Knott and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) techniques, 70 dogs were found positive for *D. immitis*. Of the 70 dogs, 63 were amicrofilaremic (occult infection) and 7 were microfilaremic. The demographical data of dogs with dirofilariasis are presented in Table. In the present study, the infection was observed mostly in larger dogs breeds between 2- 4 years of age living outdoor.

Higher concentrations of NO were observed considerably in both microfilaremic ($22.64 \pm 4.36 \mu\text{mol/L}$) and amicrofilaremic ($28.55 \pm 2.18 \mu\text{mol/L}$) dogs when compared with not infected dogs with no other chronic diseases ($15.24 \pm 3.45 \mu\text{mol/L}$). Also, an appreciable difference ($P < 0.001$) was found in NO concentrations between microfilaremic and amicrofilaremic dogs (Figure 2).

We determined significant increases in MPO enzyme activity of both microfilaremic ($21.18 \pm 7.34 \text{ ng/mL}$) and amicrofilaremic ($16.45 \pm 5.21 \text{ ng/mL}$) dogs when compared with not infected dogs (10.56 ng/mL). We also found a significant difference ($P < 0.01$) in MPO activity between microfilaremic and amicrofilaremic dogs (Figure 3).

In the study, we observed significantly higher concentrations of cytokines (TNF- α , IL-1 β) in both microfilaremic ($1.8 \pm 0.36 \text{ ng/L}$ for TNF- α ; $19.16 \pm 3.04 \text{ pg/mL}$ for IL-1 β) and amicrofilaremic ($2.85 \pm 0.48 \text{ ng/L}$ for TNF- α ; $24.68 \pm 5.07 \text{ pg/mL}$ for IL-1 β) dogs when compared with not infected dogs ($0.84 \pm 0.41 \text{ ng/L}$ for TNF- α , and $12.52 \pm 4.91 \text{ pg/mL}$ for IL-1 β). There was a remarkable difference in

TNF- α ($P < 0.01$) and IL-1 β ($P < 0.001$) concentrations between microfilaremic and amicrofilaremic dogs. Results for TNF- α and IL-1 β analyses obtained in amicrofilaremic (occult infection), microfilaremic, and healthy dogs are given in Figure 4 and Figure 5, respectively.

On the other hand, we detected relations between the TNF- α and IL-1 β , MPO, NO concentrations. Pearson's rank correlation coefficient for TNF- α and IL-1 β ($r = 0.764$, $P < 0.001$), MPO ($r = 0.604$, $P < 0.01$), NO ($r = 0.712$, $P < 0.05$), concentrations, indicating a strong positive correlation was observed. The positive correlation was seen between the TNF- α and IL-1 β (a), MPO (b), NO (c), concentrations as shown in Figure 6.

DISCUSSION

Filarial diseases are a conventional instance of chronic infections that naturally extirpation of all parasites is infrequently accomplished, probably since sterilizing immunity might required to be detrimental host immune responses (Yoon et al, 2017). This study was planned to estimate changes in inflammatory response in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. Filaria-derived molecules in infected host provoke innate inflammatory responses (Sevimli et al, 2007; Simon et al, 2007), they recently determined that the primary inflammatory design of filarial *Wolbachia* lipoproteins directly activates neutrophils in vitro. MPO is extremely found in the cytoplasmic granules of neutrophils. As far as we know, no study about the serum MPO activity in canine dirofilariasis was reported. Therefore, this is the first

one that MPO enzyme activity in dogs with dirofilariasis has been analyzed.

During parasitic infections, increased synthesis of NO mediates host protection (Mendez et al, 2014). The mechanism of nitric oxide in filarial infection has been reviewed. Studies about filarial diseases at murine and *in vitro* data demonstrate that nitric oxide formation by macrophages could be a critical molecule of the host defense against the parasite (Yoon et al, 2017). Studies have indicated that there is an interactivity between NO and MPO (McCall et al, 2004; Mendez et al, 2014). In this study, it has been observed that serum MPO activity was affected by NO. Thereby, increased MPO activity in microfilaremic dogs might play a significant part with NO in the pathogenesis of canine dirofilariasis. However we determined significantly important decrease in MPO activity of amicrofilaremic dogs when compared with microfilaremic dogs. This decrease in MPO activity during occult infection may be related to the resistance of living worms to the toxic effects of neutrophil products (Simon et al, 2007).

Filarial parasites induce the release of proinflammatory and chemotactic cytokines which cause an inflammatory response to parasite (Kitagawa et al, 1981). Early interactivity of parasites or parasite antigens cause of the expression of mainly pro-inflammatory cytokines including TNF α , IL-6 and IL-1 β . TNF- α plays a crucial role in immune response against parasitic diseases with NO. Elevated serum levels of proinflammatory cytokines IL-1 β , IL-12, TNF- α and IL-6 are relevant to progressive immune activation in filarial

pathology (Yoon et al, 2017). According to Morchon et al, (2007) TNF- α levels and iNOS mRNA expression were increased in dogs with dirofilariasis. In the study, we found TNF- α , IL-1 β and NO levels considerably higher in dogs with occult infection than in the microfilaremic dogs. Observed changes in TNF- α , IL-1 β and NO levels in dogs with occult infection may be related to the presence of parasite in the pulmonary arteries. It has been reported in various diseases of dogs, such as canine visceral leishmaniasis (Ercan et al, 2014).

As a result of the presence of parasite in the pulmonary arteries the occurring cardiac damage leads to a release of cardiac markers and proinflammatory cytokines like IL-1 β , IL-12, TNF- α , IFN- γ . In this study, we found high concentrations of IL-1 β and TNF- α esp. in occult infection of dogs, as was found in other studies.

CONCLUSION

This is an important study to demonstrate the serum activity of MPO in canine dirofilariasis in vivo, using a natural process. Myeloperoxidase (MPO) is an oxidative enzyme with antimicrobial activity. There are no clinical signs of the chronic evolution of canine dirofilariasis in most infected dogs. Determined significant differences in the activities of MPO between microfilaremic and amicrofilaremic dogs may be related with the resistance of living worms to the toxic effects of neutrophil products, and may be relevant to the activation of the immune response and parasite control. A positive interference was observed between TNF- α and NO, MPO, and IL-1 β in dogs with

occult dirofilaria infection. The increase in the activity of MPO, besides TNF- α and NO, may be related to activation of the immune reply and parasite control. Even so, more studies are needed on the host-parasite relationship in dogs infected with *D. immitis* after treatment.

REFERENCES

- Allen, T. M., O'Connor, D. H., Jing, P., Dzuris, J. L., Mothé, B. R. et al. (2000).** Tat-specific cytotoxic T lymphocytes select for SIV escape variants during resolution of primary viraemia. *Nature*, Vol. 407, pp 386-390.
- Carretón, E., Morchón, R., Montoya-Alonso, J. A. (2017).** Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in heartworm disease. *Parasites & Vectors*, Vol. 10, No.2, pp 534.
- Çakıroğlu, D., Meral, Y. (2007).** Samsun bölgesinde, köpeklerde *Dirofilaria immitis* Enfestasyonu İnsidansı İncelenmesi. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, Vol. 2, pp 1-12.
- Eckerson, H., Wyte, C., La Du. (1983).** The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, Vol. 35, No.6, pp 1126-1138.
- Efrat, M., Rosenblat, M., Mahmood, S., Vaya, J., Aviram, M. (2009).** Di-oleoyl phosphatidylcholine (PC-18:1) stimulates paraoxonase 1(PON1) enzymatic and biological activities. *Atherosclerosis*, Vol. 202, No.2, pp 461-469.
- Ercan, N., Tuzcu, N., Başbug, O., Gok, K., Işidan, H., et al. (2014).** The Evaluation of Important Biomarkers in Healthy Cattle. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Vol. 20, No. 5, pp 749-755.
- Kartashe, V., Batashova, I., Kartashov, S., Ermakov, A., Mironova, A, et al. (2011).** Canine and Human Dirofilariosis in the Rostov Region (South Russia). *Veterinary Medicine International*, Vol. 1, No.5 (Article ID 685713).
- Kirk, R.W., Bonagura. (1992).** Current Veterinary Therapy XI: Small Animal Practice. In: JD Jacobs RM, Lumsden JH, Vernau W (editors). *Canine and feline reference values*. Philadelphia: Saunders. pp. 1250-1278.
- Kitagawa, H., Ishiao, K., Kawokomi, M. (1981).** Cardiopulmonary function values before and after heartworm removed in dogs with caval syndrome. *American Journal Veterinary Research*, Vol. 2, No.1, pp 126-132.

- Knott, J. A. (1939).** A method for making microfilarial surveys on day blood. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Vol. 33, No.2, pp 191-196.
- Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J. et al. (2008).** *Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. Veterinary Parasitology, Vol. 158, No.3, pp 191-195.
- Kruidenier, L., Kuiper, I., Duijn, W., Mieremet-Ooms, M. A., van Hogezaand. et al. (2003).** Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. Journal of Pathology, Vol. 201, No.1, pp 17-27.
- McCall, J. W., Guerrero, J., Genchi, C., Kramer, L. (2004).** Recent advances in heartworm disease. Veterinary Parasitology, Vol.125, pp 105-130.
- Mendez, J. C., Carretón, E, Martínez, S., Tvarijonaviciute, A., Cerón, J. J. et al. (2014).** Acute phase response in dogs with *Dirofilaria immitis*. Veterinary Parasitology, Vol. 204, No. 3-4, pp 420-425.
- Montoya, J. A., Morales, M., Juste, M. C., Bañares, A., Simón, F. et al. (2006).** Seroprevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) on Tenerife Island: an epidemiological update. Parasitology Research, Vol.100, No 1, pp 103-105.
- Morchon, R., Bargues, M. D., Latorre, J. M., Melero-Alcíbar, R., Pou-Barreto, C. et al. (2007).** Haplotype H1 of *Culex pipiens* implicated as a natural vector of *Dirofilaria immitis* in an endemic area of Western Spain. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, Vol. 7, No. 4, pp 653-658.
- Öncel, T., Vural, G. (2005).** Seroprevalence of *Dirofilaria immitis* in stray dogs in İstanbul and İzmir. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences, Vol. 29, pp 785-789.
- Sarıtaş, Z, Akın, F, Şahal, M, Ocal, N. (2005).** Open heart surgery applications in dogs suffering from natural infection of *Dirofilaria immitis*. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences, Vol. 29, pp 713-721.

- Sevimli, K. F., Kozan, E., Bülbül, A., Birdan, F. M., Köse, M. et al. (2007).** *Dirofilaria immitis* infection in dogs: unusually located and unusual findings. Parasitology Research, Vol. 101, No.6, pp 1487-1494.
- Simón, F., Kramer, L. H., Román, A., Blasini, W., Morchón, R. et al. (2007).** Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. Veterinary Research Communications, Vol. 31, No.2, pp 161-71.
- Tamarozzi, F., Wright, H. L., Johnston, K. L., Edwards, S. W., Turner, J. D. et al. (2014).** Human filarial *Wolbachia* lipopeptide directly activates human neutrophils in vitro. Parasite Immunology, Vol. 36, NO. 10, PP 494-502.
- Testasica, M. C., dos Santos, M. S., Machado, L. M., Serufo, A. V., Doro, D. et al. (2014).** Antibody responses induced by Leish-Tec[®], an A2-based vaccine for visceral leishmaniasis, in a heterogeneous canine population. Veterinary Parasitology, Vol. 204, NO.3-4, PP 169-176.
- Venco, L., Bertazzolo, W., Giordano, G., Paltrinieri, C. (2014).** Evaluation of C-reactive protein as a clinical biomarker in naturally heartworm-infected dogs: A field study. Veterinary Parasitology, Vol. 206, NO.1-2, pp 48-54.
- Yoon, W. K., Kim, Y. W., Suh, S L., Choi, R., Lee, S. G. et al. (2017).** Evaluation of cardiopulmonary and inflammatory markers in dogs with heartworm infection during treatment with the 2014 American Heartworm Society recommended treatment protocol. Parasites & Vectors, Vol. 10, No.2, pp 535.

CHAPTER 2
CURRENT TREATMENT METHODS IN OSTEOARTHRITIS
Dr. Murat TANRISEVER¹

¹ University of Firat, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Elazig, Turkey. mtanrisever@firat.edu.tr

INTRODUCTION

Arthritis is briefly defined as joint inflammation. The disorder may involve one, several, or all of the tissues that make up the joint. Arthritis can be classified in two main groups; degenerative arthritis with significant articular cartilage destruction events and inflammatory arthritis in which prominent synovitis is the main pathological finding.

- A. Non-Inflammatory Joint Disease (degenerative joint disease)
 - 1. Osteoarthritis; Primary osteoarthritis, Secondary osteoarthritis
 - 2. Traumatic Arthritis
 - 3. Hemophilic Arthritis
 - 4. Neuropathic Arthritis
- B. Inflammatory Joint Disease
 - 1. Infected Joint Disease; Bacterial (Septic) Arthritis, Fungal Arthritis, Viral Arthritis
 - 2. Non-infected Inflammatory Joint Disease (immune origin)
 - a. Erosive Arthritis; Rheumatoid Arthritis, Periosteal Proliferative Polyarthritis
 - b. Non-erosive Arthritis; Systemic Lupus Erythematosus, Polyarthritis /Polymyositis, Polyarthritis / Meningitis, Racial Inflammatory Arthritis Syndrome
 - 3. Crystal Effect Arthritis: Gout, Pseudogout, Hydroxyapatite
 - 4. Others; Drug Effect, Vaccination Reaction, Plasmatic / Lymphocytic Gonitis (Bennet D, 1987; Arıcan, 1995)

1. OSTEOARTHRITIS

Osteoarthritis (degenerative joint disease, hypertrophic arthritis and osteoarthrosis) is a degenerative joint disease that starts with fibrillation of joint cartilage, characterized by progressive and irregular cartilage loss, osteophyte formation, subchondral sclerosis, and a series of abnormalities in the periartricular structures and synovial membrane (Freeman, 1972; Sellam et al, 2009). This disease is also seen in all domestic animals and laboratory animals (Arıcan and Çalın, 2004; Bennet, 1995). In addition, osteoarthritis (OA) is one of the most important joint diseases seen in dogs. It has been reported that approximately 37% of lameness in dogs is caused by OA (Bennet, 1995).

1.1. Etiology

Osteoarthritis; it is divided into two as primary (idiopathic) and secondary (Arıcan, 2014; Schulz 2007). In many cases, the reason why OA occurs has not been fully explained. Environmental factors, genetic susceptibility, endocrine and metabolic status and traumatic wounds can be counted among the causes of the disease (Jouzeau et al., 2000). Structural damage to articular cartilage and subchondral bone with repetitive joint functions for a long time constitutes OA (Arıcan, 2014; Milli et al., 1997).

Primary OA; it refers to the situations where there is an important defect in the biomaterial properties (glycosaminoglycans) of the joint cartilage and the onset of OA. Secondary OA; it may occur as a result

of diseases such as abnormal stress affecting to the cartilage, infection, immune originated inflammation, osteochondrosis or crystal arthropathy. It also occurs due to nutritional diseases, trauma, developmental disorders and other causes (Schulz 2007).

Etiological causes include age, gender, race and genetic endogenous risk factors. Exogenous risk factors include excess weight, excessive joint movement and strain, and abnormal joint shape. Progression of age is one of the most important risk factors in the development of OA. It has been reported that the injury or loss of the matrix of the cartilage may be due to the increase in sensitivity loss of chondrocytes which the ability to regenerate and repair (Garvican et al, 2010; Innes 2012). In addition, the aging cartilage matrix becomes more sensitive to micro-impacts, and the regeneration and repair mechanisms of the cells remain insufficient in the face of this increased sensitivity. In addition, it has been reported that genetic causes leading to the formation of a mild chondroplasia and the early onset of OA cause the formation of the disease (Tamura et al., 2002).

1.2. Pathogenesis

There is a dynamic balance between cartilage formation and destruction in a normal joint. In joints with OA, this balance is disrupted in favor of destruction. The main factor that plays a role in the pathogenesis of OA; it is the breakdown of the matrix, which is the cartilage intermediate. While the proteoglycan content in cartilage decreases, the water content increases. In response to this change, chondrocytes multiply to perform the repair and try to replace the lost

intermediate. However, as the induced chondrocytes also secrete degrading enzymes, there is a continuous loss of proteoglycans with the released enzymes and the involvement of synovial enzymes, and matrix degradation continues progressively (Altman et al, 1986; Atay, 2000; Aurbery, 2001; Brandt and Mankin, 1993; Mankin and Brandt, 1989; Mankin and Brandt, 1992). Proteoglycan loss, local swelling and softening in the area close to the surface of the cartilage are the first disorders in cartilage destruction (Akkuş, 2005). These events are followed by a decrease in the amount of hyaluronic acid in synovial fluid (Moreland, 2003). It has been reported that the amount of some caspases (cysteiny aspartate-specific proteinases) including caspase-3 and caspase-8 were also increased in patients with OA (Xia et al, 2012).

In OA, with the effect of loads on cartilage tissue, chondrocyte and synovia-derived IL-1 (Interleukin-1) and TNF- α (tumor necrosis factor- α) synthesis and the number of receptors of these cytokines increase. IL-1 and TNF- α stimulate the synthesis of both themselves and other cytokines which cartilage damage enhancing effects such as IL-6 (Interleukin-6), IL-8 (Interleukin-8), PGE2 (Prostaglandin E2). There is an increase in the concentrations of PGE2 and LTB4 (Leukotriene B4) in the joint fluid. With the effect of all these cytokines, there is an increase in the synthesis and release of metalloproteinase enzymes such as MMP-3 (Stromelysin), MMP-2, MMP-9 (Gelatinases), MMP-1, MMP-8 and especially MMP-13 (Collagenases), which play a role in cartilage destruction. While MMPs increase their own synthesis, they decrease the synthesis of

their inhibitor TIMP-1 (Metalloproteinase tissue inhibitor) (Moreland, 2003; Xia et al, 2012).

Another substance is nitric oxide which synthesis is increased by IL-1 and TNF- α in osteoarthritis. Nitric oxide helps this vicious cycle in cartilage destruction by decreasing collagen and proteoglycan synthesis in the matrix, increasing MMP synthesis, and especially by stimulating chondrocyte apoptosis in the superficial cartilage layer (Moreland, 2003). Chondrocytes increase proteoglycan synthesis to respond to this destruction, but this increase is not enough to compensate for the destruction. Since the increase in proteoglycan synthesis is especially in the middle and deep layers; the superficial layer is the first layer to be affected by damage and the most proteoglycan loss (Moreland, 2003).

1.3. Clinical Findings

OA shows similar clinical findings seen in other existing joint diseases (Innes, 2012). In the physical examination of the joint with OA; pain on palpation and fractures during forced flexion and extension movements. Sometimes crepitation can be heard when the joint moves, and frequent reduction occurs in the range of motion of the joint (Innes, 2012; Schulz, 2007). In rare cases, the fall of an osteophyte part into the knee joint may cause the joint to lock as a result of the cartilage squeezing in the gap between the tibia and the femur. In advanced cases, irregular swelling of the knee may be encountered, often caused by osteophytic protrusions (Önel, 1987).

1.4. Diagnosis

The most important problem for OA in human and veterinary medicine is not diagnosing the disease at an early stage. Radiological changes can be considered as a standard in the diagnosis of OA (Arıcan, 2014; Tamura, 2002). There is no diagnostic laboratory finding for OA. Erythrocyte and sedimentation rate, routine blood counts, urine analysis and blood biochemistry tests give normal results. It is often sufficient to routinely examine anterior-posterior or postero-anterior radiographs (Fig. 1) and lateral radiographs of the joint. In the evaluation of radiographs; sclerotic bone changes surrounding the joint margin, osteophytic growths extending from the joint margin, narrowing of the joint space (Fig. 2), subchondral bone cysts and destructive changes in the bone ends are examined (Spector and Hart, 1996; Bilgili and Orhun, 2012). Studies on cartilage metabolism in recent years have revealed the degree of cartilage destruction, changes in glycosaminoglycan, keratan sulfate (KS), chondroitin sulfate (CS) and hyaluronic acid levels. Studies have shown that KS and CS concentration increase and HA concentration decreases in joint fluids with OA. However, it has been shown that there is an increase in the concentration of IL-6, TNF and also that MMPs and osteocalcin which is a bone parameter, increase in synovial fluid (Arıcan et al., 2000; Hongbin et al., 2008).



Figure 1. Normal knee radiography of rabbit



Figure 2. Rabbit knee with severe osteoarthritis

1.5. Alternative Imaging Techniques to Radiography

1.5.1. Computed Tomography (CT) and Magnetic Resonance Imaging (MRI)

Because the use of CT and MRI requires expensive equipment, they are not preferred for imaging joint diseases in animals. It has been suggested to use these techniques in some cases having difficulty in diagnosing. While CT is used to evaluate the mineralized structures of the joint, MRI is used in the evaluation of intra-articular and periarticular structures, ligaments, tendons, meniscus and articular cartilage (Barr and Kirberger, 2006).

1.5.2. Ultrasonographic Examination

It is not easy to evaluate the joint by ultrasound due to the acoustic shadow artifacts created by the mineralized structures. It is used to understand the nature of intra-articular soft tissues, tendo and periarticular structures and joint swelling (Barr and Kirberger, 2006).

1.5.3. Scintigraphy

It is used to precisely locate active inflammations and lamenesses that have occurred. It is not preferred in the diagnosis of joint diseases. It is especially used to determine the area that cannot be diagnosed with different examination techniques (Barr and Kirberger, 2006).

1.6. Treatment

Until now, a method that can restore the cartilage damage that occurs in the treatment of OA has not been found. There are treatment methods that prevent the progression and expansion of the damage

that occurs only in the cartilage (Mobasheri and Henrotin, 2010; Kwon and Park, 2012). The aim of treatment can be summarized as relieving pain, preserving the range of motion and functional activity of the joint, and eliminating the current cause in secondary OA in addition to this (Rychel, 2010; Akinbo et al., 2011).

1.6.1. Medical Treatment

1.6.1.1. Analgesics

Paracetamol, acetaminophen, acetyl salicylic acid are drugs that can be used to provide analgesia. Codeine and other narcotics are rarely used for pain relief (Zhang et al., 2004; Jordan et al., 2003). There are studies reporting that non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) drugs are more effective than pure analgesics, especially in cases accompanied by synovitis. In addition, NSAIDs are the most commonly used drugs in OA, and it has been reported that both acute and chronic pains act in a short time and show their effect for a long time (Innes, 2012; Lamont and Mathews, 2007). Continuous use of NSAIDs helps in pain control and clinically better joint movement. With the continuous use of NSAIDs, nitric oxide is suppressed and therefore the destruction of the joint cartilage is prevented (Tirelioğlu et al., 2007). Caprofen and meloxicam are in the most commonly used NSAID group (Innes, 2012).

1.6.1.2. Other Medical Treatment Options

Polysulfate glycosaminoglycan and pentosan sulphate are other medical treatment options (Innes, 2012). Pentosan polysulfate is a

semi-synthetic glycosaminoglycan and has a protective effect on cartilage. Pentosan polysulfate is not recommended for use with NSAIDs due to its anticoagulant effect (Plumb, 2011). In addition, systemic glucocorticoid therapy or administration of ACTH has no place in the treatment of gonarthrosis (Jordan et al., 2003).

1.6.2. Non-Medical Treatment Methods

1.6.2.1. Exercise

The expected benefit from exercise in the treatment of OA is to increase range of motion, muscle strength and endurance. It has been observed that pain and functions increase with exercise, massage and hydrotherapy in patients with OA. In addition, swimming was accepted as the best physical therapy method in cats and dogs with OA (Taylor, 2007; Rychel, 2010).

1.6.2.2. Weight Control

Slimming overweight patients is one of the important methods, especially in cats and dogs with OA. Obesity is very common in small animals and this is an important risk factor associated with the development of OA. Studies have shown that low-calorie nutrition and weight loss alone reduce the clinical symptoms of OA and increase mobility (Budsberg and Bartges, 2006).

1.6.2.3. Feed Additives

Glucosamine and chondroitin sulfate are the most commonly used feed additives. Although there is no drawback in their use, their effectiveness should be demonstrated by further studies (Johnston et

al., 2008; Aragon et al., 2007). In addition, the unsaponifiable avocado and soybean product has also been shown to not relieve pain in a study on horses, but has promising effects on improving disease parameters (Kawcak, 2007). Again, although the antiarthritic effects of this product in cats and dogs are promising, there are deficiencies regarding doses, avocado-soy rates and clinical data (Altinel et al., 2007; Boileau et al., 2009). In addition to these, omega-3 fatty acid, resin product obtained from *Boswellia serrata* tree and vitamin C are also used (Innes, 2012; Rychel, 2010).

1.6.2.4. Low Level Laser Application

Low level laser application is a useful method that can increase the effect of the treatment in relieving the chronic pain of cats and dogs. Although the mechanism of action of low-level laser application has not been fully explained, it has been observed that it reduces pain and muscle spasm in arthritis and regulates blood circulation in the affected area (Millis, 2009; Hegedus et al., 2009).

1.6.2.5. Acupuncture

Acupuncture is often used in veterinary practice to control inflammation and chronic pain (Cantwell, 2010). Although the mechanism of action of acupuncture has not been fully explained, it has been accepted as a decrease in the transfer of pain to the medulla spinalis together with local relief in muscle spasms as a result of endogenous endorphin release (Mathews, 2008; Polat, 2021). Other alternative treatment methods include practices such as homeopathy,

hot steam, massage, ice therapy, and herbal remedies (Henrotin,2005; Rychel, 2010).

1.6.2.6. Surgical Methods

Surgical intervention is required in cases where the applied medical treatment methods are insufficient to reduce the pain. These include chondrocyte transplantation (Bilgili et al., 2006), arthroplasty, arthrodesis, or amputation if necessary. In addition, it has been reported that the treatments performed in the ruptures of the anterior cruciate ligament will slow the rapid development of OA (Arıcan 2014; Schulz, 2007).

1.6.2.7. Use of Intraarticular Injection in Osteoarthritis

Intra-articular injections are used less frequently in the treatment of OA in cats and dogs compared to humans and horses. In addition, there are not enough studies on this subject on cats and dogs. Treatment of OA by intra-articular injection is widely used in horses, where joint lameness plays an important role in veterinary practice (Caron, 2005; Edwards, 2011).

1.6.2.7.1. Corticosteroids

Although very popular, the mechanism of action in the joint with OA has not yet been fully explained. However, it has been reported that it shows its effect by suppressing phospholipase A activation and reducing the production of cyclooxygenase and lipoxygenases (Schulz, 2007). Intra-articular steroids; they reduce the amount of inflammatory cells such as lymphocytes, macrophages and mast cells,

and this prevents phagocytosis and the release of lysosomal enzymes and inflammatory mediators (Lavelle et al., 2007). Corticosteroids have been shown to be effective in suppressing cytokines and enzymes that are effective in cartilage degeneration in osteoarthritic joints. In addition, they perform their cartilage protective effects by suppressing metalloproteinase activity (Schulz, 2007). Intra-articular corticosteroid application also has side effects. The most important of these is that they reduce the synthesis of proteoglycan and collagen found in the structure of cartilage by suppressing chondrocyte metabolism (Schulz, 2007; Kon et al., 2011).

1.6.2.7.2. Hyaluronic Acid

Hyaluronic acid (hyaluronate, hyaluronan) is a word derived from the word "hyalos", which means glass in Greek because of its bright and transparent nature. Hyaluronic acid (HA) is a glycosaminoglycan composed of polysaccharides arranged in a linear plane. These polysaccharides are formed by sequencing D-glucuronic acid and N acetyl-D-glucosamine monosaccharides, which are linked together in repeating sections (Henrotin et al., 2005; Dıraçoğlu, 2007). Endogenous hyaluronic acid is synthesized by type B synoviocytes and fibroblasts and plays an important role in the lubricating property of synovial fluid and absorption of the shock (Henrotin et al., 2005; Kwon and Park, 2012; Bannuru et al., 2009). Since it is not absorbed well orally, it is thought that intraarticularly administered HA acts in different ways. The proposed mechanisms are as follows:

- a) Increasing the deteriorating viscosity and lubricating properties of the joint fluid,
- b) Helping absorption of mechanical shocks by creating a protective barrier on the synovial membrane and joint surface,
- c) Increasing cartilage flexibility and resistance to damage,
- d) Decreasing joint effusion,
- e) Direct effect on nociceptors
- f) Increasing heat shock protein 72 (Hsp72) expression,
- g) Inhibition of free oxygen radicals and matrix metalloproteinases by acting on synovial permeability (Bannuru et al., 2009; Pozo et al., 1997; Takahashi et al., 1999; Goldberg and Buckwalter, 2005).

It has been reported that the effects of hyaluronic acid administration are seen within 12 weeks and that the effect of viscosupplementation starts later than intraarticular steroid administration, but lasts longer (Bannuru et al., 2009; Dıraçoğlu, 2007). It has been demonstrated in in-vitro studies that it has anti-inflammatory, analgesic and cartilage protective effects (Gerald et al., 1998; Colen et al, 2010).

1.6.2.7.3. Platelet Rich Plasma

Platelet-rich plasma (PRP) is a thrombocyte concentrate rich in growth factors prepared by centrifugation of the patient's own blood (Arıcan, 2014). Many growth factors such as vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor (TGF) β 1 and β 2, basic fibroblast growth factor (β FGF) are stored in the α -granules of thrombocytes in the

blood circulation. It is known that these substances are released from the granules when platelets are activated as a result of various stimulations. Growth factors are involved in the proliferation of chondrocyte cells and differentiation of mesenchymal cells, matrix deposition, proteoglycan synthesis, and they also show anabolic effects in cartilage metabolism (Kon et al., 2011; Eravcı and Erdikmen, 2014).

1.6.2.7.4. Autologous Serum

Autologous serum is a new biological therapy method and is used in OA cases seen in humans and horses (Arıcan, 2014). In cartilage destruction, the catabolic cytokine interleukin (IL-1) is the most important inflammatory mediator (Baltzer et al., 2009). Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1Ra) prevents the secretion of IL-1 (Baltzer et al., 2009; Textor, 2011). Autologous serum is the endogenous source of IL 1Ra to be secreted, and its natural place is monocytes (Fox and Stephens, 2010). Generally, autologous serum is isolated from incubated venous blood. It contains endogenous anti-inflammatory cytokines IL-1Ra, IL-4, IL-10 and fibroblast growth factor-1, hepatocyte growth factor and transforming growth factor. Despite its clinical use, the effectiveness of autologous serum on the joint with OA is not fully understood (Rutgers et al., 2010).

1.6.2.7.5. Mesenchymal Stem Cell

Cells that have the ability to transform into different cell types, self-renewal power and the ability to survive as long as they remain alive are called stem cells (Özen and Gül Sancak, 2014; Andrades et al.,

2011). Mesenchymal stem cell (MSC) is a type of adult stem cell. They are the main cells of connective tissue. They can be obtained from many tissues. They can differentiate into cells such as fat, cartilage, bone, muscle, and neurons (Andrades et al., 2011). Treatments using MSCs in veterinary medicine are used in tendon and ligament injuries in horses and dogs, as well as in cartilage and joint damage (Özen and Gül Sancak, 2014). MSCs have been tried in the treatment of hip OA in dogs and the results of the study have been reported to be successful. In the treatment of elbow joint OA by the same researcher, it was reported that dogs were clinically better in patient reviews (Black et al., 2008).

1.6.2.7.6. Amniotic Fluid

Amniotic fluid is a fluid that is partially formed by amniotic cells but comes mainly from maternal blood. The amniotic fluid protects the creature it contains against external impacts, prevents the embryo from adhering to the amniotic membrane and allows the fetus to move (Sadler, 1993). In the content of bovine amniotic fluid; there are macromolecules such as insulin-like growth factors (IGFs), other growth factors, HA and HA activating agent (HASA) that have stimulating effects on mesenchymal cells and chondrocytes (Dasari, 1995; Ravelich et al., 2004; Longaker et al., 1990; Decker et al., 1989). However, it also includes tissue metalloproteinase inhibitors (TIMP) that can prevent cartilage destruction (Bunning et al., 1984). Human amniotic fluid has been used intraarticularly in previous experimental studies and positive results have been obtained

(Tirelioğlu et al., 2007). In another study, intraarticular bovine amniotic fluid was used and it was shown that it has an effective cartilage-protecting effect in osteoarthritis (Tanrisever et al, 2017).

1.6.3. Other Treatment Options

Orgotein, silicon, magnesium sulfate, chondroitin sulfate, somatostatin, chloroquine, mucopolysaccharide polysulfuric acid ester, lactic acid solution, thiotepa cytostatica, polynucleotide and prolotherapy options were used experimentally, but the results were not satisfactory (Arıcan 2014; Edwards, 2011).

CONCLUSION

Joint diseases are very common in veterinary practice. Osteoarthritis takes an important place among these joint diseases and lameness is seen especially due to the pain. Although there is no definitive treatment for this disease yet, there are different applications that prevent the progress of the disease and relieve the pain symptoms. However, the development of many new different techniques and treatment methods in the future will increase the success rate in treatment.

REFERENCES

- Akinbo S, Owwoeye O, Adesegun S. (2011). Comparison of the therapeutic efficacy of diclofenac sodium and methyl salicylate phonophoresis in the management of knee osteoarthritis. *Turk J Rheumatol*, 26: pp. 111-119.
- Akkuş Ö. (2005). Diz Osteoartritli Hastalarda Vizkosuplementasyon. Uzmanlık Tezi. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Altinel L, Saritas ZK, Kose KC, et al. (2007). Treatment with unsaponifiable extracts of avocado and soybean increases TGF-1 and TGF-2 levels in canine joint fluid. *Tohoku J Exp Med*, 211: pp. 181-186.
- Altman R, Asch E, Bloch D. (1986). Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 29: pp. 1039-1049.
- Andrades JA, Claros S, Palomo PJ, et al. (2011). Skeletal Regeneration by Mesenchymal Stem Cells: What Else? *Regenerative Medicine and Tissue Engineering - Cells and Biomaterials*, 5: pp. 107-144.
- Aragon CL, Hofmeister EH, Budsberg SC. (2007). Systematic review of clinical trials of treatments for osteoarthritis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 230: pp. 514-521.
- Arıcan M. (1995). Bone and Cartilage Metabolism in Canine Arthropathies, University of Liverpool, pp. 1-23.
- Arıcan M, Coughlan AR, Clegg PD, Carter SD. (2000). Matrix Metalloproteinases 2 and 9 in bovine synovial fluids. *J Vet Med A*, pp. 47: 449-456.
- Arıcan M. (2014). Köpeklerin dejeneratif eklem hastalıklarında (osteoarthritis) güncel teşhis ve tedavi yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri*, 5: 1-8
- Atay BM. (2000). Osteoartrit. In: Beyzaova M. (Editör). *Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon*. Ankara: Güneş Kitabevi.
- Aurbery J. (2001). Pathology of Osteoarthritis. In: Koopman WJ. (Editor) *Arthritis and Allied Conditions. Textbook of Rheumatology*. 14 th.ed. Philadelphia, pp. 2167-2194.

- Baltzer AW, Moser C, Jansen SA, Krauspe R. (2009). Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17: pp. 152-160.
- Bannuru R, Natov S, Obadan E, et al. (2009). Therapeutic Trajectory of Hyaluronic acid versus corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: Systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatism (Arthritis Care and Research)*, 61: pp. 1704-1711.
- Barr FJ, Kirberger RM. (2006). *BSAVA Manual of Canine and Feline Musculoskeletal Imaging*. 1st edition, Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Bennett D. (1987). Immune based erosive inflammatory joint disease of the dog. Canine rheumatoid arthritis 1. Clinical radiological and laboratory investigation. *J Small Anim Prac*, 28: pp. 779-798.
- Bennet D, May C. (1995). Joint diseases of dogs and cats. In: Etlinger SJ, Feldman EC. (Editors). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 4th edition, Philadelphia: Saunders WB Company, pp. 2032-2072.
- Bilgili H, Yıldız C, Kürüm B. ve ark. (2006). Repair of osteochondral defects with autologous chondrocyte implantation: Clinical study on the stifle joint of 9 dogs *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 53: pp. 103-109.
- Bilgili H, Orhun S. (2012). Tavşan Diz Eklemine Oluşturulan Deneysel Osteoartritisinde Eklem Dokularında Gelişen Değişikliklerin Radyolojik ve Histolojik Olarak Araştırılması. *Vet Cer Derg*, 8: pp. 8-12.
- Black LL, Gaynor J, Adams C, et al. (2008). Effect of intraarticular injection of autologous adipoz-derived mesenchymal stem and regenerative cells on clinical signs of chronic osteoarthritis of the elbow joint in dogs. *Vet Ther*, 9: pp. 192-200.
- Boileau C, Martel-Pelletier J, Caron J, et al. (2009). Protective effects of total fraction of avocado/soybean unsaponifiables on the structural changes in experimental dog osteoarthritis: inhibition of nitric oxide synthase and matrix metalloproteinase-13. *Arthritis Res Ther*, pp. 11: 1-9.

- Brandt KD, Mankin HJ. (1993). Osteoarthritis and Polycondritis In: Kelly WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB. Edit Textbook of Rheumatology 4th Edition, WB Saundres Company, Philadelphia, pp. 1355-1373.
- Budsberg SC, Bartges JW. (2006). Nutrition and osteoarthritis in dogs: does it Help? Vet Clin Small Anim. 36: 1307-1323.
- Bunning RAD, Murphy G, Kumar S, Phillips P, Reynolds JJ. (1984). Metalloproteinase inhibitors from bovine cartilage and body fluids. Eur J Biochem, pp. 139: 75-80.
- Cantwell SL. (2010). The Mechanism and Management of Acupuncture for Chronic Pain. Published by Elsevier Inc, pp. 53-57.
- Caron JP. (2005). Intra-articular injections for joint disease in horses. Veterinary clinics of North America Equine Practice Elsevier, pp. 559-573
- Colen S, van den Bekerom J, Bellemans J, Mulier M. (2010). Comparison of intraarticular injections of hyaluronic acid and corticosteroid in the treatment of osteoarthritis of the hip in comparison with intra-articular injections of bupivacaine. Design of prospective, randomized, controlled study with blinding of the patients and outcome assessors. BMC Musculoskeletal disorders, pp. 11: 264.
- Dasari G, Prince I, Hearn MTW. (1995). Investigations into the rheological characteristics of bovine amniotic fluid. J Biochem Biophys Methods, 30: pp. 217-225.
- Decker M, Chiu E, Moiin A, et al. (1989). A hyaluronic acid stimulating factor from the bovine fetus and from breast cancer patients. Cancer Res, 49: pp 3499-3505.
- Dıraçoğlu D. (2007). Osteoartritte intra-artiküler hyalüronik asit tedavisi. Türk Fiz Tıp Rehab Derg, 53: pp. 154-159.
- Edwards SHR. (2011). Intra- articular drug delivery: The challange to extend drug residence time within the joint. Vet J, 190: pp. 15-21.
- Eravcı E, Erdikmen OD. (2014). Ortopedide plateletten zengin plazma uygulamaları. Türkiye Klinikleri Dergisi, 5: pp. 81-84.

- Fox BA, Stephens MM. (2010). Treatment of knee osteoarthritis with Orthokine-derived autologous conditioned serum. *Expert Rev Clin Immunol*, 6: pp. 335-345.
- Freeman MAR. (1972). *The Pathogenesis of Primary Osteoarthritis: An hypothesis. Modern Trends in Orthopaedics*. London: Butterworths.
- Garvican ER, Vaughan- Thomas A, Innes JF, Cleeg PD. (2010). Biomarkers of cartilage turnover. Part 1: Markers of kollagen degradation and synthesis. *Vet J*, 185: pp. 36-42.
- Gerald NS, Stephen LM, Kenneth DB, Elizabeth AM. (1998). Effect of intraarticular hyaluronan injection in experimental canine osteoarthritis. *Arthritis and Rheumatism*, 41: pp. 976-984.
- Goldberg VM, Buckwalter JA.(2005). Hyaluronans in the treatment of osteoarthritis of the knee: Evidence for disease-modifying activity. *Osteoarthritis Cartilage*, 13: pp. 216-224.
- Hegedus B, Viharos L, Gervain M, et al. (2009). The effect of low-level laser in knee osteoarthritis: A double-blind, randomized, placebo- controlled trial. *Photomed Laser Surg*, 27: pp. 577-584.
- Henrotin Y, Sanchez C, Balligand M. (2005). Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: Present and future perspectives. *Vet J*, 170(1): pp. 113-123.
- Hongbin W, Jingyuan D, Qixin Z. (2008). Expression of MMP-1 in cartilage and and synovium of experimentally induced rabbit ACLT traumatic osteoarthritis: Immunohistochemical study. *Rheumatol Int*, 29: pp. 31-36.
- Innes F. (2012). Arthritis. In: Tobias KM, Spencer A, Johnston SA. (Editors). *Veterinary Surgery: Small Animal*. 1st edition, St Louis: Elsevier Saunders, pp. 1078-1111.
- Johnston SA, McLaughlin RM, Budsbers SC. (2008). Nonsurgical management of osteoarthritis in dogs. *Vet Clin Small Anim*, 38: pp. 1449-1470.
- Jordan KM, Arden NK, Doherty M, et al. (2003). An evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing

- Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*, 62: pp. 1145-1155.
- Jouzeau JY, Gillet P, Netter P. (2000). Interest of animal models in preclinical screening of anti-osteoarthritic drugs. *Joint Bone Spine*, 67: pp. 565-569.
- Kawcak CE, Frisbie DD, McIlwraith CW, et al. (2007). Evaluation of avocado and soybean unsaponifiable extracts for treatment of horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res*, 68: pp. 598-604.
- Kon E, Buda R, Filardo G, et al. (2011). Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 19: pp. 528–535.
- Kwon DR, Park GY. (2012) Intra-articular injections for the treatment of osteoarthritis: focus on the clinical use of several regimens. In: Chen Q. (Editor). *Osteoarthritis Diagnosis, Treatment and Surgery*. Chapter 4. Open Access Book. Shanghai, pp. 67-100.
- Lamont A, Mathews A. (2007). Opioids, nonsteroidal anti-inflammatories and analgesic adjuvants. In: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm KA. (editors). *Lumb Jones Veterinary Anesthesia and Analgesia*. 4th ed. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, pp. 241-272.
- Lavelle W, Lavelle DE, Lavelle L. (2007). Intra-articular injections. *Anesthesiology Clinics*, 25: pp. 853-862.
- Longaker M, Adzick NS, Hall JL, et al. (1990). Studies in fetal wound healing, VII. Fetal wound healing may be modulated by hyaluronic acid stimulating activity in amniotic fluid. *J Pediatr Surg*, 25: pp. 430-433.
- Mankin HJ, Brandt KD. (1989). Osteoarthritis and Polycondritis (pathogenesis of osteoarthritis) In: Kelly WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB. (Editors) *Textbook of Rheumatology*. 4th Edition, Philadelphia: WB Saunders Company, pp. 1469-1479.
- Mankin HJ, Brandt KD. (1992). Biochemistry and Articular Cartilage in osteoarthritis. In; Moskowitz RW, Howel DS, Goldberg VM, Mankin HJ. (Editors). *Osteoarthritis. USA: W.B. Saunders Company*, pp. 109-154.

- Mathews KA. (2008). Neuropathic pain in dogs and cats: if only they could tell us if they hurt. *Vet Clin Small Anim*, 38: pp. 1365-1414.
- Milli ÜH, Hazioglu R. (1997). Kemik, Eklem, Kas, Tendo ve Aponözler. Veteriner Patoloji I. Ankara: Tamer Matbaacılık.
- Millis DL. (2009). Physical therapy and rehabilitation in dogs. In: Gaynor JS, Muir WW. (editors): *Handbook of Veterinary Pain Management*. 2nd edition. St Louis, Mosby Elsevier, pp. 507-537.
- Mobasheri A, Henrotin Y. (2010). Identification, validation and qualification of biomarkers for osteoarthritis in humans and companion animals: Mission for the next decade. *Vet J*, 185: pp. 95-97.
- Moreland LW. (2003). Intraarticular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: Mechanisms of action. *Arthritis Res Ther*, 5: pp. 54-67.
- Önel D. (1987). Osteoartroz Romatizmal Hastalıklar. 2. baskı, İstanbul: Atlas Ofset Matb.
- Özen A, Gül Sancak İ. (2014). Mezenkimal kök hücreler ve veteriner hekimlikte kullanımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 61: pp. 79-84.
- Plumb DC. (2011). *Plumb's Veterinary Drug Handbook*. 7th edition, Pharmavet Inc. Stockhol, Wis. Iwoa: Wiley- Blackwell, pp. 1-1584.
- Polat E. (2021). Effect mechanisms of acupuncture. In: *Veterinary Medicine and A New Look At Beekeeping*. Iksad publishing house. Ankara. Turkey, pp. 21-40.
- Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C. (1997). Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hyalan, a hyaluronan derivative. *Exp Brain Res*, 116: pp. 3-9.
- Ravelich SR, Breier BH, Reddy S, et al. (2004). Insulin-like growth factor-1 and binding proteins 1, 2, and 3 in bovine nuclear transfer pregnancies. *Biology of Reproduction*, 70: pp. 430-438.
- Rutgers M, Saris DB, Dhert WJ, Creemers LB. (2010). Cytokine profile of autologous conditioned serum for treatment of osteoarthritis, in vitro effects

- on cartilage metabolism and intra- articular levels after injection. *Arthritis Res Ther*, 12: pp. 112-114.
- Rychel JK. (2010). Diagnosis and treatment of osteoarthritis. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25: pp. 20-25.
- Sadler TW. (1993). *Langman's Medikal Embriyoloji*. Ankara, Palme yayıncılık.
- Sellam J, Herrero-Beaumont G, Berenbaum F. (2009). Osteoarthritis: Pathogenesis, clinical aspects and diagnosis. In: Bijlsma JWJ, Burmester GR, P de Silva JA, et al. (Editors). *EULAR Compendium on Rheumatic Diseases*. Italy: BMJ Publishing Group Ltd, pp. 444-463.
- Schulz K. (2007). Diseases of the Joint. In: Fossum TW. (Editor). *Small Animal Surgery Textbook*. 3rd edition, St. Louis Missouri: Mosby Elsevier.
- Spector TD, Hart DJ. (1996). Radiological evaluation of osteoarthritis. *Rev Prat*, 1: pp. 15-21.
- Takahashi K, Goomer RS, Harwood F, et al. (1999). The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-1beta(IL-1beta), and tissue inhibitor of metalloproteinase- 1 (TIMP-1) gene expression during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 7: pp. 182-190.
- Tamura T, Shirai T, Kosaka N, Ohmori K, Takafumi N. (2002). Pharmacological Studies of diacerein in animal models of inflammation, arthritis and bone resorption. *Euro J Pharmacol*, 448: pp. 81-87.
- Tanrısever M, Eröksüz H, Bulut S. (2017). The comparison of the effects of intraarticular injections of bovine amniotic fluid and hyaluronic acid on cartilage tissue in an experimental osteoarthritic rabbit model: histopathological and immunohistochemical results. *Turk J Vet Anim Sci*, 41: pp. 273-281.
- Taylor M. (2007). Joint Disorders. In: Couto NW. (Editor) *Small Animal Internal Medicine*. 4th Edition. St. Louis: Mosby Elsevier, pp. 1119-1142.
- Textor J. (2011). Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: Platelet rich plasma and IL- 1 receptor antagonist protein. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 27: pp. 275-298.

- Tirelioğlu O, Bilgen MS, Atıcı T, Yalçınkaya U, Bilgen ÖF. (2007). Tavşanda deneysel osteoartrit modelinde insan amniotik sıvısının eklem içi uygulamasının kıkırdak doku ve sinovya üzerindeki etkileri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakóltesi Dergisi*, 33: pp. 121-125.
- Xia L, Luo QL, Lin HD, et al. (2012). The effect of different treatment time of milimeter wave on chondrocyte apoptosis, caspase- 3, caspase- 8 and MMP- 13 expression in rabbit surgically induced model of knee osteoarthritis. *Rheumatol Int*, 32: pp. 2847-2856.
- Zhang W, Jones A, Doherty M. (2004). Does paracetamol (acetaminophen) reduce the pain of osteoarthritis? A meta-analysis of randomised controlled studies. *Ann Rheum Dis*, 63: pp. 901-907.

CHAPTER 3
ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN VETERINARY MEDICINE
AND MEDICINE

Veterinarian Hindreen Mohammed radhi radhi¹,
Assoc.Prof. Dr. Aliye SAGKAN OZTURK²

¹ University of Hatay Mustafa Kemal, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine, Hatay, Turkey. Email address: halsoudany@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-1284-9947

² University of Hatay Mustafa Kemal, Faculty of Veterinary, Department of Internal Medicine, Hatay, Turkey. Email address: alsavet@mail.com, ORCID ID: 0000-0003-1037-6733²

INTRODUCTION

Artificial intelligence (AI) is defined as the class of computer hardware and computer software that have intelligent behavior such as analysis, learning, which is the most important focus of attention in ever-growing and changing technology (Büyükgöze and Dereli, 2019). A lot of work in the modern era has been inspired by this early work in the process. The mind has created intelligent software and systems that enable computers to function in different ways, helping to establish contemporary logical reasoning (Ramesh et al. 2004).

Medical AI is essentially computer software designed to predict clinical diagnoses and treatments. AI is capable of detecting a dataset and can predict diagnosis, treatment and outcomes in many clinical cases by establishing meaningful relationships within that dataset (Chan et al. 2018).

In recent years, information processing technologies have become very important in the field of veterinary medicine. Practitioners are beginning to use AI applications on a large scale over the Internet. With laptop computers, it has become possible to store a large number of useful information about patients, including address information, phone numbers, prescribed medications, laboratory information, and other patient-related data. The difference between laptops and large computers is that they are small and portable and have many different uses (Rao, 2002).

With artificial intelligence technologies created in the last years, it has created a main event in health services and led to increased discussions about whether applications of artificial intelligence will replace physicians in the future. Of course, machines are not expected to completely replace clinicians, but it may be possible for AI to help clinicians for making correct clinical decisions or change the human decisions in certain functional areas of healthcare (eg, radiology) (Jiang et al. 2017).

1. DEEP LEARNING AND MACHINE LEARNING

Deep learning is defined as the field that cover the artificial neural networks and the similar machine learning algorithms that have single or multiple hidden layers. In other words, the computer gets the latest data from the existing data with several algorithms that used minimumlyone artificial neural network (Ng 2019).

In other words, deep learning is machine learning that derives its origins from the concept of an artificial neural network (Akay and Hess 2019). The fact that deep learning consist a higher or deeper number of processing layers contrasts with the smaller number of shallow learning models. In the transition from shallow to deep learning, more complex and non-linear functions are created in layers because they cannot be mapped efficiently with shallow mapping (Shrestha and Mahmood 2019).

Machine learning, on the other hand, is a sub-field of computer science and has been defined by Arthur Samuel (1959) as “the ability to learn without being explicitly programmed into computers (Harris et al.).

Machine learning relies on algorithms that learn and evolve from through experience, which forms the basis of artificial intelligence (Visvikis et al. 2019).

Machine learning methods generally fall into two groups as supervised and unsupervised learning algorithms (Litjens et al. 2017). In the supervised learning model, a teacher or supervisor is assumed. It divides training samples into classes and provides information about class membership for each training sample. The unsupervised learning model defines the pattern. Classroom information is learned intuitively and through trial-and-error interactions (Sathya and Abraham 2013).

Classification of images or results has made a significant contribution to deep learning medical image analysis. The test classification has one diagnostic variable (eg, present or absent disease) as the output, and one or more images (test) as the input. In such an environment, each diagnostic test is treated as a sample, and data set sizes are usually smaller compared to computer vision (Litjens et al. 2017).

2. THE AIM AND APPROACHE OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN VETERINARY MEDICINE AND CLINICIANS

Artificial intelligence is divided into two main branches in the field of health, virtual and physical. The default component is represented by machine learning. First, by providing artificial intelligence, machine learning algorithms and knowledge management, it has increased and continues to increase discoveries in genetics and molecular medicine.

The best example of this is protein-protein interaction algorithms, which are among new therapeutic discoveries (Hamet and Tremblay 2017).

Physical objects, the second form of application of artificial intelligence in health, are assembled as medical devices and complex robots (health robot). Possibly the most promising approach to artificial intelligence is the use of robots as assistants. A healthy robot developed specifically for older adults with cognitive decline or limited mobility is a good example of this. Japanese healthcare robots are among the most advanced of these technologies. These robots can be used as assistant surgeons or even principal surgeons in surgery (Hamet and Tremblay 2017).

It aims to understand intelligence by creating a program that scientifically reveals intelligent behavior. Expression intelligence includes many cognitive skills such as understanding natural languages, problem solving, and learning. Expert level proficiency in solving problems in a particular field is provided by considering database or expert systems with artificial intelligence software. Expert systems, rule-based systems, and knowledge-based systems are used to give similar meanings (Abu Nasser and Bassem, 2017).

The potential benefits of using clinical expert systems are summarized below:

- Improving patient safety
- Improving the quality of care
- Providing computer support for decision-making

- Using expert interventions that are automatically delivered and tailored to the practitioners workflow
- Expert systems that provide information at the time of decision-making and on-site increase the likelihood that their interventions will be more effective.
- Increasing efficiency in providing health services (Saba et al., 2012).

3. THE HISTORY OF ARTIFICIAL INTELLIGENCE

The term artificial intelligence was first defined by John McCarthy as “the science and engineering of making intelligent machines, and intelligent computer programs” (McCarthy, 2007). The most important application area of artificial intelligence is the Expert Systems (USA). Expert systems; they are computer systems that can model thinking and decision-making that can be done by an expert or people. The most important feature that distinguishes expert systems from other decision support systems from an architectural point of view is the 'knowledge base' and inference mechanism in the US (Bilge, 2007).

The history of AI applications is presented in chronological order below;

3.1. Dendral

In 1966, the Model 50 IBM 360 Computer Supporting Medical Laboratory Systems at Stanford University School of Medicine was awarded as a scholarship to Lederberg in the Department of Genetics of the NIH (National Institute of Health) and this product was named Advanced Computer Research for Medical Science (ACME) (Herzenberg and Rindfleisch 2008).

3.2. Mycin

In the early 1970s, the MYCIN system was developed at Stanford University to get a better idea of expert systems. MYCIN is the first example of a widely developed expert system. Artificial intelligence has been used to specify bacteria that cause critical infections, such as bacteremia and meningitis, and to suggest antibiotics. He adjusted antibiotic doses according to the patient's body weight and was named after the suffix "mycin", a name derived from the antibiotic. The MYCIN system has also been used in the identification of coagulopathy (Doğaç 1988).

3.3. Internist-1

The INTERNIST-1/Quick Medical Reference project, implemented by Jacques de Meyers, who served as chair of the Department of Medicine at the University of Pittsburgh between 1955 and 1970, includes computer algorithms that can support specialized diagnostic consultations in the field of internal medicine and a clinical diagnostic database (Miller, 2009).

3.4. Casnet

CASNET (National Causal Networks) was developed in the 1960s to diagnose and treat diseases. CASNET/Glaucoma is the most important application of the CASNET-based Expert System, created for the diagnosis and cure of glaucoma. CASNET/Glaucoma was developed at Rutgers University and carried out in the FORTRAN programming language (Jadhav and Sattikar, 2014). As with other methods, the

CASNET modeling approach has advantages and limitations (Weiss et al. 1997).

3.5. Present Illness Program (PIP)

The Present Illness Program is a diagnostic program and has been conducted by Pauker, Gorry, Kassirer, Schwartz, and Szolovits at MIT and Tufts University (Sherman, 1981). The PIP program has selected a questions to ask the user for additional information for a better understanding to the clinical problem. The results are validated and then the hypotheses are re-evaluated in light of the newly obtained results by defining an algorithm endpoint (Strain and Franklin 2011).

3.6. Acid-Base and Electrolyte Program (ABEL)

The acid-based and electrolyte- counseling system consists of 4 components such as decision-making, diagnosis, treatment, and patient-specific model. In the patient-specific model, it shows that the clinician can understands the patient's condition at some point during the diagnosis, management, and the central datum structure that other components of the system can caused (Patil 1981).

3.7. The Oncocin System

ONCOCIN is a medical expert system developed in the 1970s through Stanford's work on medical artificial intelligence. ONCOCIN is designed to help the clinical oncologists to treat patients with cancer. The optimal treatment for most cancer patients is not yet known. For this reason, oncology studies are often not presented with complex trials comparing

the therapeutic benefits and side effects (toxicity) of proposed alternative therapies for diseases (Shortliffe 1984).

3.8. Dxplain

DXPLAIN is a decision support system that helps its users to create a more comprehensive differential diagnosis system. DXplain, a computer-based medical training, reference, and decision support system that has continued to evolve since its inception in the mid-1980s by the Computer Science Laboratory of Massachusetts General Hospital; It is a decision support instrument, a medical framework system, and an electronic medical textbook (Elkin et al. 2010).

3.9. Qmr: Quick Medical Reference

The Quick Medical Reference (QMR) was developed in 1985. The software was originally written in Turbo Pascal to run on IBM PC-XT, PC-AT and compatible computers (Miller & Masarie 1990). QMR is a microcomputer-based decision support tool for diagnostics in internal medicine (Shwe et al. 1991). The purpose of this program is to convey useful medical information to healthcare professionals quickly and easily. This program contains knowledge from the primary medical literature for nearly 700 diseases and more than 5,000 symptoms and laboratory findings (Jadhav and Sattikar 2014).

4. SOME AI APPLICATIONS USED IN CLINICIANS

4.1. Diagnosis disease application

Computer-assisted diagnosis (CAD) has become part of the routine clinical work-up to detect and screen for breast cancer through mammograms in hospitals in the United States. It is widely used in the detection and differential diagnosis of many different types of abnormalities in medical images using different imaging methods, including nuclear medicine, from CAD (Shiraishi et al. 2011).

CAD also brings many benefits to diagnostic applications found in clinics and hospitals. However, for such an application to be successful, it must meet objectives such as the management of large amounts of clinical data, objective and quantitative judgments, efficacy and efficiency in CAD systems (Yanase and Triantaphyllou 2019).

4.1.1. DLAD (Deep Learning based Automatic Detection)

Chest radiography is one of the most common diagnostic imaging tests in practitioners, and is used to diagnose and monitor various chest conditions. The main purpose of this diagnosis is the detection of pulmonary nodules. Lung nodules are usually the first radiological manifestations of lung cancer (Nam et al 2019). In the last years, a various computer-aided detection programs have been developed to help improve nodule detection on chest radiographs. Although traditional computerized detection systems have made great progress in this regard, many false positives hamper their routine use in clinical practice. Recently, deep learning-based automatic detection (DLAD) algorithms

have been developed to help improve the detection of malignant nodules (Jang et al 2020).

Deep learning-based automatic detection algorithms (DLADs) are also used for classification of CRs including malignant nodules and active pulmonary tuberculosis (Nam et al 2019).

4.1.2. LYNA (Lymph Node Assistant)

In the early diagnosis and staging of breast cancer, sentinel lymph node biopsies are very important in reviewing the presence of metastasis. However, examination of lymph nodes for the presence of cancer cells is time-consuming and error-prone. Deep learning-based algorithms accurately detect breast cancer, lymph node metastasis based on distinct performance metrics at both the slice and tumor level. The diagnostic accuracy of these algorithms is comparable to that of pathologists without time limitations, and can be used by pathologists in Simulated environment (1 minute per slide) (Liu et al 2019).

4.1.3. Phonocardiogram (PCG) and Elektrocardiyogram (EKG) analyses

The heart diseases generally diagnosed by the stethoscope and electrocardiogram it's the main diagnosis methods because of their simplicity and non-invasive feature. In Cardiac auscultation the cardiologist's needs to be professional and has the skills. Therefore, a computerized heart sound analysis is a very important to assist the cardiologist (Malarvili ve ark.2003).

The heart sounds has been classified in to three types of sounds, normal, murmur, and extra systole, were classified in the PASCAL Btraining data set. It has been using both ANN and CNN artificial neural networks for classification. The CNN result has a better rating than the results of ANN and the previous studies. CNN appears to be an ideal classification tool for classifying heart sounds with variable characteristics (Deperlioglu 2018).

4.1.4. Diabetic Retinopathy

Diabetic retinopathy is a common disease of the eye. It is among the most common causes of blindness among the working population in developed countries. It is also common in cats and dogs. This is the reason why a great deal of work has been done in recent years to develop tools to aid in the diagnosis of diabetic retinopathy (Walter et al. 2002). To address the shortcomings of the current diagnostic workflow, it proposes automated solutions to diagnose retinal diseases from color fundus images scanned in the past. With this tool, the workload of trained professionals is reduced, allowing untrained technicians to objectively examine and treat many patients without relying on physicians (Gargeya and Leng 2017).

4.1.5. The Applications Used of Dermatology

Automation of dermatology Computer-aided image classification has been used for more than 30 years, but only limited accuracy has been achieved with earlier applications. Neural networks have been used to diagnose and monitor inflammatory skin diseases in recent years, but they have generally not been as successful as networks for diagnosing

skin lesions (Du Harpur et al. 2020). In this application, first, the data is entered into the detection system of the system algorithm. The data are dermoscopic images in digital format and these images often contain hair which reduces classification efficiency. So hair and such other noises should be removed. This is achieved using image preprocessing techniques (Jaleel et al. 2013).

4.2. The Use of Smartphones in Clinicians

A recent study has showed on the rapid introduction of smartphones into our lives showed that 79% of medical students and 75% of graduate students own smartphones. The field of smartphone use is to aid in the diagnosis, prognosis, and treatment of medical conditions (Bierbrier et al 2014).

4.2.1. Body Condition Scores (BCS) Applications

Body condition scores (BCS) applications of artificial intelligence have been identified as an important instrument for managing dairy cows in veterinary medicine. Furthermore, BCS is the leading method for interpreting body energy source in dairy cows. It is a very simple and reproducible system for assessing body fat storages and of great importance in predicting tissue mobilization. In addition, this application is used to prepare appropriate rations on dairy farms and to determine cow feeding programs (Deniz and Alic 2016).

4.2.2. Anesthesia Applications

Due to the versatility depending on the patient's height and weight, medication dosage and equipment variety, pediatric sedation is an excellent addition to the use of expert systems. This is particularly useful for trainees or non-anaesthesiologists that do not have a good understanding of all necessary calculations (Bhansali et al. 2012).

Anesthesiologists should also assess depth of sedation in children to reduce anxiety during respiratory induction of anesthesia and use the two-choice visual reaction time test (Dasari et al 2011).

4.2.3. EMR Application in Veterinary Medicine

This application is the only one that has a many features for managing pet records to save time for vets or trainers. This application works perfectly on both Android tablets and mobile smartphones. Using the application does not require a mobile network as there is no internet and data plan

(https://play.google.com/store/apps/details?id=com.siyami.apps.an&hl=en_US&gl=US).

CONCLUSION

In addition to algorithms developed in the field of health, artificial intelligence includes physical objects, devices, and medical applications that provide great assistance and contribution to veterinary and medicine clinicians. Using AI, patients' demographic information and clinical data (images, EP results, genetic findings, blood pressure, medical notes, etc.) can be collected on the system in line with their permission, and the AI

system can then be used to make clinical recommendations about data the patients. Thus, stronger algorithms can be created every day in veterinary medicine and medicine.

While AI technologies are receiving a lot of attention in the field of medical research, real-life application still faces hurdles. The goal in AI applications is not to have a machine replace the clinicians, but to lighten his workload mentally and physically.

REFERENCES

- Abu-Nasser, B. (2017). Medical expert systems survey. *International Journal of Engineering and Information Systems (IJEAIS)*, 1(7), 218-224.
- Bhansali, R., & Armstrong, J. (2012). Smartphone applications for pediatric anesthesia. *Pediatric Anesthesia*, 22(4), 400-404.
- Bierbrier, R., Lo, V., & Wu, R. C. (2014). Evaluation of the accuracy of smartphone medical calculation apps. *Journal of medical Internet research*, 16(2), e32.
- Bilge, U. (2007). Tıpta yapay zeka ve uzman sistemler. *Türkiye Bilişim Derneği Kongresi*, 113-118.
- Büyükgöze, S., & Dereli, E. (2019). Dijital sağlık uygulamalarında yapay zeka. VI. *Uluslararası Bilimsel ve Mesleki Çalışmalar Kongresi-Fen ve Sağlık*, 07-10.
- Chan YK, Chen YF, Pham T, Chang W, Hsieh MY. Artificial Intelligence in Medical Applications. *J Healthc Eng*. 2018 Jul 15;2018:4827875. doi: 10.1155/2018/4827875. PMID: 30123442; PMCID: PMC6079562.
- Dasari, K. B., White, S. M., & Pateman, J. (2011). Survey of iPhone usage among anaesthetists in England. *Anaesthesia*, 66(7), 630-631.
- Deniz, A. U. (2016). The use of new practices for assessment of body condition score. *Revista MVZ Córdoba*, 21(1), 5154-5162.
- Deperlioglu, O. (2018). Classification of phonocardiograms with convolutional neural networks. *BRAIN. Broad Research in Artificial Intelligence and Neuroscience*, 9(2), 22-33.
- Doğaç, A. (1988) Uzman sistemler. *Elektik Mühendisliği*. 7(7), 87-91.
- Du Harpur, X., Watt, F. M., Luscombe, N. M., & Lynch, M. D. (2020). What is AI? Applications of artificial intelligence to dermatology. *British Journal of Dermatology*, 183(3), 423-430.
- Elkin, P. L., Liebow, M., Bauer, B. A., Chaliki, S., Wahner-Roedler, D., Bundrick, J., ... & Barnett, G. O. (2010). The introduction of a diagnostic decision support system (DXplain™) into the workflow of a teaching hospital service can decrease the cost of service for diagnostically challenging

- Diagnostic Related Groups (DRGs). *International journal of medical informatics*, 79(11), 772-777.
- Gargeya, R., & Leng, T. (2017). Automated identification of diabetic retinopathy using deep learning. *Ophthalmology*, 124(7), 962-969.
- Hamet, P., & Tremblay, J. (2017). Artificial intelligence in medicine. *Metabolism*, 69, S36-S40.
- Herzenberg, L., Rindfleisch, T., & Herzenberg, L. (2008). Joshua Lederberg: The Stanford Years (1958–1978). *Annual review of genetics*, 42, 19-25.
https://play.google.com/store/apps/details?id=com.siyami.apps.an&hl=en_US&gl=US
- Jadhav, V. S., & Sattikar, A. (2014). REVIEW of Application of Expert Systems in the Medicine. In *Proc. National Conference on Innovations in IT and Management* (pp. 122-124).
- Jaleel, J. A., Salim, S., & Aswin, R. B. (2013, March). Computer aided detection of skin cancer. In *2013 International Conference on Circuits, Power and Computing Technologies (ICCPCT)* (pp. 1137-1142). IEEE.
- Jang, S., Song, H., Shin, Y. J., Kim, J., Kim, J., Lee, K. W., ... & Lee, K. H. (2020). Deep learning-based automatic detection algorithm for reducing overlooked lung cancers on chest radiographs. *Radiology*, 296(3), 652-661.
- Jiang, F., Jiang, Y., Zhi, H., Dong, Y., Li, H., Ma, S., ... & Wang, Y. (2017). Artificial intelligence in healthcare: past, present and future. *Stroke and vascular neurology*, 2(4).
- Litjens, G., Kooi, T., Bejnordi, B. E., Setio, A. A. A., Ciompi, F., Ghafoorian, M., ... & Sánchez, C. I. (2017). A survey on deep learning in medical image analysis. *Medical image analysis*, 42, 60-88.
- Liu, Y., Kohlberger, T., Norouzi, M., Dahl, G. E., Smith, J. L., Mohtashamian, A., ... & Stumpe, M. C. (2019). Artificial intelligence-based breast cancer nodal metastasis detection: insights into the black box for pathologists. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 143(7), 859-868.

- Malarvili, M. B., Kamarulafizam, I., Hussain, S., & Helmi, D. (2003, September). Heart sound segmentation algorithm based on instantaneous energy of electrocardiogram. In *Computers in Cardiology, 2003* (pp. 327-330). IEEE.
- McCarthy J (2007) What is Artificial Intelligence. Available from: <http://www-formal.stanford.edu/jmc/whatisai/whatisai.html>
- Miller, R. A. (2009). Computer-assisted diagnostic decision support: history, challenges, and possible paths forward. *Advances in health sciences education, 14*(1), 89-106.
- Miller, R. A., & Masarie Jr, F. E. (1990, November). Quick Medical Reference (QMR): A Microcomputer-Based Diagnostic Decision-Support System for General Internal Medicine. In *Proceedings. Symposium on Computer Applications in Medical Care* (pp. 986-988).
- Nam, J. G., Park, S., Hwang, E. J., Lee, J. H., Jin, K. N., Lim, K. Y., ... & Park, C. M. (2019). Development and validation of deep learning-based automatic detection algorithm for malignant pulmonary nodules on chest radiographs. *Radiology, 290*(1), 218-228.
- Ng A, "Machine learning yearning: Technical strategy for ai engineers in the era of deep learning," Tech. Rep., 20
- Patil, R. S. (1981). *Causal representation of patient illness for electrolyte and acid-base diagnosis* (Doctoral dissertation, Massachusetts Institute of Technology).
- Ramesh, A. N., Kambhampati, C., Monson, J. R., & Drew, P. J. (2004). Artificial intelligence in medicine. *Annals of the Royal College of Surgeons of England, 86*(5), 334–338. <https://doi.org/10.1308/147870804290>
- Rao, G. (2002). Introduction of handheld computing to a family practice residency program. *The Journal of the American Board of Family Practice, 15*(2), 118-122.
- Saba, T., Al-Zahrani, S., & Rehman, A. (2012). Expert system for offline clinical guidelines and treatment. *Life Science Journal, 9*(4), 2639-2658.

- Sathya, R., & Abraham, A. (2013). Comparison of supervised and unsupervised learning algorithms for pattern classification. *International Journal of Advanced Research in Artificial Intelligence*, 2(2), 34-38
- Sherman, H. B. (1981). *A Comparative Study of Computer-Aided Clinical Diagnosis of Birth Defects*. MASSACHUSETTS INST OF TECH CAMBRIDGE LAB FOR COMPUTER SCIENCE.
- Shiraishi, J., Li, Q., Appelbaum, D., & Doi, K. (2011, November). Computer-aided diagnosis and artificial intelligence in clinical imaging. In *Seminars in nuclear medicine* (Vol. 41, No. 6, pp. 449-462). WB Saunders.
- Shortliffe, E. H., Scott, A. C., Bischoff, M. B., Campbell, A. B., Van Melle, W., & Jacobs, C. D. (1984). An expert system for oncology protocol management. *Rule-Based Expert Systems, BG Buchanan and EH Shortliffe, Editors*, 653-65.
- Shrestha, A., & Mahmood, A. (2019). Review of deep learning algorithms and architectures. *IEEE Access*, 7, 53040-53065.
- Shwe, M. A., Middleton, B., Heckerman, D. E., Henrion, M., Horvitz, E. J., Lehmann, H. P., & Cooper, G. F. (1991). Probabilistic diagnosis using a reformulation of the INTERNIST-1/QMR knowledge base. *Methods of information in Medicine*, 30(04), 241-255.
- Strain, S., & Franklin, S. (2011). Modeling medical diagnosis using a comprehensive cognitive architecture. *Journal of Healthcare Engineering*, 2(2), 241-258.
- Visvikis, D., Le Rest, C. C., Jaouen, V., & Hatt, M. (2019). Artificial intelligence, machine (deep) learning and radio (geno) mics: definitions and nuclear medicine imaging applications. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 46(13), 2630-2637.
- Walter, T., Klein, J. C., Massin, P., & Erginay, A. (2002). A contribution of image processing to the diagnosis of diabetic retinopathy-detection of exudates in color fundus images of the human retina. *IEEE transactions on medical imaging*, 21(10), 1236-1243.

- Weiss, S. M., Kulikowski, C. A., & Safir, A. (1977, August). A Model-Based Consultation System for the Long-Term Management of Glaucoma. In *IJCAI* (Vol. 5, pp. 826-832).
- Yanase, J., & Triantaphyllou, E. (2019). A systematic survey of computer-aided diagnosis in medicine: Past and present developments. *Expert Systems with Applications*, 138, 112821.

CHAPTER 4
DOGS WITH THEIR ENVIRONMENTAL BIOETHICS
ASPECT EVOLUTION PROCESS

Assist. Prof. Dr. Güzin Yasemin TUNÇAY ¹

¹ Çankırı Karatekin University Faculty of Health Sciences, Çankırı, Turkey,
gyasemintuncay@gmail.com, ORCID ID : 0000-0003-4872-1096

INTRODUCTION

During the earth's 4.6 billion-year existence, many species have lived and continue to live. Some species have been extinct, and others have continued to evolve to this day. Life from single-celled creatures in the oceans has diversified over billions of years, reaching the creatures that dominate land, sea and air today. Life has diversified from the depths of the oceans to the peaks of the mountains, from the polar plains to the scorching deserts, from boiling mud pools to barge salt lakes, to fill all the different and challenging environments of the earth. The size of the animals ranges from insects of millimeter sizes to whales 30 meters tall and weighing more than 180 tons. From the fossils found, it is understood that living creatures on earth have undergone radical changes over many years. This process of radical change is called evolution (Palmer and Baret, 2010; Polat, 2016).

After completing its formation as a vertebrate animal, dogs continued to evolve like all living things. In the evolutionary process of dogs, which are now one of the pets (large enough to lead to the use of the concept of domestication instead of evolution), the effects of humans have been great (Morey 1994; Miklósi and Topál, 2013)

Dogs in History

The beginning of friendship with humans and dogs dates back 15,000 years (Bilim ve Teknik, 2002). In the common opinion of experts, humans and wolves first encountered single- and double-fingered animals roaming large rural areas south of the glacial regions of

Eurasia and North America during the Mesolithic Age. It is believed that humans and wolves used to feed on each other's leftovers at first; later, they started looking for food together. Wolves helped humans with their keen sense of smell, tracking, chasing, hunting. Realizing this, people began to catch wolf cubs and feed them for themselves. Then, it was observed that some of these wolves, when trained, were able to drive wild herds in a certain direction, separate several animals from the herd, keep the animals. Dogs were the first species of animal to be domesticated and therefore evolved by human hands, and dogs also played a role in the domestication of other animals (Gilbert, 1985). According to the researchers, dogs have acquired new abilities in the process of domestication, which occurs under the influence of humans. This is demonstrated by the consciously intelligent efforts of humans to produce intelligent dogs and the intertwining of dogs with humans (Bilim ve Teknik, 2002).

Today, humans continue to benefit from the abilities of dogs. Police dogs, fire dogs, sheepdogs, guide dogs are examples of dogs working for humans (Arit, 1997; Degrazia, 2002; Yılmaz 2014). In addition to individuals who think that dogs are being used for the benefit of humans, there are also people thinking that this is based on a mutually beneficial relationship. In addition to these benefits provided by animals, humans also offer dog's ready-made food in plates. Dogs are much more comfortable and safer to live today than their wild ancestors, and they do not need to hunt to feed (Tunçay, 2020; Gilbert, 1985). In addition, there is the concept of "stray dog". There is no

natural environment in which cats and dogs can live, and they have evolved from centuries ago to the present day, becoming human dependent. Therefore, we cannot say that the same comfort applies to all dogs, and therefore there are some who think that people are obliged to care for them (Tunçay, 2020).

The Evolution of Dogs

Evolution is the process of dominating individuals who have more advantage with natural selection that develops after competition, the formation of new species with dominant characteristics, and the extinction of species that fail to survive. Individuals with a number of characteristics tend to exclude other individuals from the struggle, and they also transfer the useful characteristics they carry to their offspring. These offspring, when it comes their turn, are more successful than individuals who do not have advantageous characteristics like themselves. In this way, individuals who adapt to the environment live, while the species of the other do not persist and disappear. For example, Neanderthal people in the Homosapiens (intelligent human) group lived in Europe and Asia up to 35,000 years ago and then disappeared from the natural environment (Alpagut, 1997; Palmer and Baret, 2010; Thomas, 2008).



Figure 1. Miacidae (wikimedia.org.)

Considering the evolution of dogs; DNA analysis shows that they all come from a common genetic pool (Yılmaz, 2014; Bilim ve Teknik, 2002). It is understood from archaeological remains that Miacidae, considered the ancestor of dogs and a carnivore, lived 20 million years ago. *Cynodesmus* was derived from *Cynodictis*, an arm of the Miacidae (Figure 1), and *Tomarctus* (Figure 2) from it. It is also thought that *Canis Etruscus* (primitive wolf) was derived from *Tomarctus*. Today's wild wolf (*Canis lupus*) was also derived from primitive wolf (Yılmaz, 2014). These wild wolves (Gray Wolf, Figure 3) are thought to have lived in Europe, China or the Middle East (Talent et al., 2018; Wang et al., 2016; Science and Technique, 2006; Morey, 1994).

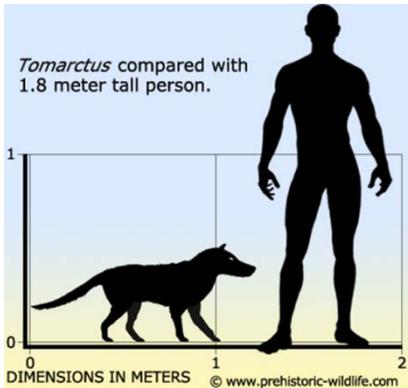


Figure 2. Tomarctus
(<http://www.prehistoric-wildlife.com>)



Figure 3. Gray wolf, the ancestor of today's dogs (Morey, 1994)

Dogs with their Environmental Bioethics Aspects:

Their Domestication and Evolution

The first dogs stayed in the company of humans. Dogs interacted with humans and over the years they differed in relation to people's expectations and passed this knowledge on to their offspring (Topál, Miklósi and Csányi, 1997).

Most dogs have a different intelligence trait, imitating people, repeating their movements, following a person's leadership, this knowledge is seen as the basis of culture in dogs, and this knowledge is transferred from generation to generation, the ability of dogs to imitate is the way they communicate with people. Studies have revealed that dogs look at human behaviors and act accordingly. To

understand the behavior of dogs, a study was carried out with wolves, which are the ancestors of dogs. For this, a wolf and a herd of dogs were bred. Both herds were subjected to the same proportion of human relationships and behaviors. It was ensured that the amount and shape of the behaviors that wolves and dogs were subjected to during their care were the same. A series of experiments examined the behavior of wolves and dogs, and looked at how wolves would not behave like dogs. For example, in an experiment, the researcher had two containers in his hand, and the piece of meat was placed in one so that the dog could see it, and the containers were mixed by hand and placed on the ground. The dog was all of these processes and then pointed human to the container containing meat with his hand and arm. The dog went directly towards the container that the person showed, that is, the dog looked to the person for guidance. Even puppies did the same thing. In the same experiment, wolves mostly behaved differently from dogs and did not look at man for guidance (Virányi et al., 2008; Miklósi et al. 2003).

In another experiment, it was about problem solving. In a cage, meat was placed at the end of the rope, and the rope was outside the cage and the rope must be pulled in order to remove the meat. Both the wolf and the dog did this easily, pulling the rope and reaching the meat. Then the same experiment was applied by making it impossible to pull the rope. When the wolf could not pull the rope, he wandered around the cage for a few minutes to solve the problem, and then fretted. Wolves often tried to solve their own problems, did not return to humans and communicate. In the dog, the situation changed. The

dog gave up trying to get the meat more quickly than the wolves and looked after the person for help. Dogs were better at learning than wolves, communicating with people and getting help from people about what to do. The communication skills of dogs were improved after separation from wolves. People rewarded dogs that followed orders, whether by loving them or giving them food. The dog understood this and behaved the way people wanted. In this way, dogs communicated with humans and passed this information on to future generations. When we looked at the way dogs barked, it was found that this was more than wolves. In other words, dogs have evolved in this respect for generations. Humans produced dogs according to their desires and needs, which was reflected as a change in the appearance and behavior of dogs (Virányi et al., 2008; Miklósi et al., 2003). Dogs have been developed and trained for things like sheepdogs and police dogs. It has been possible to take an ancestor dog and turn it into very different forms. It is thought that all dogs are derived from four types of dogs; hounds, hunting dogs, herd dogs and molossus (former mastiff). People choose mother and father dogs with these characteristics to get puppies with the characteristics they want. Pit bull dogs, for example, were obtained in the 19th century by mating Bulldogs and various Terrier dogs in the Staffordshire region of England, and dogs of this breed are thought to be very good at guarding, defense and protection. Pit bull dogs were then trained in America and made even stronger, and in some opinions, they were “perfected” (Pitbull Turkey, 2021). Therefore, most dog breeds are not actually in nature, but are produced and developed according to the

characteristics that people want. In addition to the production of dogs of the new breed, it has also been observed that the dog of the same breed has changed over the years. For example, competitions for German Shepherd Dogs are held, in which dogs are expected to have certain anatomical characteristics in terms of “beauty” (German Shepherd, 2021; German Shepherd Sports Association, 2019). Likewise, there are “standard” characteristics for kangal shepherd dogs. The absence of these is described as “inaccurate” in terms of competition (Federation of Dog Breeds and Kinology). Therefore, the “production” of dogs is carried out in line with these expectations. This means that dogs that do not have these characteristics will disappear (German Shepherd, 2021; Talenti et al., 2018). Here “artificial selection” takes place, not “natural selection” (Elegans, 2012; Reiter, Jagoda and Capellini, 2016).

Evolution is thought to have progressed over long periods of time at an unnoticeable slowness in the short life of observing people (Stix, 2009). In the process of evolution, individuals adapt to the environment in which they are located, and strong individuals survive, others disappear. This is done by natural selection (Orr, 2009). Darwin explained natural selection as “as a result of the birth of more individuals of any species, possibly more than the number of individuals who can survive, a struggle for existence often arises, so that if any living creature undergoes a change that will benefit it even slightly, it will have a greater chance of survival in complex and sometimes volatile living conditions and will ultimately be chosen naturally.” Due to the strong principle of inheritance, any selected

species will try to reproduce in its new and changed form (Stix, 2009). For example, three vertebrate prickly fish have evolved into numerous forms in 10,000 generations, adapting to many different environments. Mutations that determine the effectiveness of the three genes that control development (such as the complete disappearance of the hind hip fins, large differences in bony armor and much lighter color) led to dramatic anatomical changes (Kingsley, 2009).

The evolution of dogs, like other creatures, has occurred over many years. However, in the process of the evolution of dogs, it has been more human influence than the natural environment. Therefore, the evolution of dogs is also called domestication. Although the process of evolution in the way dogs are domesticated occurs slowly and over many years, in recent years it has been observed that this occurs in a much shorter time. It is obvious that humans have an influence on this. The evolution of dogs has not only been limited to their physical characteristics, but also culturally. Today's dogs have improved their communication skills, as they are in constant communication with humans. In other words, there is both physical and social/cultural evolution (Bakırcı, 2014; Bakırcı, 2015; Topál, Miklósi and Csányi, 1997; Virányi et al., 2008; Miklósi et al., 2008).

In addition to all this information, it is thought that the health of today's dogs, which evolved domesticated, is worse than their ancestors. Today, dogs have the physical characteristics that humans want, but they are unhealthier than their ancestors 100 years ago. Examples include the following two breeds of dogs (Bakırcı, 2014).

German Shepherd Dog

In the past, the German Shepherd dog averaged 25 kg. and was able to jump over a 2.5 m wall. Today's German Shepherd Dogs are barrel-breasted, leaning back, poor muscle coordination and an average of 38 kg. (Bakırcı, 2014).

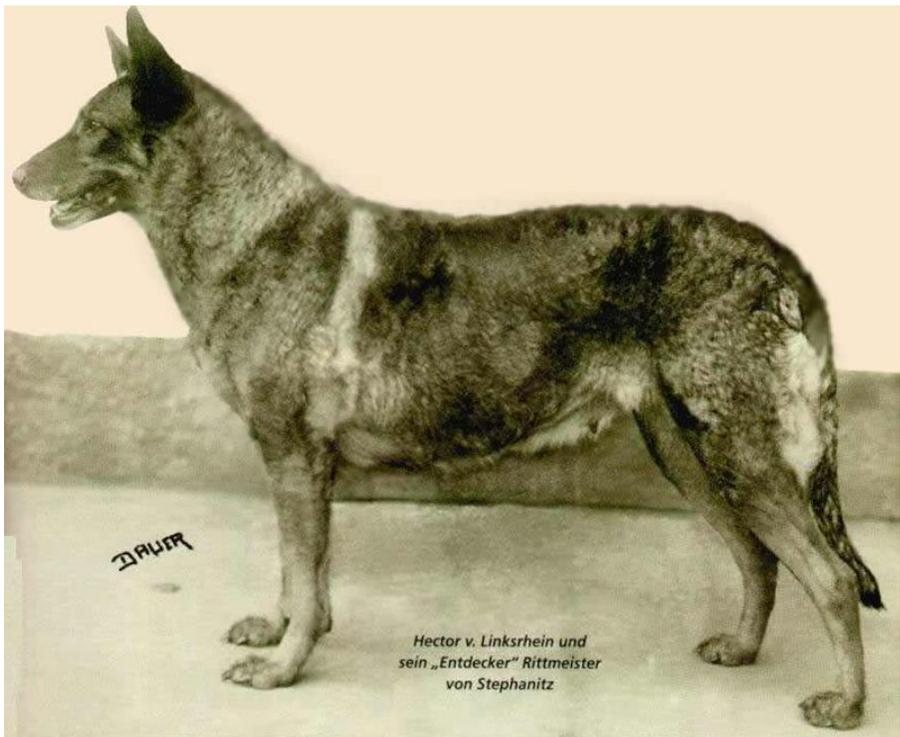


Figure 4. Horand von Grafrath (formerly called Hektor Linksrhein)

The ancestor of today's German Shepherd Dog, who received the title of the first German Shepherd (German Shepherd, <http://www.almankurdu.net/>)

Picture: https://en.wikipedia.org/wiki/Horand_von_Grafrath#/media/File:Horand_von_Grafrath_SZ1_aka_Hektor_Linksrheim.jpg, access date: July 7, 2021



Figure 5. German Shepherd Dog (present).

http://www.pedigreedatabase.com/german_shepherd_dog/, access date: July 7, 2021.

Pak (Pug, Pag, Mops) Breed Dog

These dogs have much more health problems than their ancestors. Hypertension, heart disease, respiratory diseases, high fever, dental and skin diseases. It is also a genetic disease in the double curvy tail desired by humans (Bakırcı, 2015; Bakırcı, 2014).



Figure 7. Ancestor of Pak (Pug) Dog (Bakırcı, 2015)
<https://9gag.com/gag/aYbBZNv>, access date: July 7, 2021



Figure 8. Pak (Pug) Dog (present)
<https://pixabay.com/>

These problems arise due to “internal hybridization” (relative mating) conducted to perform Artificial Selection. Close relatives with this feature are mated to reveal “desired characteristics”. Those who carry the desired characteristics of the born offspring are re-mating, and the desired characteristics will be revealed even more in the new generation. This is how the physical evolution of dogs continued. Unfortunately, in this way, diseases that have remained hidden as the respited gene in dogs also appear (Bakırcı, 2014).

In other words, humans interfered with the natural balance with artificial selection and caused the dependence of dogs with impaired health to increase their dependence on humans (Elegans, 2012). Dogs have become dependent on the care of their people (Verein Für Deutsche Schaferhunde, 2021; Petcanlar, 2021). Today’s dogs do not live in the wild, they cannot live (except wild dogs), and dogs depend on humans to live. Today, there is a concept in the form of “stray dogs”. Are the streets the habitat of dogs? So, how can he live on the street? Apart from what they collect from the garbage, they live with the food that people give. And unfortunately, dogs that have been domesticated over the centuries no longer have natural habitats. In addition, dogs that do not live on the street are described as “domesticated” or those with special training are described as “trained”.

On top of all this, dogs are prohibited from feeding during the evolutionary process due to the fact that some dog breeds are dangerous. This constitutes another dimension of this event. There are

basically ten breeds of dogs that are forbidden to feed. The reason for the ban is that they have strong body structures as well as a tendency to use these forces in a dangerous way. This is also attributed to the trainings people give them (<https://www.petyurdu.org>, 2019).

In the light of all this information, it is seen that the issue should be treated as one of the problem-sets of bioethics. Ethics emerged as the philosophy of values related to human action, and it addresses human actions. Ethics questions the qualitative status that makes an action a good action (Çobanoğlu, 2009). Ethics is to ask question of “How should I behave?”. The point that is aimed to be explained is what is right or wrong, what is good or bad ethically (Reclam, 2008). Bioethics, on the other hand, deals with the relationship between man and all living things. The subject of bioethics is the life of all living beings (Çobanoglu, 2009; Des Jardins, 2006). The ethical relationship between life forms and all environmental elements that cover them is explained by the concept of environmental bioethics. Everything about the environment affecting life falls into the field of environmental bioethics (Gazi and Çobanoglu, 2016).

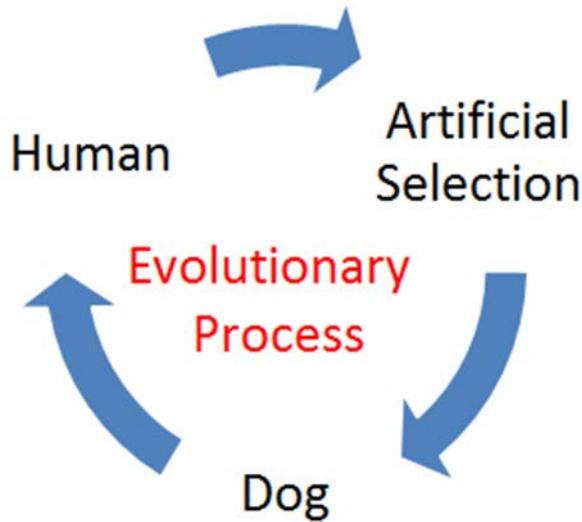


Figure 8. Evolutionary Process in Human-Dog-Artificial Selection Interaction

CONCLUSION

The evolution of dogs is a process of domestication carried out by artificial selection under the influence of humans. And the evolution of dogs took place both physically and culturally/socially. Under normal circumstances, the evolutionary process of living things occurs under the influence of the natural environment. However, during the evolution of dogs, humans had serious effects and humans interfered with the natural environment. The evolution of dogs is shaped by the expectations of humans and society. This has led to today's dogs having traits (unhealthier and more dangerous) that they would not normally have.

REFERENCES

- Alman Çoban Köpeği, [German Shepherd] <http://www.almankurdu.net/> Access date: June 25, 2021.
- Alman Çoban Köpeği Spor Derneği, [German Shepherd Sports Association] <http://www.acksd.org.tr/> Access date: June 25, 2021.
- Alpagut, B. (1997). Doğal Çevre ve İnsanın Evrimi. [Natural Environment and Human Evolution] *İnsan Çevre ve Toplum*, Yayına Hazırlayan Ruşen Keleş, İmge Kitabevi, 2nd Edition, Ankara, p. 113-119.
- Arıt, S. (1997) Bilim ve Teknoloji Haberleri, “İtfaiyeci Köpek” [Firefighter Dog] Şubat 1997, Bilim ve Teknik, April 1997, issue: 353, p. 6.
- Bakırcı, M., Ç. (2014). Köpek Soylarının 100 Yıllık Evrimi ve Sorunları. [100 Years of Evolution of Dog Breeds and Its Problems] *Evrim Ağacı*, <https://evrimagaci.org/kopek-soylarinin-100-yillik-evrimi-ve-sorunlari-2344> (7.7.2021)
- Bakırcı, M., Ç. (2015). Pug (Pag, Mops) Cinsi Köpeklerde Yapay Seçilim Yoluyla Evrim, [Evolution by Artificial Selection in Pug (Pag, Mops) Dogs] <https://evrimagaci.org/pug-pag-mops-cinsi-kopeklerde-yapay-secilim-yoluyla-evrim-3656> (7.7.2021)
- Bilim ve Teknoloji Haberleri. (2006). Antropoloji, Science, 3 Şubat 2006, “Köpek Ne Zaman Dostumuz Oldu?” [When Did the Dog Become Our Friend?] *Bilim ve Teknik*, Mart, issue: 460, p. 16.
- Bilim ve Teknoloji Haberleri. (2002). Biyoloji, Science, 22 Kasım 2002, “En İyi Arkadaşlarımız Dünya Turunda” [Our Best Friends on a World Tour] *Bilim ve Teknik*, Aralık, issue: 421, p. 6.
- Çobanoğlu N. (2009). Kuramsal ve Uygulamalı Tıp Etiği, [Theoretical and Applied Medical Ethics] Eflatun Yayınevi. Ankara, p. 9, 243.
- Des Jardins J. R. (2006). Çevre Etiği, Çevre Felsefesine Giriş, [Environmental Ethics, Introduction to Environmental Philosophy] Çev.: Ruşen Keleş, İmge Yayınevi, Ankara, p. 46, 526

- Degrazia, D. (2002). Hayvan Hakları, [Animal Rights] Türkçesi: Hakan Gür, Dost Kitabevi Yayınları, Ankara, p. 125, 127.
- Elegans, C. (2012). 100 Years of Breed “Improvement” <https://dogbehaviorscience.wordpress.com/2012/09/29/100-years-of-breed-improvement/> Access Date: December 16, 2019.
- Gazi, S, Çobanoğlu, N. (2016) Muğla Kentinde Yöneticilerin Çevresel Biyoetik Değer Sistemine Yönelik Odak Grup Çalışması Ankyra: Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 7 (2): 131-160.
- German Shepherd Dog, http://www.pedigreedatabase.com/german_shepherd_dog/ Access date: July 7, 2021.
- Gilbert, B. (1985). En Yakın Hayvan Dostumuz: Köpek, [Our Closest Animal Friend: Dog] Bilim ve Teknik, Discover’dan Çev: Melih Ölçer, November, issue: 216, p.17-19.
- Köpek Irkları ve Kinoloji Federasyonu. [Federation of Dog Breeds and Kinology] <http://www.kif.org.tr/yerli-irklar/kangal.html>, Access Date: June 25, 2021.
- Kingsley, D., M. (2009). Atomlardan Özelliklere Çeşitlilik, Bilim ve Teknik, Haziran, Year: 42, Issue: 499, p. 35-36.
- Miacidae <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Miacidae.JPG>, Access date: June 25, 2021.
- Miklósi Á., Kubinyi, E. Topál, J., Gácsi, M., Virányi, Z. and Vilmos, C. (2003). A Simple Reason for a Big Difference: Wolves Do Not Look Back at Humans, but Dogs Do, Current Biology, Vol. 13, 763–766, April 29, DOI 10.1016/S0960-9822(03)00263-X.
- Miklósi, A., Topál, J. (2013). What does it take to become ‘best friends’? Evolutionary changes in canine social competence, Trends in Cognitive Sciences, Vol. 17, Iss 6, June 2013, p. 287-294. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2013.04.005>
- Morey, D. (1994). The Early Evolution of the Domestic Dog American Scientist, Vol. 82, No. 4 (July-August 1994), p. 336-347.
- Orr, H. A. (2009). Doğal Seçilimin Genetikle Testi, [Testing Natural Selection with Genetics] Bilim ve Teknik, Haziran, Vol: 42, Issue: 499, p. 40

- Polat, A. (2016). Yerküre Üzerindeki Yaşamın Kökenine ve Evrimine Jeolojik Bir Bakış Açısı, [A Geological Perspective on the Origin and Evolution of Life on Earth] Mavi Gezegen, Popüler Yerbilim Dergisi, TMMOB Jeoloji Mühendisleri Odası Yayını, Issue 21, p. 3-15.
- Palmer, D., Baret, P. (2010). Evrim Atlası: Yaşamın Öyküsü, [Evolution: The Story of Life] Natural History Museum, Çev: Çağlar Sunay, Muzaffer Özgüleş, Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları, 1. Edition, İstanbul, p.10.
- Saint Bernard Özellikleri ve Bakımı, [Saint Bernard Characteristics and Care] <https://www.petcanlar.com/saint-bernard>, erişim tarihi: July 7, 2021.
- Reiter T, Jagoda E, Capellini T. D. (2016). Dietary Variation and Evolution of Gene Copy Number among Dog Breeds. PLoS ONE February 10, p. 1-19. DOI: 10.1371/journal.pone.0148899.
- Reclam, P. (2008) Grundfragen der Ethik, [Basic questions about Ethics] Ethik in Medizin, Ein Studienbuch, 3., aktualisierte Auflage, Herausgegeben von Urban Wiesing unter Mitarbeit von John S. Ach, Matthias Bormuth und Georg Marckmann, Stuttgart, Germany, s. 21.
- Pitbull Turkey, <https://pitbullturkiyee.tr.gg/> Access Date: July 2, 2021.
- Shimeld, S., M. and Holland, W. H. P. (2000). Vertebrate innovations Proceedings of the National Academy of Sciences Apr, 97 (9) 4449-4452; DOI: 10.1073/pnas.97.9.4449.
- Stix G. (2009) Darwin'in Yaşayan Mirası 150 Yıl Sonra Evrim Kuramı, [Darwin's Legacy About Evolutionary Theory after 150 Years Later] Bilim ve Teknik, June, Vol: 42, Issue: 499, p. 24, 26.
- Talenti, A. and et. al. (2018). Studies of Modern Italian Dog Populations Reveal Multiple Patterns for Domestic Breed Evolution. Ecology and Evolution. 8: 2911–2925.
- Thomas, L. (2008). Bir Tıp Gözlemcisinin Notları,[The Youngest Science-Notes of Medicine-Watcher] Translated by: Füsün Baytok, 2. Basım, Tübitak Popüler Bilim Kitapları, p. 237.

- Topál, J., Miklósi A. & Csányi V. (1997) Dog-Human Relationship Affects Problem Solving Behavior in the Dog, *Anthrozoös*, 10:4, 214-224, DOI: 10.2752/089279397787000987.
- Tunçay, G. Y. (2020) *Biyetik Çerçevesinde Vegan ve Vejetaryenlik, [Vegan and Vegetarianism in the Framework of Bioethics]* Vize Publishing, Ankara.
- Verein Für Deutsche Schaferhunde, <https://www.schaeferhunde.de/>, Access Date: July 7, 2021.
- Virányi, Z., Gácsi, M., Kubinyi, E. et al. (2008). Comprehension of human pointing gestures in young human-reared wolves (*Canis lupus*) and dogs (*Canis familiaris*). *Anim Cogn* 11, 373 (2008). <https://doi.org/10.1007/s10071-007-0127-y>
- Wang, G., D. ve ark. (2016) Out of southern East Asia: the natural history of domestic dogs across the World, *Cell Research*, 26, s. 21-33. DOI: 10.1038 / cr.2015.147.
- Yılmaz, O. (2014), *Dünya Çoban Köpeği Irkları, [The Breeds of Shepherd Dog in World]* Veni Vidi Vici Publishing, Zile, ISBN : 978-605-63406-0-4.
- 100 years of selective breeding, <https://9gag.com/gag/aYbBZNv>, Access Date: July 7, 2021.
- Türkiye’de Beslenmesi Yasaklanmış Köpek Irkları Hangileridir?- Beslemenin Güncel Para Cezası Ne Kadar?- [Which Dog are Banned in Turkey?] *Hukuki Zemin Nedir?* (2019) <https://www.petyurdu.org/2019/09/27/turkiyede-beslenmesi-yasaklanmis-kopek-irklari-hangileridir-beslemenin-guncel-para-cezasi-ne-kadar-hukuki-zemin-nedir/> Access Date: July 7, 2021.

CHAPTER 5

A CHRONOLOGICAL LOOK at CATTLE RAISING from DOMESTICATION to the PRE-INDUSTRIAL PERIOD

Assist. Prof. Dr. Savaş Volkan GENÇ ¹

¹ Burdur Mehmet Âkif Ersoy University, Faculty of Veterinary, Department of Veterinary Medicine History and Deontology, Burdur, Turkey, svgenic@mehmetakif.edu.tr, ORCID ID : 0000-0002-9153-060X

INTRODUCTION

In the late glacial period, Asian-European people added another species to their lives by domesticating wolves (*Canis lupus*) for the first time, with results that can be called accidental due to environmental conditions. Although this event was very important in terms of being the first step of human-animal union, it did not bring great changes in people's lives, except for camp security, as it changed or improved hunting tactics or techniques (Baskıcı, 1998; Malignea et al., 2014).

Mankind continued the domestication process with plants after the wolves and started to establish permanent settlements. Although all the species it domesticated are a tiny fraction of the world's biodiversity, it has significantly impacted humankind's journey. In contrast to the transition from the wolf to the dog, these domestications, beginning in the Neolithic Period, changed the way of life of human society around the world, out of hunter-gatherers. From now on mankind has formed an agricultural society in a slow but powerful techno-economic process on the basis of food production based on the cultivation of domesticated plants and animals. This period, which can be called the Agricultural Revolution, is characterized by deep socio-cultural change and a strong demographic transition (Baskıcı, 1998; Vigne, 2015).

Domestication is a process involving the propagation of certain plant and animal species under human control for economic, social or symbolic reasons. From this point of view, catching a wild animal for

a particular individual or family and not for the community and accustoming them to them, does not belong to domestication. Domestication takes various forms as a process dependent on animal/plant species and the multiplicity of human behavior. From control in the wild, to the management of captive animals, to extensive or intensive breeding, and finally to domestic animals, the process can be sustained based on the dynamic balance between humans and animals. Further progress or withdrawal into a less intense relationship may also be possible. This is clearly demonstrated by the phenomenon of brutalization that is common today in various situations (for example, reindeer) (Baskıç, 1998; Gross, 2017; Vigne, 2015).

In the Neolithic period, some people settled in the Near East, especially in the Southern Palestine and Middle Euphrates Valley, during the Late Glacial Period. They were hunter-gatherers living in half-buried houses in small villages, enjoying a wide range of food just-like their Paleolithic ancestors. At the end of the Late Ice Age, they introduced domestication, which included hunting and ungulate control. The Holocene Era was born when these communities cultivated wild grains and legumes. Life began in larger and more complex villages. As a result of organized societies, large religious structures such as Göbekli Tepe with examples of megalithic architecture and animal figures carved into rocks were born. The earliest ungulate domestication and cattle domestication in the world originated in the Middle Euphrates Basin between 10.700 and 10.500 BC. It has also been seen further east in Central Anatolia and south in

the Jordan valley and the Dead Sea region. Cattle were raised in an area stretching from Cyprus and Central Anatolia from west to east to the Iranian Plateau and from the high Euphrates and Tigris valleys to the southern borders of Palestine. The region consisted of high mountain slopes (Taurus, Zagros) and large Near Eastern valleys (high and middle Tigris, Euphrates, and Jordan). The region, whose geographical existence is limited by wide valleys stretching from the Nile to the Lower Euphrates-Tigris (Mesopotamia), was called the Fertile Crescent. It provided a wide range of resources, including meat, milk, hauling, leather, bone, and horn. Complex developed societies emerged as Eurasia became the center of the agro-rural economy (Arbuckle, et al., 2016; Gupta, 2004; Vigne, 2011; Vigne, 2015).

On the Way to Become a Primary Nutrient

As livestock became the primary source of meat in the Near East, artificial selection and crossbreeding began. A few centuries later, the seasonal pastoral nomadism seen today in the Old World was born. Domestic animals became a supplementary resource during less productive hunting seasons. The symbolic value of milk use as a figure of the maternal bond was high. Anthropologically, the high symbolic value of an animal was a sign of social prestige and wealth as in today's societies. Among the reasons that encourage people to own/domesticate animals, symbolism is also spiritually and symbolically important. Plant and animal breeding also initiated the cultural development of humanity. Cattle are one of 14 large wild

terrestrial species that meet the conditions for successful domestication. An herbivorous diet, rapid growth, ability to reproduce in captivity, and social behavior that facilitated herding were the cattle's greatest advantages. It was domesticated after the smaller, easier-to-maintain sheep and goats. Cattle breeding entails division of labor and imposes classification on pastoral societies, and its impact as one of the earliest forms of capital is significant. Beef became the most important domesticated animal by plowing fields, as a source of meat, milk, and leather. Social networks are central to human culture, albeit with ceremonies, rituals, and a less affectionate human-animal relationship than horses or dogs (Baskıcı, 1998; Felius, et al., 2014; Gupta, 2004; Vigne, 2011).

Cattle, Anthropocene creatures, interact and interact with humans and other species. As Anthropocene creatures, cattle actively transform the ecological environment in their mutual and dependent relationships with humans and other species. The cattle brought to America by the Spanish conquistadors, the colonists' occupation of suitable places, destroying the local ecology, transforming property relations with exploitation activities enabled the expansion of Europe. The industrialization of cattle was only possible by transforming their social and ecological relations. Capitalist expansion in cattle breeding depends on cattle preference and their ecological relationships. This system has brought the meat and dairy industry today, the destruction of tropical forests, environmental disasters such as methane and greenhouse gas emissions. European capitalist expansionism can be understood in connection with the history of animals. For Engels,

livestock was the first private property. Marx argues that the British fenced off communal farmland to make room for sheep, turning peasants into wage workers and creating the conditions under which capitalism emerged. Cattle made the accumulation of wealth possible for humans (Baskıçı, 1998; Ficek, 2019).

Cattle walking the migration routes with humans have also experienced natural disasters, famine, and wars. This adventure began with the decomposition of *Bos primigenius* into the common cattle breed Taurine of the temperate zone and the humped Zebu, which better tolerates hot and dry environments, suitable for tropical climates. *Bos primigenius indicus* in the Indus valley and *Bos primigenius taurus* in the Fertile Crescent were domesticated separately. It is the ancestor of almost all cattle, although a few other cattle species have been domesticated, from Taurine (*Bos taurus*) and Zebu (*Bos indicus*). Both species descended from the wild aurochs (*Bos primigenius*) endemic to North Africa, Europe, Asia, and the once-green Sahara at the end of the last glacial period (10.000 BC). This huge wild species went extinct in Poland in 1627, when the last animal died. *Bos taurus* is abundant in Southwest Asia. The Northern and Central European aurochs are the main ancestors of European cattle, indicating that taurine cattle descended from the Fertile Crescent. There is separate African domestication of African taurine cattle 6.500–9.000 years ago. According to Neolithic remains, the origin of various cattle in Eurasia is Southwest Asia. Taurine and zebu bred with cattle migrations, and Southwest Asian, African, Chinese, and American cross breeds were born. In the 3.000s BC, climatic

changes and trade on the silk road caused the Zebu to migrate west from India to Southwest Asia (Baskıcı, 1998; Felius, et al., 2014; Hewgill, 2017; Marsan, et al., 2010; Vigne, 2015).

Taurine was domesticated 10.300–10.800 years ago in the Fertile Crescent on the Turkey–Syria western border. Molecular analyzes The main ancestors of almost all modern taurine cattle, from the Neolithic to Iron Age Iranian cattle, are approximately 80 female aurochs. 2000 years after the domestication of the taurine, the zebu was domesticated in the Indus Valley on the edge of the Indian Desert. Agriculture and animal husbandry spread with the expansion of the first agricultural societies. As agricultural societies expanded west, the native taurine breed brought to Central Anatolia around 10.000 BC and Europe from 8500 BC, along with other livestock and crops. Short-horned taurine spread to southern and central Europe between 3.000–2.500 BC, arriving in England between 2.000–1.000 BC. From the Bronze Age, cattle became more and more adaptable to cold winters and famine, while their sizes were steadily decreasing. The height of aurochs bulls was 180 cm and cows were 160 cm, while Bronze and Iron Age cattle in Italy, Germany, Netherlands, France, and Central Europe came down to 110 cm. (Felius, et al., 2014; Zeder, 2008).

Along with agriculture, cattle followed human migrations. The contribution of cattle to trade between India and East Africa explains the high zebu density in Madagascar. How African pastoralism spread west and south via the Horn of Africa is explained by the African *B. taurus* variation. It also shows a secondary bull influence from Europe

and the Near East. Another interesting link between cattle and humanity is in Tuscany, the homeland of the Etruscans who dominated the north of the Italian peninsula from 900 to 500 BC. DNA analysis identified haplotypes of the 4 Ancient Tuscan races in Anatolia and a common origin of Etruscan and Anatolian maternal lineages 3.000–4.000 years ago. This marks a second migration from Anatolia to Italy, coinciding with the beginning of the Etruscan civilization. Cattle remains found in Switzerland prove that during the Roman occupation the size reduction of large Roman cattle was interrupted by domestication (Marsan, et al., 2010; Zeder, 2008).

The decrease in body size of domesticated farm animals, called “domestication syndrome”, was observed for the first time in settlements on the banks of the Euphrates in Turkey. Cattle in the domestic phenotype became consistently evident by mid-8.000 BC. There are 500 years between the onset of cattle breeding and the emergence of native morphologies defined. With the emergence of domestic cattle phenotypes, it began to spread to the western and southern regions. In the mountainous Caucasus, cattle breeding appeared as early as 6.000 BC. Domestic cattle from the northern Levant were carried by Neolithic colonists in 7.800–5.500 BC (Arbuckle, et al., 2016; Baskıcı, 1998; Wilkins, et al., 2014).

The distribution of zebu began around 4500 BC when invaders from Central Asia descended into the Indus Valley via the northern passes. The natives of the valley migrated east to the Ganges Valley with their animals. Cattle were found around 1.500 BC in Bihar and Bengal. In

central India, terracotta figurines and fragmented zebu bones have been found on the Deccan plateau. Contemporary Harappan seals show us that cattle with and without humps coexisted in 3.000-1.500 BC. Zebu entered China from the south or southwest in 1.000 BC. A North-South breed was bred with taurine from the north. By 2.500 BC, the dominant bovine breed of bovine cattle (banteng, gaur, or gayal) arose in southern China. Crossed with banteng (*Bos javanicus*) previously domesticated in Indonesia (Feliuss, et al., 2014).

Humpbacked bull statues from 6.500 BC in northern Iraq and Sumerian vase figures from 4.750 BC are traces of zebu in Mesopotamia. In the Persian Gulf, zebu bulls are depicted with high cervicothoracic humps dated to 5.000–3.000 BC. The transition to an arid climate in Mesopotamia in 2.000 BC encouraged zebu migration. Today, the real humpbacked zebu is the Caucasian zebu in Azerbaijan. It first arrived in East Africa 4.000 years ago. There are humpback cattle in Egyptian paintings of 1.400 BC, and zebu-type cambered vertebrae in remains found in Egypt and Somalia. DNA data indicate that all African zebu and taurindisine cattle are maternal of taurine origin (Baskıcı, 1998; Feliuss, et al., 2014).

It reached northern China and Mongolia in 5.000–4.000 BC. Remains dated 5.000-1.500 BC have been found in Libya, Egypt, and the Sahara. In 5.000 BC, dairy farming was practiced in the then green Sahara. There are rock engravings showing longhorn cattle, the ancestors of West African cattle. Climate change, which deserted the Sahara in 2.000 BC, forced people to migrate. Beginning in 500 BC,

cattle breeding spread south. On the other hand, African cattle migrated to Europe through the straits (Baskıcı, 1998; Felius, et al., 2014).

The earliest traces of domestic cattle in Europe are in Greece, Thessaly, Argissa–Magula (8.500 BC). In 5.900–5.700 BC, it reached the coasts of Corsica, Languedoc, southwestern France, and eastern Spain along the Danube from the Mediterranean coast. 1.000 years later it came to Central Europe and Northern Europe via the Danube. Cattle were milked in southeastern and northern Europe by 7.500 BC and in Great Britain by 6.000 BC. European cattle in the western and northern Balkans probably exerted a founding influence during the Danube migration (Felius, et al., 2014; Zeder, 2008).

Taurine cattle arrived in China about 5.000 years ago. A bovine jaw in northeastern China, dated 8.500 BC, bears the bite marks of captive animals. The high altitude adaptation of the Yak (*Bos grunniens*) in and around Tibet is around 4.500 BC. The habitats of Gayal or Mithun (*Bos frontalis*) and domestic Banteng or Bali cattle (*Bos javanicus*) in Assam and Myanmar overlap with the zebu. Several Asian cattle are of mixed origin, as the three species are crossed with the taurine and zebu breeds. The inability of the existing pastures to feed the herd in winter brought seasonal transhumance. Seasonal migration is still common in various parts of Alpine Europe, Africa, and Asia (Felius, et al., 2014; Zeder, 2008).

In China, Central and Southern Chinese Yellow cattle were developed as work cattle. In the Philippines and Indochina, swamp buffaloes

outnumber cattle. Indochinese cattle were used for work and meat but were not milked. The domesticated form of gaur, gayal or mithun, is found semi-wild in the forests of eastern India, Bhutan, western part of Myanmar and southeastern China's Yunnan province (Felius, et al., 2014; Marsan, et al. 2010).

Findings from 7.000 BC in the Western Egyptian Desert indicate independent African domestication. As in Europe, longhorns preceded short-horned taurines. In East Africa, crossbreeding developed the taurindicine cervicothoracic humped sanga cattle, which expanded southward and reached 250-500 AD. By 1.500 AD, sanga cattle were dominant in East and Central Africa. Zebu migrated west in 700 AD (Felius, et al., 2014; Zeder, 2008).

Great Cattle of the Great Empire

Improved literacy in Roman and Greek civilizations brought the first detailed records of cattle breeding. According to Aristotle, Epirus was famous for its rich pastures and cattle that produced 30 liters of milk per day. Skeletal remains from Epirus show large cattle ranging in height from 115–135 cm at the withers in 7.000–8.000 BC. The ancestors of the great Roman cattle in Italy, these cattle were exported to Southern France and Italy. According to Columella, Cato, Pliny, and Varro cattle developed during the Roman Empire. In agriculture, and since the yoke had not yet been invented, cattle pulled heavy loads that horses could not. Although cattle were not milked in Rome, Columella and Pliny described the milk characteristics of Alpine cows. For the first time, Roman authors described cattle as territorial

based on size, color, and performance (Baskıçı, 1998; Felius, et al., 2014).

Cattle varied greatly in various parts of the Roman Empire. Developed Roman infrastructure facilitated the export of large Italian cattle to distant provinces. Great cattle were lost with the fall of Rome. Small animals survived, better adapted to primitive practices, declining livestock. With the collapse of his empire, the Germanic and Eastern European peoples began to migrate. Roman infrastructure collapsed with cultural decline and unused technology. The presence of cattle from various parts of Europe was mixed with migrations. During the rest of the Middle Ages, attacks, wars, famines, cattle epidemics, and floods greatly reduced the local cattle presence. The importation of animals caused massive gene flow (Baskıçı, 1998; Felius, et al., 2014).

Little Beef Are Coming Back

Small cattle with a shoulder height of 95–105 cm predominated in Europe in the early Middle Ages. Dutch farmers' cattle barns were only 75–84 cm wide. It was 40 cm smaller than the Bronze Age. This is explained by malnutrition or the castration of the largest and strongest young males. The small body was probably adapted to subsistence agriculture for underdeveloped economies. Large animals were more vulnerable to an uncertain feed supply, likely slaughtered before winter (Felius, et al., 2014; Pitt, et al., 2019).

With the use of the heavy plow in the 1.000-1.300s, heavy clay soils were able to be worked and an agricultural revolution began. In 1.000

AD, horses were used more for farming, with the use of riding gear, depending on the region and farming resources. With the increasing importance of grain cultivation, the number of cattle, like other livestock, has decreased. With the agricultural revolution, the human population increased. Agricultural development in Europe experienced two serious setbacks in the 14th century. Millions of people died in the Great Famine of 1315–1317. The population of Northern Europe decreased by 10–25%. This was followed by the Black Death epidemics (1349–1351) that wiped out 1/3 of the population. In some areas, cultivation was abandoned and cattle breeding became widespread. With the Renaissance after the 14th century, the rapid increase in human and animal existence, growing urbanization gave birth to cultural and technological developments in European society. The manor farming of feudal Northwest-European society gave way to the charter system. Pastures were fenced off, animal fodder cultivation expanded, storage methods improved, and larger cattle were now in a winter survivable environment. Local bulls and cattle were differentiated (Felius, et al., 2014).

The Podolian breed of uncertain origin was named after the region in Southern Ukraine where it was found in the Middle Ages. Since there are no remnants of longhorn steppe cattle from before the 12th century, it is assumed to have originated from late medieval local selective breeding of longhorn cattle. Podolian cattle are descended from large cattle that lived in the Italian peninsula during the Roman period, possibly originating from Epirote cattle. Distinguished from other Podolian cattle by its small horns, the giant Chianina retained the

characteristics of earlier Italian cattle. While throughout Western Europe cattle are still kept as part of the mixed farming system, mainly for traction and milk, a very different development took place in Spain. The Reconquista (900–1492) of the Moorish region in Castile and Andalusia led to the development of a thriving and highly organized cattle ranching economy in which large herds of 1.000–15.000 working and fattening cattle were kept under comprehensive management (Feliuss, et al., 2014; Pitt, et al., 2019).

New World and New Life

After the discovery of America, cattle also accompanied human migration to the New World. The first cattle arrived on the Caribbean island of Hispaniola on Columbus' second voyage, leaving Cadiz for Santo Domingo in 1493. Every Spanish ship to America carried five or six young cattle, of which only two or three were expected to survive. The lack of space on the ships allowed only small calves to be taken with the pigs and sheep. In this way, 300 Spanish cattle entered the Americas. In 1524 the first cattle arrived in present-day Colombia, and in 50 years, they had spread to Venezuela, Panama, Peru, Chile, Paraguay, Argentina and Uruguay. The cattle and horses they brought with the Europeans changed the habitats, demographics and habits of the natives. The natives, who had become good riders over time, were largely wiped out by the harsh working conditions, smallpox, and white man's persecution brought on by the Spanish conquistadors. The great migration followed four main routes. The first was from Spain and North Africa to the Caribbean. The second

went from Portugal to Sao Paulo, and the first cattle arrived in Brazil. In these two ways came the ancestors of Latin American Criollo–Creole cattle in the 16th and 17th centuries. The third route connected North America, Northern Europe and, Australia. The fourth route transported the zebu, connecting India and Brazil in the 19th century. Most cattle came from the Canary Islands off the northwest coast of Africa under Spanish ownership since 1479. In 1525, more than 1.000 cattle in the Caribbean colonies spread from there to the Spanish colonies in the Americas. They entered Mexico in 1521. In 1540 the first herd of 500 Spanish cattle crossed the Rio Grande as hoof meat for modern-day Texas and became the ancestor of the Texas Longhorn. In 1524, Spanish cattle arrived in Santa Marta in present-day Colombia. European breeds became common in the Caribbean, Bolivia, Argentina, and Mexico, while cattle came from Iberia or directly from Africa (Ficek, 2019; Felius, et al., 2014; Love, 1916; Marsan, et al., 2010).

The cattle environment in Santo Domingo was so good that they grew to larger sizes than they did in the Old World. With conquests, stray cattle occupied vast, grassy savannas guarded by Taíno hunters, and vast fields where native farmers planted sweet potatoes, peanuts, squash, beans, corn, and peppers. Forests had previously been cleared by human activities. Cattle also receded existing forests by eating young trees growing in abandoned fields and savannas. The cattle unwittingly arranged the environment for Spanish colonization. He turned farmland into the pasture, creating favorable conditions for Old World plants that replaced native species. After the Spanish genocide

in Tainos, a new livestock model developed in colonialism that started in Santo Domingo and spread to other regions. Open flocks around settlements were periodically collected and sold. This gain was used by Spanish colonists to establish sugar plantations and bring slaves from Africa. Cattle plowing fields, carrying sugarcane, and became food. The sale of cattle financed other expeditions of the conqueror farmers across the continent. The descendants of these herds provided raw materials to fields, mines, and military outposts, leading to the occupation of local areas and the colonization of the Americas. It has transformed areas where Europeans do not live into livable and exploitable places (Ficek, 2019; Love, 1916).

Longhorn and larger cattle were seen in southeastern England, but growing towns' demand for beef could not be met. The cattle were supplied to consumer cities by walking. From the late Middle Ages, shepherds began transporting Welsh cattle to London. Danish cattle went in large herds to the Netherlands for fattening. In 1450, the export of dairy products and beef cattle was very important in the Netherlands. Three-purpose cattle for export were developed in the Swiss Alps after the 15th century. It was exported to Italy from the Simme and Saane valleys of Switzerland in the 15th and 16th centuries. Since the 14th century, gray long-horned cattle of the Podolian type have been seen in the Puszta in the Carpathian Basin. Over time, it replaced the local small cattle (Felius, et al., 2014).

CONCLUSION

Although the language and genetic makeup of humans in Europe have not changed since the Middle Ages, cattle movements and evolutionary change continued. The size of cattle has gradually increased since the Middle Ages. With humanity's increasing stability and prosperity, larger animals have been able to survive the winters. However, the high animal density also triggered epidemics. Cattle herds destroyed by the three catastrophic rinderpest epidemics of the 18th century were replenished by the mass imports of Holstein cattle from the Holstein region (Marsan, et al., 2010).

REFERENCES

- Felius, M., Beerling, ML., Buchanan, DS., Theunissen, B., Koolmees, PA., Lenstra, JA., (2014). On the History of Cattle Genetic Resources, *Diversity*, 6, pp. 705-750; doi:10.3390/d6040705
- Vigne, JD., (2011). The origins of animal domestication and husbandry: A major change in the history of humanity and the biosphere, *C. R. Biologies*, 334, pp. 171–181.
- Marsan, PA., Garcia, JF., Lenstra, JA., (2010). On the Origin of Cattle: How Aurochs Became Cattle and Colonized the World, *Evolutionary Anthropology Issues News and Reviews* 19(4) DOI: 10.1002/evan.20267
- Ficek, RE., (2019). Cattle, Capital, Colonization Tracking Creatures of the Anthropocene in and Out of Human Projects, *Current Anthropology*, 60(20), pp. 260-271.
- Arbuckle, BS., Price, MD., Hongo, H., Öksüz, B., (2016). Documenting the initial appearance of domestic cattle in the Easter, Fertile Crescent (northern Iraq and western Iran), *Journal of Archaeological Science*, 72, pp. 1-9.
- Malignea, MB., Escarguelb, G., (2014). A biometric re-evaluation of recent claims for Early Upper Palaeolithic wolf domestication in Eurasia, *Journal of Archaeological Science*, 45, pp. 80-89.
- Wilkins, AS., Wrangham, RW., Fitch, WT., (2014). The “Domestication Syndrome” in Mammals: A Unified Explanation Based on Neural Crest Cell Behavior and Genetics, *Genetics*, 197, pp. 795–808.
- Hewgill, J., (2017). DNA Evidence is Rewriting Domestication Origin Stories Tina Hesman, *Science News*, 191(13), pp. 20.
- Vigne, JD., (2015). Early domestication and farming: what should we know or do for a better understanding?, *Anthropozoologica*, 50(2), pp. 123-150.
- Baskıcı, M. (1998). Evcilleştirme Tarihine Kısa Bir Bakış. *Ankara Üni. SBF Derg.*, 53 (01), DOI: 10.1501/SBFder_0000001944

- Gupta, AK., (2004). Origin of agriculture and domestication of plants and animals linked to early Holocene climate amelioration, *Current Science*, 87(1), pp. 54-59.
- Gross, AS., (2017). Religion and Animals, *Oxford Handbooks Online*, pp. 1-26.
DOI: 10.1093/oxfordhb/9780199935420.013.10
- Zeder, MA., (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact, *PNAS*, 105(33), pp. 11597–11604.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0801317105>
- Pitt D., Sevane N., Nicolazzi EL., MacHugh DE., Park SDE., Colli L, et al. (2019). Domestication of cattle: two or three events? *Evol Appl.*12(1):123–36.
10.1111/eva.12674.
- Love, C.M. (1916). History of the Cattle Industry in the Southwest, *The Southwestern Historical Quarterly*, 19(4), pp. 370-399.

CHAPTER 6

TİROİD BEZİ FONKSİYON BOZUKLUKLARINDA ÇÖREK OTU (NİGELLA SATİVA L.) KULLANIMININ YERİ

Prof. Dr. Gülcan AVCI¹

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, Türkiye. gulcanavci@hotmail.com ORCID ID 0000-0001-8767-4507

GİRİŞ

İnsanlık tarihinin gelişiminden günümüze kadar kullanımı devam eden tıbbi bitkilerin ve bunlardan saflaştırarak elde edilen bileşenlerin yararlı terapötik etkileri bilinmektedir. Tıbbi ilaçların yan etkileri göz önüne alındığında pek çok hastalığın iyileştirilmesinde geleneksel tedavilere alternatif olarak daha doğal, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması nedeniyle bitkisel ürünlerin kullanımına yönelik ilgi günümüzde daha da artmış durumdadır (Salem, 2005). Eskiden beri halk hekimliğinde kullanıldığı bilinen hem tarihsel hem de dini açıdan önemi olan çörek otu ise baş ağrısı, astım, bronşit, soğuk algınlığı, romatizma, iltihabi hastalıklar ve egzema gibi pek çok rahatsızlıkların hafifletilmesinde ya da iyileştirilmesinde destekleyici olarak yer almaktadır. Fenolik maddelerden zengin, doğal aromatik bir bitki olan çörek otu ile ilişkili olarak başlıca antioksidan, antikanserojenik, antibakteriyel, antiinflamatuvar, immunomodulator, antifungal ve hepatoprotektif etkilerini ortaya koyan pek çok araştırma bulunmaktadır (Ahmad ve ark, 2013). Dünya genelinde yaygınlık gösteren tiroid bezi fonksiyon bozuklukları yönüyle ele alındığında ise çörek otu kullanımına ilişkin çalışmaların yetersizliği dikkat çekmekte ve bu durum konu ile ilgili güncel bilgilerin sunulmasını önemli kılmaktadır. Çörek otu tohumları ve bundan elde edilen sabit/uçucu yağlar ile tohumlarından hazırlanan çeşitli ekstralarının, hipotiroidizm ve hipertiroidizmde değişen tiroid hormon metabolizması üzerine etkilerinin güncel çalışmalarla ortaya konduğu bu bölümün, konuya ilişkin genel bir bakış açısı oluşturması amaçlanmaktadır.

1. ÇÖREK OTU

Ranunculacea (Düğünçiçeğigiller) familyasından bir bitki türü olan çörek otu (*Nigella sativa* L.) ülkemizde siyah tohum ya da siyah kimyon olarak da bilinmektedir (Baytop, 1984). Bu bitki Türkiye başta olmak üzere Akdeniz ülkeleri, Güney Avrupa, Hindistan, Pakistan, Ortadoğu ve Uzakdoğu ile Güneybatı Asya ülkelerinde yaygın olarak tarımı yapılan bir bitkidir (Ahmad ve ark, 2013). Bitkinin baharat olarak kullanılan ve kapsül içerisinde bulunan tohumları hava ile temas ettiğinde siyahlaşmakta olup ezildiğinde ise kendine has özel kokusu ve acımsı lezzeti ortaya çıkmaktadır (Salem, 2005; Baytop, 1984). Bu bitkinin *Nigella sativa* (adi çörek otu) türü ülkemizde tarımı ve ticareti yapılan tür olmakla birlikte bitkinin *Nigella damascene* (Şam çörek otu) ve *Nigella arvensis* (yabani çörek otu) türleri de hem baharat şeklinde hem de geleneksel halk hekimliğinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Çörek otu tohumu ve bundan elde edilen yağlar yüzyıllardır soğuk algınlıkları, burun tıkanıklıkları, diş ve baş ağrıları, baş dönmeleri, sarılık, astım, romatizmal ve ateşli hastalıklar ile iştetici olarak, gaz giderme ve sütü artırmada kullanılmaktadır (Ahmad ve ark, 2013, Badary ve ark, 2003, Randhawa ve Al-Ghamdi, 2002, Salem, 2005). Çörek otu tohumlarının biyolojik aktiviteleri ve terapötik etkileri yaygın olarak halen araştırılmakta olup buna göre tohumların antifungal (Ahmad ve ark, 2003), antitumoral (Badary, 1999), antibakteriyel (Ferdous ve ark, 1992) antioksidan (Burits ve Bucar, 2000), antiinflamatuvar (Al-Ghamdi, 2001), antikanserojenik (Ahmad ve ark, 2003) ve hipoglisemik (Al-Hader ve ark.,1993) gibi pek çok

etkileri olduğu ortaya konmaktadır. Bahsedilen bu etkilerinin pek çoğunun tohumun yapısında bulunan biyoaktif fenolik maddelerden özellikle timokinondan (TQ) kaynaklandığı bildirilmektedir.

1.1. Çörek Otu Tohumunun Kimyasal İçeriği

Genel olarak çörek otu tohumunun içeriğinde uçucu yağlar (% 0.4-0.45), sabit yağlar (% 32-40), proteinler (% 16-19.9) ve karbonhidratların (% 33.9) yanısıra amino asitler, alkaloidler, tanenler, saponinler, lifler, askorbik asit, tiamin ve minerallerin bulunduğu bilinmektedir (Al-Saleh ve ark, 2006). Tohumunda glikoz, ksiloz, ramnoz, arabinoz gibi monosakkaritlerin yanında fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil serin ve fosfatidil inositol gibi önemli fosfolipidler de yer almaktadır (Omar ve ark, 1999). Kalsiyum, demir ve potasyum kaynağı da olan tohumlarında ayrıca vitamin A'ya dönüşebilen karoten bulunmaktadır (Al-Jassir, 1992). NS yağında başlıca TQ, ditimokinon, timohidrokinon ve timol aktif maddeleri yer alırken (Salem, 2005) uçucu yağında ise diğer bileşenlerden timol, karvakrol, nigellimin-N-oksit, nigellisin, nigellidin ve α -hederin bulunmaktadır (Randhawa ve Al-Ghamdi, 2011). Yapılan çalışmalarda uçucu yağında bulunan başlıca biyoaktif bileşenleri Avcı ve ark (2021) TQ'u % 43.74 ve o-simeni % 29.06 oranında, Kıralan (2014) TQ'u % 44.77 ve p-simeni % 28.62 ve Erdogan ve ark. (2020) ise TQ'u % 45.78 ve p-simeni % 29.45 oranında bildirmektedir. Çörek otu yağında doymamış yağ asitlerinden linoleik asit (% 50-60), oleik asit (% 20), eikodadienoik asit (% 3) ve dihomolinoleik (% 10) asitten bulunurken % 30 düzeyinde palmitik ve stearik asit

bulunmaktadır. α -sitosterol ise bitkinin başlıca sterolü olup Tunus varietesinde % 44 ve İran varietesinde % 54 oranında bildirilmektedir. (Bourgou ve ark, 2008, Cheikh-Rouhou ve ark, 2008). Çörek otu tohumunun içeriğindeki fenolik madde düzeyleri, bitkinin türüne göre değişebildiği gibi tarımsal uygulamaların farklılığı, gün ışığı, yetiştiği coğrafi koşullar ve iklim şartları ile hasat zamanı ve depolama koşulları nedeniyle de değişebilmektedir (Heimler ve ark, 2007).

2. TİROİD BEZİ ANORMALLİKLERİ

2.1. Tiroid Hormonlarına Genel Bakış

Tiroid bezi boynun ön kısmında yer alan sağ ve sol iki lobu bağlayan istmustan oluşmakta olup ağırlığı insanlarda 20-25g iken ratlarda 14-25mg arasındadır (Noyan, 2011, Remington ve ark,1937). Tiroid bezi hormonları ilk olarak tiroid stimule edici hormonun (TSH) uyarması sonucu aktif transport ile dolaşımdan alınan iyodun tiroglobulin yapısındaki tirozin moleküllerine bağlanması ile monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DIT) olarak sentezlenmektedir. Sonra 2 molekül DIT'ın oksidatif olarak birleşmesi ile tetraiyyodotironin (tiroksin, T_4), birer molekül MIT ve DIT'ın birleşmesiyle ise aktif form olan triyyodotironin (T_3) sentezlenmiş olmaktadır (Noyan, 2011). Folliküllerin kolloid yapısı içinde tiroglobuline bağlı olarak bulunan bu hormonlar tiroid hücresine geçerek lizozomal proteinazlarca tiroglobulinden ayrılmakta ve dolaşıma % 20 T_3 ve % 80 T_4 şeklinde salıverilmektedir. Dolaşımdaki T_3 'ün % 0.3 ve T_4 'ün % 0.03'ü serbest halde bulunurken geri kalan kısmının ise %70'i tiroksin bağlayıcı proteine (TBG), diğer kısmı ise transtiretin (tiroksin

bağlayıcı prealbumin, TBPA) ve albumine bağlı halde bulunmaktadır (Rasmussen ve Rasmussen, 2007). Tiroid hormonları memelilerde respiratorik, reproduktif, kardiovasküler, nöral, gastrointestinal sistemler gibi pek çok metabolik fonksiyonları etkilemesinin yanında özellikle hayvanlarda süt verimi, kıl ve yapağı gibi verim özelliklerini de direk yada indirek etkileyen hormonlardır (Brent, 2012, Todini, 2007).

2.2. Hipotiroidizm

Tiroid hormon azlığı olarak bilinen hipotiroidizm; bezden kaynaklı (primer), hipofizden kaynaklı (sekonder), hipotalamustan kaynaklı (tersiyer) ve peripheral kaynaklı olmak üzere tiroid hormonlarının yetersizliği ile karakterizedir. Bu hormon yetersizliği bebek ve çocuklarda kretenizm, yetişkinlerde ise miksödem olarak bilinmektedir (Noyan, 2011). En yaygın olarak karşılaşılan hipotiroidizm tipleri iyot alımı yetersizliğine bağlı olarak gelişen hipotiroidizm ve otoimmün kökenli Hashimoto tiroiditidir. Haşimato tiroiditi, tiroit bezinin otoimmün bir hastalığı olup vücudun savunma mekanizmalarının tiroit dokusunu bir yabancı olarak tanınması ve buna karşı artan anti-TPO ve anti-tiroglobulin antikoru üretimi ile ortaya çıkmaktadır. Başlangıçta kanda anti-TPO antikor yüksekliğine rağmen TSH, T₃ ve T₄ hormonları normal iken, hastalık ilerledikçe tiroid yetmezliği (sadece yüksek TSH, normal T₃ ve T₄ düzeyi) ve daha sonrasında tam tiroid yetmezliği (yüksek TSH, düşük T₃ ve T₄ düzeyi) gelişmektedir (Mounika ve ark, 2013). Hipotiroidizmin en ılımlısı olan subklinik hipotiroidizmde ise serbest T₄ normal değerlerde

bulunurken TSH referans değerlerin üzerinde seyretmektedir. Genel olarak hipotiroidizm; yorgunluk, bitkinlik, kilo artışı, konsantrasyon zorluğu, depresyon, infertilite, bradikardi, konstipasyon ve saç, tırnak ve deride kuruluk gibi yaygın belirtiler göstermektedir (Shokri ve ark, 2018).

2.3. Hipertiroidizm

Tiroid bezinin hiperfonksiyonu ile dolaşımdaki tiroid hormonları düzeylerinin artışı olarak bilinen hipertiroidizmde bez normalin 1-3 katı büyümekte ve folikülleri çevreleyen hücrelerin sayısı da artmaktadır. Ülkemizde en sık rastlanan hipertiroidi nedenlerinden biri olan Graves hastalığı, otoimmün bir hastalık olup otoantikolar tiroid hücrelerindeki TSH reseptörlerine bağlanarak tiroid hormon sentezini uyarmakta ve salınımını artırmaktadır. Bu antikollara Tiroid Reseptör Antikolları (TRAb) denir (Shokri ve ark, 2018). Otoantikolların oluşmasında diğer bir mekanizma, baskılayıcı T lenfosit hücrelerinin (psikolojik travmalar, kaza, ölüm vb. nedenlerle) yetersiz kaldığı ve bunun yerine B lenfosit hücrelerinde antikor sentezinin başladığına dayandırılmaktadır. Ancak hipertiroidide otoantikor yapımını uyarıcı nedenler henüz tam olarak ortaya konulmuş değildir (Mounika ve ark, 2013). Hipertiroidizmin en ılımlı tipi olan subklinik hipertiroidizmde ise serbest T₄ normal değerlerde iken TSH referans değerlerin altında seyretmektedir (Shokri ve ark, 2018). Genellikle hipertiroidizmde yorgunluk, sinirlilik, kilo kaybı, sıcak intoleransı, taşikardi, anemi, osteoporoz ve uykusuzluk gibi belirtiler tipiktir (Shokri ve ark, 2018).

3) ÇÖREK OTUNUN HİPOTİROİDİ VE HİPERTİROİDİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Dünya genelinde yaygın olarak görülen endokrin hastalıklarının başında tiroid bezi hastalıkları gelmektedir. Bu hastalıklar genellikle yaşam boyu tedavi gerektiren, sıklıkla tekrarlayan ve tedavide kullanılan ilaçları takiben istenmeyen yan etkilerin görüldüğü hastalıklardır (Taibi ve ark, 2021). Bu nedenle hastaların çoğunlukla tedavinin yanısıra alternatif ya da tamamlayıcı tıbbi çare arayışına girdikleri görülmektedir. Bu bağlamda günümüzde bitkisel tedaviler ya da arayışlarda özellikle yan etkilerinin az olması, ucuz ve kolay ulaşılabilir olması, güvenli ve etkili olduğuna inanılması nedeniyle tercih edilmekte olup bu durum tiroid bezi hastalıklarında da tıbbi bitkilerin kullanımını popüler hale getirmektedir (Bharthi ve ark, 2017). Özellikle Çin tıbbında tek başına ya da ilaçlar ile kombine edilerek kullanılan tıbbi bitkilerin tiroid bezi fonksiyonlarını düzelttiği, tekrarlama sıklığını azalttığı ve ilaçlarla karşılaştırıldığında bitkinin ilaçla kombinasyonlarının özellikle ilacın yan etkilerini giderdiği bildirilmektedir (Zen ve ark, 2007). Bu bakımdan geleneksel olarak uzun yıllardır kullanılan tıbbi bitkilere dayanan etnofarmakolojik çalışmalar, tiroid bozukluklarında hormon replasmanının yerini tutacak olan doğal hormon analoglarının belirlenmesi için ve bu konuda alternatif tedavi stratejilerin oluşturulması için oldukça değerli görünmektedir (Taibi ve ark, 2021). Bu etnofarmakolojik çalışmalar incelendiğinde diyabet, astım, bronşit, öksürük, hipertansiyon, egzama, ateş ve inflamasyon gibi pek çok

hastalığın tedavisinde geleneksel olarak kullanılan çörek otunun *Nigella sativa* L. (NS) türü, özellikle hipotiroidizmde kullanılan pek çok tıbbi bitki arasında en çok bahse konu olanıdır (Taibi ve ark, 2021).

Otoimmün bozukluklar arasında en yaygın olduğu bilinen Hashimoto tiroidit, tiroid bezini etkileyen organa spesifik T-hücre aracılı bir bozukluktur. Bu bozukluk serumdaki anti-tiroid peroksidaz (anti-TPO) ve anti-tiroglobulin (TG-Ab) antikorlarının tiroid hücrelerine hasar vermesi ile karakterize olup tedavi edilmediği takdirde tiroid kanserlerine yol açabilmektedir. Bu hastalık hastaların önemli bir kısmında asemptomatik kronik tiroidit şeklinde seyrederken kadınların % 8'inde ve erkeklerin % 3'ünde ise subklinik hipotiroidizm şeklinde seyretmektedir. Fahrangi ve ark, (2016) 22-50 yaş aralığındaki hipotiroidizm ile seyreden Hashimoto tiroditli 40 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, 8 hafta boyunca 2g/gün NS verilmesinin TSH, anti-TPO antikorunu ve serum vasküler endothelial büyüme faktörünü (VEGF) azaltırken, serum T₃ düzeyini artırdığını bildirmektedir. VEGF, anjiogenik ve vasküler permabilite artışı sağlayan bir faktör olup tiroid epitel hücrelerinin gelişimi ve fonksiyonlarının düzenlenmesini desteklemektedir. Özellikle Hashimoto tiroditinde artan TSH, tiroid kanser hücrelerinden VEGF salınımını uyarmaktadır. NS kullanımının ise bu hastalarda VEGF düzeyini düşürmesi, hastalığın şiddetinin azaltılmasında NS'nin etkin olduğunu gösterirken bu etkinin anti-anjiogenik özellikleri olduğu bildirilen TQ'dan kaynaklandığı vurgulanmaktadır (Fahrangi ve ark, 2016). NS kullanımının bu hastalarda görülen serum lipid düzeylerini, oksidatif

stresi ve endothelial bozuklukları düzeltici etkileri olduğu bu nedenle Hashimato hastalığı ile ilişkili anormalliklerde tedaviyi destekleyici olarak düşünöbileceği belirtilmektedir (Fahrangi ve Tajmiri, 2020). Benzer şekilde yapılan bir çalışmada ise Hashimato tiroditinde NS kullanımının (1.7mg/kg CA/gün) TSH, anti-TPO, transforming büyüme faktörü (TGF)- β ve IL-23 düzeylerini azalttığı da belirtilmektedir (Tajmiri ve ark, 2016).

NS'nin bu etkilerinin deney hayvanları üzerinde araştırılması da önem arz etmektedir. Buna göre deney hayvanlarında hipotiroidi oluşturulmasında kullanılan 6-propil 2-tiyourasil (PTU) anti-tiroidal etkisini, monoiyodotirozinin iyonizasyonu (tirozine iyodun bağlanmasını) ve iyodun oksidasyonunu (I^- 'un I_2 'ye dönüşümünü sağlayan tirozin peroksidazı inhibe ederek) inhibe ederek, ayrıca T_4 'ün T_3 'e periferik dönüşümünü (tip-I deiyodinazı inhibe ederek) engelleyerek göstermektedir (Fumarola ve ark, 2010). Avcı ve ark (2021b) PTU ile deneysel hipotiroidizm oluşturulan ratlara NS esansiyel yağı (200 mg/kg CA/gün) verilmesinin hipotiroidizmde düşmüş olan total T_3 düzeyini artırdığını bildirmektedir. Bu etkinin esansiyel yağda tespit edilen TQ (% 43.7) ve o-cymenden (% 29) kaynaklanmış olabileceği vurgulanmaktadır. NS'nin düşük sevide olan T_3 miktarını normal düzeye çıkarması, muhtemelen uçucu yağdaki antioksidan özellikteki bahsi geçen fenolik bileşenlerin tiroid bezinin onarımını sağlaması ile böylece tiroid hormonunun tekrar sentezlenmeye başlaması şeklinde açıklanabileceği belirtilmektedir. Konuya ilişkin olarak deneysel hipotiroidizmin indüklediği paratiroid bezinde meydana gelen patolojik değişimlere karşı NS yağı

verilmesinin tedavi edici etki gösterdiğinin bildirilmesi (Nasr El-Din, 2020) de bunu destekler niteliktedir.

Bunun yanısıra Khalawi ve ark (2013) hipotiroidili ratlarda yaptıkları çalışmada NS (400 mg/kg) uygulamasının serum T₃ ve T₄ düzeyini artırırken, TSH düzeyini düşürdüğünü, tiroid paraşiminde oluşan hiperplazik değişimleri ise tersine çevirdiğini bildirmektedir. Yapılan diğer bir çalışmada ise Mohebbati ve ark (2017) deneysel hipotiroidili ratlarda PTU grubunda serum T₄ düzeyinin azaldığını ve NS (100, 200, 400 mg/kg) uygulanan tüm gruplarda ise arttığını ve doza bağlı olarak en yüksek artışın 400 mg/kg NS grubunda olduğunu bildirmektedir. NS'nin biyoaktif bir bileşeni olan TQ ile yapılan bir çalışmada ise Bacak Güllü ve Avcı (2013), sağlıklı ratlara sadece TQ (50 mg/kg/gün) verilmesinin total T₄ düzeyini düşürdüğü, total T₃, serbest T₃ ve T₄'deki düşüşün ise önemsiz olduğunu bildirmektedir. Aynı çalışmada, TQ grubunda gözlenen tiroid hormonlarındaki azalmanın aynı gruptaki leptin düşüşüne eşlik ettiği ve tiroidlerdeki bu azalmanın düşük leptin düzeyinin hipotalamustaki paraventriküler çekirdekte tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) ekspresyonunu inhibe ettiği (Zimmermann-Belsing ve ark, 2003) belirtilmektedir.

Tüm bu benzer çalışmalar değerlendirildiğinde NS ve NS esansiyel yağında baskın olarak bulunan fenolik bileşenlerden TQ'nun dikkat çekici olduğu görülmekte olup NS dışında içeriğinde TQ bulduran *Thymus vulgaris* L. ve *Origanum* türlerinin de hipotiroidizmin tedavisi için tavsiye edilmesi de TQ'nun bu etkisini destekler görünmektedir (Taibi ve ark, 2021). Ayuob ve ark (2020) yaptıkları

çalışmada ratlarda PTU ile oluşturulan hipotiroidizmde TQ (50mg/kg/gün) verilmesinin TSH'yı azalttığını, T₃ ve T₄'ü artırdığını bunun yanısıra NO_x ve GSH'yı artırırken MDA'yı azalttığını göstermektedir. Aynı çalışmada TQ'nun antioksidan bir enzim olan katalazın gen ekspresyonunu indüklediği ve hipotiroidizmin neden olduğu glomerular tubuler hasarı durdurduğu belirtilmektedir. Nitekim tiroid hormonları antioksidan enzim düzeyleri ile bunların sentezinin düzenlenmesi ve oksidatif metabolizma ile yakından ilişkilidir (Messarah ve ark, 2010). Bu yönü ile ele alındığında NS'de bulunan bileşenlerin antioksidan özellikleri nedeniyle tiroid bezinin onarımına destek olarak tiroid bozukluklarında fayda sağlayacağı kanaatine varılmaktadır.

Tiroid hormonları organizmada oksijen tüketimini, mitokondriyal solunumu ve solunum zinciri komponentlerinin aktivitesini etkileyerek bazal metabolik hızı artırmaktadır. Bu durumun sonucu olarak mitokondriyal elektron transport zincirinde açığa çıkan süperoksit radikalleri ve hidroksil radikallerini de bulunduran pek çok reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açmaktadır (Venditti ve ark, 1997; Konukoğlu, 2000). Nitekim açığa çıkan ROS'ların oksidatif strese neden olarak lipid peroksidasyonuna yol açtığı ve bu durumun nörodejeneratif bozukluklar, kalp damar hastalıkları ve kanser gibi bir çok hastalığın patogeneze katıldığı ileri sürülmektedir (Bianchi ve ark, 1999; Konukoğlu, 2000; Venditti ve ark, 1997). Oksidan-antioksidan denge açısından değerlendirildiğinde araştırmalar hipotiroidizmde bazal metabolizmanın yavaşlamasına bağlı olarak lipid peroksidasyonunun düştüğünü ve serbest radikal

oluşumunun azaldığını rapor etmekle birlikte (Araujo ve ark, 2011, Harper ve Seifert, 2008) bu görüşe ilişkin veriler tartışmalı bulunmaktadır (Santi ve ark., 2012; Torun ve ark., 2009). Buna göre Kandır (2015) hipotiroidizmde plazma MDA artarken NOx düzeylerinin kontrol grubuna göre değişmediğini bildirmektedir. Avcı ve ark (2021b) ise hipotiroidizmde MDA ve NOx düzeylerinin arttığını NS esansiyel yağı verilmesinin ise artan NOx düzeyini düşürdüğünü bildirmektedir. Aynı çalışmada hipotiroidizmde total antioksidan kapasite (TAK) ve SOD düşerken, NS uçucu yağı verilmesinin ise bu parametreleri önemsiz düzeyde artırdığı belirtilmekte olup bu etkisi esansiyel yağda bulunan TQ ve simenin antioksidan özelliğine bağlanmaktadır. Nitekim Avcı ve ark (2021a) çörek otu tohumu esansiyel yağının in vitro koşullarda antioksidan aktivitesini değerlendirdikleri çalışmada, DPPH radikali giderme aktivitesi (%25.10), linoleik asit sisteminde ferrik tiyosiyanat metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi (%23), Fe⁺² iyonlarını şelatlama aktivitesi (%52.33), süperoksit radikali giderme aktivitesi (%20.63) ve indirgeme kapasitesi (0.66) belirlenmiş olup bu antioksidan etkilerinin esansiyel yağda bulunan fenolikler bileşenlerden kaynaklandığını bildirmesi de bu sonucu desteklemektedir. Mekkawy ve ark (2020) monosodyum glutamata maruz kalan farelere gerek tek başına NS yağı gerekse NS yağı ile birlikte Vitamin C uygulanmasını inceledikleri çalışmada, tek başına NS yağının beyin ve tiroid dokularında GSH düzeyini artırdığını, beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu azalttığını belirtirken NS yağı ile vitamin C kombinasyonunun ise bahsi geçen dokuların histolojik yapılarını

koruduğu, tiroid hormonları ve antioksidan parametreler açısından iyileşme sağladığını bildirmektedir. Bu etkinin yağda çözünen antioksidanları içeren NS yağının ve suda çözünen Vitamin C'nin birbirinden bağımsız bir şekilde gösterdikleri antioksidan etkilerinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Bilindiğı üzere bitkilerdeki antioksidan bileşenler ROS'ların uyardığı oksidatif strese karşı hücrel yapıları koruyan hayati yapılardır. Yapılan klinik ve deneysel çalışmalar diğeri bir tiroid bezi bozukluğu olan hipertiroidizmde meydana gelen hipermetabolik hız ve kalorigenezis sonucu olarak hücrel solunumun ve ROS üretiminin arttığını göstermektedir (Shokri ve ark, 2018). Bu durum organizmadaki oksidan-antioksidan dengenin bozulmasına, lipid peroksidasyonuna (Guerrero ve ark,1999) ve DNA hasarlarına yol açmaktadır (Lopez-Torres ve ark, 2000). Hipertiroidizm açısından bakıldığında, Lamiaceae familyasına ait ve rosmarinik asit içeren *Rosmarinus officinalis* L., *Lycopus europaeus* L. ve *Melissa officinalis* L. gibi bazı bitki türlerinin anti-hipertiroid etkileri (Taibi ve ark 2021, Shokri ve ark, 2018) bildirilmekle birlikte NS'nin hipertiroidizmdeki etkilerine yönelik çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Buna göre Avcı ve ark (2021b) deneysel olarak hipertiroidizm oluşturulan ratlarda NS esansiyel yağı verilmesinin hipertiroidizmde artan total T₃ düzeyini düşürdüğünü ve TAK'ı artırdığını bildirmekte olup NS esansiyel yağının hem hiper hem de hipotiroidizmde değışim gösteren özellikle total T₃ düzeylerine olumlu etkilerinin bulunduğunu belirtmektedir. NS esansiyel yağında

bulunan polifenolik bileşikler ve flavanoidlerin in vitro koşullarda belirlenen serbest radikal süpürücü etkileri ile antioksidan sisteme olumlu etkileri bulunmaktadır (Avcı ve ark, 2021a). Nitekim yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda NS tohum ekstraktının, akrep ve yılan zehirindeki hemolitik etkiyi inhibe ettiği (Sallal ve ark, 1996), lipid peroksidasyonuna ve protein degradasyonuna karşı eritrositleri koruduğu (Suboh ve ark, 2004), bileşenlerinden TQ'nun doza ve zamana bağlı olarak nitrit üretimini baskıladığı (El-Mahmoudy ve ark, 2002) gösterilmekte olup bu etkileri tohumlardaki antioksidan bileşenlere atfedilmektedir. Nitekim Vatansev ve ark (2013) yaptıkları çalışmada NS tohumlarının yapısında antioksidan vitaminlerden 10.19 µg/g α-tokoferol, 2.28 µg/g for δ- tokoferol, 0.18 µg/g retinol, 1.38 µg/g vitamin D₂, 1.85 µg/g vitamin K₁ ve 2.15 µg/g vitamin K₂ tespit edildiğini bildirmekte olup tohumların fenolik bileşenler dışında bu vitaminleri içermesi de bahsedilen antioksidan etkilerini artırmaktadır. Buna göre antioksidan olan vitamin A'nın T₄'ün T₃'e dönüşümünü artırdığı, vitamin E'nin ise artan ROS'ların inhibisyonunu sağlayıp immun sistem kapasitesini desteklediği (Shokri ve ark, 2018) göz önüne alındığında bu vitaminleri içeren NS tohumlarının tiroid hormon bozukluklarında fayda sağlayacağı açıkça görülmektedir

SONUÇ

Tüm bu güncel çalışmalar değerlendirildiğinde, çörek otu tohumları ve bunlardan elde edilen gerek sabit veya uçucu yağların gerekse çeşitli çözücülerdeki ekstralarının, tiroid metabolizması anormalliklerinde iyileştirici etkilerinin bulunduğu ve tedaviye destek sağlayacağı kanaati oluşmakla birlikte, NS'nin tiroid bezi üzerindeki spesifik hücresel ve moleküler etkilerinin yanısıra aynı zamanda içeriğindeki fenolik bileşenlerin hedef mekanizmalarının ortaya konabilmesi için hem hipotiroidizm açısından hem de hipertiroidizm açısından daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu ortaya konulmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A., Anwar, F. (2013). A Review on Therapeutic Potential of *Nigella Sativa*: A Miracle Herb. *Asian Pac J Trop Biomed*, Vol. 3, No. 5, pp 337-352.
- Al-Ghamdi, M. S. (2001). The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 76, pp 45-48.
- Al-Hader, A., Aqel, M., Hasan, Z. (1993). Hypoglycemic effects of the volatile oil of *Nigella sativa*. *Int J Pharmacogn*, Vol. 31, pp 96-100.
- Al-Jassir, M. S. (1992). Chemical Composition and Microflora of Black Cumin (*Nigella Sativa* L.) Seeds Growing in Saudi Arabia. *Food Chem*, Vol. 45, pp 239-242.
- Al-Saleh, I. A., Billedo, G., El-Doush, I. I. (2006). Level of Selenium, Tocopherol, Thymoquinone And Thymol Of *Nigella Sativa* Seed. *J Food Compos Anal*, Vol. 19, pp 167-175.
- Araujo, A. S., Seibel, F. E., Oliveira, U. O., Fernandes, T., Llesuy, S., Kucharski, L., Belló-Klein, A. (2011). Thyroid Hormone-Induced Haemoglobin Changes and Antioxidant Enzymes Response In Erythrocytes. *Cell Biochemistry and Function*, Vol. 29, No. 5, pp 408-413.
- Avcı, G., Denk, B., Bülbül, A. (2021a). Çörek Otu Tohumu Esansiyel Yağının Antioksidan Etkinliğinin In Vitro Yöntemlerle Araştırılması. *Eurasian Journal of Health Sciences*, Vol. 4, No. 3, pp 154-161.
- Avcı, G., Ulutas, E., Ozdemir, V., Kivrak, I., Bulbul, A. (2021b). The Positive Effect of Black Seed (*Nigella Sativa* L.) Essential Oil on Thyroid Hormones In Rats With Hypothyroidism and Hyperthyroidism. *J Food Biochem*, (Jun, 2021), pp 1-9.
- Ayuob, N., Balgoon, M. J., El-Mansy, A. A., Mubarak, W.A., El-Din L. Firgany, A. (2020). Thymoquinone Upregulates Catalase Gene Expression and Preserves the Structure of the Renal Cortex of Propylthiouracil Induced Hypothyroid Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Vol. 4, (July, 2020) pp 1-15.

- Bacak Güllü, E., Avcı, G. (2013). Effects of Thymoquinone on Plasma Leptin, Insulin, Thyroid Hormones and Lipid Profile in Rats Fed a Fatty Diet. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, Vol.19, No. 6, pp 1011-1016.
- Badary, O. A, Taha, R. A., Gamal, El-Din A. M., Abdel-Wahab, M. H. (2003). Thymoquinone is a potent superoxide anion scavenger. *Drug Chem Toxicol*, Vol. 26, No. 2, pp 87-98.
- Badary, O. A. (1999). Thymoquinone attenuates ifosfamide-induced Fanconi syndrome in rats and enhances its antitumor activity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 67, pp 135-142.
- Baytop, T. (1984). Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü. Yayınları No:3255.
- Bharthi, V., Kavya, N. P., Shubhashree, M. N., Bhat, S. (2017). Herbal Approach To Management Of Thyroid Disease-A Review. *J. Ayurvedic Herb. Med.* Vol. 3, No. 1, pp 48-52.
- Bianchi, G., Solaroli, E., Zaccheroni, V., Grossi, G., Bargossi, A. M., Melchionda, N, Marchesini, G. (1999). Oxidative Stress And Antioxidant Metabolites In Patients With Hyperthyroidism: Effect Of Treatment. *Horm Metab Res*, Vol. 31, pp 620-624.
- Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., Marzouk, B. (2008). Phenolic Composition And Biological Activities Of Tunisian *Nigella Sativa* L. Shoots And Roots. *C R Biol*, Vol. 331, No. 1, pp 48-55.
- Brent, G. A. (2012). Mechanisms Of Thyroid Hormone Action. *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 122, No. 9, pp 3035-3043.
- Burits, M., Bucar F. (2000). Antioxidant Activity of *Nigella Sativa* Essential Oil. *Phytother Res*, Vol. 14, pp 323-328.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Lognay, G., Blecker, C., Deroanne, C., Attia, H. (2008). Sterol Composition Of Black Cumin (*Nigella Sativa* L.) And Aleppo Pine (*Pinus Halpensis* Mill.) Seed Oils. *J Food Comp Anal*, Vol.21, No. 2, pp 162-168.
- El-Mahmoudy, A., Matsuyama, H., Borgan, M.A., Shimizu, Y., ElSayed, M.G., Minamoto, N., Takewaki, T. (2002). Thymoquinone Suppresses Expression

- Of Inducible Nitric Oxide Synthase In Rat Macrophages. *Int Immunopharmacol*, Vol. 2, pp 1603-1611.
- Erdogan, U., Yilmazer, M., Erbaş, S. (2020). Hydrodistillation of *Nigella Sativa* Seed And Analysis Of Thymoquinone With HPLC And GC-MS. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, Vol. 4, No. 1, pp 27-30.
- Fahrangi, M. A., Dehghan, P., Tajmiri, S., Abbasi, M. M. (2016). The Effects Of *Nigella Sativa* On Thyroid Function, Serum Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) -1, Nesfatin-1 And Anthropometric Features In Patients With Hashimoto's Thyroiditis: A Randomized Controlled Trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.16, No. 471, pp 2-9.
- Fahrangi, M. A., Tajmiri, S. (2020). The Effects Of Powdered Black Cumin Seeds On Markers Of Oxidative Stress, Intracellular Adhesion Molecule (ICAM)-1 And Vascular Cell Adhesion Molecule (VCAM)-1 In Patients With Hashimoto's Thyroiditis. *Clin Nutr Espen*, Vol. 37, (Jun, 2020), pp 207-212.
- Ferdous, A. J., Islam, S. N., Ashan, M., Hasan, C. M., Ahmed, Z. U. (1992). In Vitro Antibacterial Activity Of The Volatile Oil Of *Nigella Sativa* Seeds Against Multiple Drug Resistant Isolates Of *Shigella*, *V. Cholerae* And *E. Coli*. *Phytother Res*, Vol. 6, pp 137-140.
- Fumarola, A., Di Fiore, A., Dainelli, M., Grani, G., Calvanese, A. (2010). Medical Treatment Of Hyperthyroidism: State Of The Art. *Exp Clin Endocrinol*, Vol. 118, pp 678.
- Guerrero, A., Pamplona, R., Portero-Otin, M., Barja, G., Lopez-Torres, M. (1999). Effect Of Thyroid Status On Lipid Composition And Peroxidation In The Mouse Liver. *Free Radic Biol Med*, Vol. 26, No. 1-2, pp 73-80.
- Harper, M. E., Seifert, E. L. (2008). Thyroid Hormone Effects On Mitochondrial Energetics. *Thyroid*, Vol. 18, No. 2, pp 145-156.
- Heimler, D., Isolani, L., Vignolini, P., Tombelli, S., Romani, A. (2007). Polyphenol Content And Antioxidative Activity In Some Species Of Freshly Consumed Salads. *J Agric Food Chem*, Vol. 55, No. 5, pp 1724-1729.

- Kandır, S. (2015). Ratlarda Deneysel Hipotiroidizm ve Hipertiroidizmin Kan Plazmasında Bazı Serbest Radikal ve Antioksidan Sistem Parametreleri Üzerine Etkileri. Konya Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 2015. Erişim adresi: <http://acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080/xmlui/handle/123456789/13062?s-how=full> Erişim tarihi: 06.08.2021
- Khalawi, A. A., Al-Robai, A. A., Khoja, S. M., Shaker, A. S. (2013). Can Nigella Sativa Oil (NSO) Reverse Hypothyroid Status Induced By PTU In Rat? Biochemical And Histological Studies. Life Science Journal, Vol. 10, No. 2, pp 1-5.
- Kıralan, M. (2014). Changes In Volatile Compounds Of Black Cumin (Nigella Sativa L.) Seed Oil During Thermal Oxidation. International Journal of Food Properties, Vol. 17, pp 1482-1489.
- Konukoğlu, D. (2000). Hiper- ve hipotiroidizmde oksidatif stres. Endokrinolojide Yönelişler, Vol. 9, No. 4, pp 156-159.
- Lopez-Torres, M., Romero, M., Barja, G. (2000). Effect of thyroid hormones on mitochondrial oxygen free radical production and DNA oxidative damage in the rat heart. Mol Cell Endocrinol, Vol.168, No. 1-2, pp 127-34.
- Mekkawy, A. M., Ahmed, Y. H., Khalaf, A. A. A., El-Sakhawy, M. A. (2020). Ameliorative Effect Of Nigella Sativa Oil And Vitamin C On The Thyroid Gland And Cerebellum Of Adult Male Albino Rats Exposed To Monosodium Glutamate (Histological, Immunohistochemical And Biochemical Studies, Vol. 66, (Oct, 2020), pp 1-14.
- Messarah, M. A., Boumendjel, A. Chouabia, A., Klibet, F., Abdennour, C., Boulakoud, M. S., El Feki, A. (2010). Influence Of Thyroid Dysfunction On Liver Lipid Peroxidation And Antioxidant Status In Experimental Rats, Experimental and Toxicologic Pathology, Vol. 62, No. 3, pp 301-310.
- Mohebbati, R., Hosseini, M., Haghshenas, M., Nazariborun, A., Beheshti, F. (2017). The Effects Of Nigella Sativa Extract On Renal Tissue Oxidative Damage

- During Neonatal And Juvenile Growth In Propylthiouracil-Induced Hypothyroid Rats. *Endocrine Regulations*, Vol. 51, No. 2, pp 105-113.
- Mounika, B., Brahmaiah, B., Ramesh, M., Bhavaneswari, K., Anantha Lakshmi T., Sreekanth Nama. (2013). Review On Thyroid Disorders. *IJPRBS*, Vol. 2, No. 3, pp 197-214.
- Nasr El-Din, W. A., Fattah, I. O. A. (2020). Histopathological and biochemical alterations of the parotid gland induced by experimental hypothyroidism in adult male rats and the possible therapeutic effect of *Nigella sativa* oil. *Tissue and Cell*, Vol. 65, pp 2-14.
- Noyan, A. (2011). Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji, Ankara, Palme Yayınları, pp. 1019-1033.
- Omar, A., Ghosheh, S., Abdulghani, A., Houdi, A., Crookscor, P. A. (1999). High Performance Liquid Chromatographic Analysis Of The Pharmacologically Active Quinones And Related Compounds In The Oil Of The Black Seed (*Nigella Sativa* L). *J Pharm Biomed Anal*, Vol. 19, pp 757-762.
- Randhawa, M. A., Al-Ghamdi, M. S. (2002). A review of the pharmaco-therapeutic effectes of *Nigella sativa*. *Pakistan J Med Res*, Vol. 41, No. 2, pp 77-83.
- Rasmussen, U. F, Rasmussen, A. K. (2007). Thyroid Hormone Transport and Actions. In: *Diseases of the Thyroid in Childhood and Adolescence*. Eds: Krassas GE, Rivkees SA, Kiess We. Basel: Karger, pp. 80-103.
- Remington, R. E, Remington, J. W., Welch, S. S. (1937). The Thyroid Gland Of The Normal Rat: Size, Dry Matter And Iodine Content. *The Anatomical Record*, Vol. 67, No. 3, pp 367- 376.
- Salem, M. L. (2005). Immunomodulatory And Therapeutic Properties Of The *Nigella Sativa* L. Seed. *Int. Immunopharm*, Vol. 5, pp 1749-1770.
- Sallal, A. K. J., Alkofahi, A., Alkofahi, A. (1996). Inhibition Of The Haemolytic Activities Of Snake And Scorpion Venoms In Vitro With Plant Extracts. *Biochem Lett*, Vol. 53, pp 211-215.
- Santi, A., Duarte, M. M. M. F., Menezes, C., Loro, V. L. (2012). Association of Lipids with Oxidative Stress Biomarkers in Subclinical Hypothyroidism. *International Journal of Endocrinology*, Vol. 6, (Nov, 2012), pp 1-7

- Shokri, Z., Khoshbin, M., Koohpayeh, A., Abbasi, N., Bahmani, F., Rafieian-Kopaei, F., Beyranvand, F. (2018). Thyroid diseases: Pathophysiology And New Hopes In Treatment With Medicinal Plants And Natural Antioxidants. *International Journal of Green Pharmacy*, Vol. 12, No. 3, pp 474.
- Suboh, S. M., Bilot, Y. Y., Aburjai, T. A. (2004). Protective Effects Of Selected Medicinal Plants Against Protein Degradation, Lipid Peroxidation And Deformability Loss Of Oxidatively Stressed Human Erythrocytes. *Phytother Res*, Vol. 18, pp 280-284.
- Taibi, K., Abderrahim, L. A., Helal, F., Hadji, K. (2021). Ethnopharmacological study of herbal remedies used for the management of thyroid disorders in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, Vol. 29, pp 43-52.
- Tajmiri, S., Farhangic, M. A., Dehghan, P. (2016). Nigella Sativa treatment and serum concentrations of thyroid hormones, transforming growth factor b (TGF-b) and interleukin 23 (IL-23) in patients with Hashimoto's Thyroiditis. *European Journal of Integrative Medicine*, Vol. 8, No. 4, (August, 2016), pp 576-580.
- Todini, L. (2007). Thyroid Hormones In Small Ruminants: Effects Of Endogenous, Environmental And Nutritional Factors, *Animal*, Vol. 1, No. 7, pp 997-1008.
- Torun, A. N., Kulaksizoglu, S., Kulaksizoglu, M., Pamuk, B. O., Isbilen, E., Tutuncu, N. B. (2009). Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Clinical Endocrinology*, Vol. 70, No. 3, pp 469-474.
- Vatansev, H., Çiftçi, H., Özkaya, A., Öztürk, B., Evliyaoğlu, N., Kıyıcı, A. (2013). Chemical Composition of Nigella sativa L. Seeds Used as a Medical Aromatic Plant from East Anatolia Region, Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 25, No. 10, pp 5490-5492.
- Venditti, P., Balestrieri, M., Di Meo, S., De Leo, T. (1997). Effect Of Thyroid State On Lipid Peroxidation, Antioxidant Defences And Susceptibility To Oxidative Stress In Rat Tissues. *J Endocrinol*, Vol. 155, pp 151- 157.

- Zen, X. X., Yuan, Y., Liu, Y., Wu, T. X., Han, S. (2007). Chinese Herbal Medicines For Hyperthyroidism. *Cochrane Database Syst Rev*, Vol. 2, (Apr, 2007), pp 1-45.
- Zimmermann-Belsing, T., Brabant, G., Holst, J. J., Feldt-Rasmussen, U. (2003). Circulating Leptin And Thyroid Dysfunction. *Eur J Endocrinol*, Vol. 149, pp 257-271.

CHAPTER 7

SİĞİR TÜBERKÜLOZU VE AŞI ÇALIŞMALARI

Doç. Dr. Şinasi AŞKAR¹, Vet. Hek. Yasin KOÇAK²
Doç. Dr. Sezer OKAY³

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 18200, Çankırı/Türkiye. ORCID ID: 0000-0002-7836-3798

² Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Deney Hayvanları Anabilim Dalı, 18200, Çankırı/Türkiye.
ORCID ID: 0000-0001-6262-2241

³ Hacettepe Üniversitesi, Aşı Enstitüsü, 06230, Ankara/Türkiye.
ORCID ID: 0000-0003-0355-6672

GİRİŞ

Tüberküloz (TB), uzun yıllardır insanlarda ve hayvanlarda var olan, öncelikle akciğer olmak üzere tüm organlarda kazeöz ve kazeökalsereöz tüberkellerin oluşması ile karakterize, kronik seyirli bir bakteriyel hastalıktır (Yardımcı 2006).

Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE), sığır tüberkülozunu halk sağlığı açısından önemli ve uluslararası hayvan ve hayvansal ürün ticareti üzerinde yüksek etkisi olan bir liste B bulaşıcı hastalık olarak tanımlamıştır (OIE 2021).

Sığır tüberkülozuna (BTB) neden olan *Mycobacterium bovis* (*M.bovis*), *M. tuberculosis* (MTB) kompleksinin bir üyesidir ve insanlar dâhil olmak üzere çok çeşitli konakçıları enfekte eder (Özbeş 2008).

Sığır tüberkülozunun etkeni olan *M. bovis*, *Prokaryotes* aleminde, *Actinobacteria* sınıfında, *Actinomycetales* takımında, *Mycobacteriaceae* familyasında ve *Mycobacterium* cinsi içerisinde (Bergey vd. 1994, NCBI 2021). Etken asidorezistans, sporsuz, aerobik ve gerçek bir kapsülü olmayan bir bakteridir. İnsan ve hayvanlarda tüberküloza sebep olan mikobakteriler *M.africanum*, *M.bovis*, *M. canetti*, *M.caprae*, *M.microti*, *M. mungi*, *M. orygis*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae*, *M.tuberculosis* türlerini içeren

Şube: Actinobacteria

Sınıf: Actinobacteria

Altsınıf: Actinobacteridae

Takım: Actinomycetales

Alttakım: Corynebacterinea

Aile: Mycobacteriaceae

Cins: Mycobacterium

Tür: Mycobacterium bovis

Şekil 1. M.bovis Taksonomisi

Mycobacterium tuberculosis kompleks (MTBC) olarak adlandırılan grup içinde yer alır. MTBC binlerce yıl önce *Mycobacterium canettii* ile ortak bir atadan evrimleşmiş klonal bir gruptur *Mycobacterium tuberculosis*, insanlarda TB'nin önde gelen etiyojik ajanıken, *M. bovis* başta sığır ve insanlar dahil olmak üzere birçok konakçı türü enfekte edebilir (Guimaraes vd. 2020). *M.bovis* dokularda 0.2-0.6 x 1.0-4.0 µm boyutlarındadır. Tüberküloz etkenlerinin hücre duvarının diğer bakterilere göre lipid içeriği fazladır. Bu sebeple yavaş gelişirler, hidrofobiktirler, antibiyotiklere, kimyasal maddelere, fiziksel etkilere, litik enzimlere ve kurumaya karşı dirençlidirler. Asitlere dirençli bir hücre duvar yapısı olduğu için Asido-Rezistans (Dirençli) Bakteriler (ARB) olarak bilinirler ve normal laboratuvar boyaları yerine Ziehl-Neelsen boyama yöntemi uygulanır (Karlson ve Lessel 1970, Hope vd. 2007, Yardımcı 2006, Alexander vd. 2010, Van Ingen vd. 2012, Yanti vd. 2020).

M.bovis, fakültatif hücre içi bir bakteridir. İn vitro büyüme için özel kültür ortamları gereklidir. Etkenin jenerasyon süresi 15-24 saattir, üreme süresi 3-5 haftayı bulur. Üreme ısısı 37-37.5°C dir. *M.bovis*'i üretmek için katı besiyerlerinden (Dorset, Souton ve



Şekil 2. *M. bovis* kolonisi, Stonebrink agar (Bolaños vd.2017).

Lockman Stonebrink, Dorset, Petraghani, Loewenstein-Jensen vb.) ve sıvı besiyerlerinden (Dubos, Proskauer-Beck, vb.) yararlanılmaktadır. *M.bovis*, besiyerlerinde gliserine gereksinim göstermez. Vida kapaklı

tüp/şişelerde 37°C bir ay kadar inkübasyona bırakılır. Katı besiyerlerinde yayvan veya kurukabarık, kenarları düzensiz veya oval koloniler meydana getirir (Akay 1999, Yardımcı 2006).

M. bovis genomu 2003 yılında sekanslanmış ve boyutunun, *M. tuberculosis*'inkinden daha küçük olduğu belirlenmiştir (Huard vd. 2006). MTBC'nin tüm üyeleri % 99.95 sekans benzerliği sergiler ve 16SrRNA'sı da *M. canetti* haricinde korunmuştur. Kompleks üyeleri benzer patolojiye sahip hastalıklara neden olurlar (Rodriguez Campos 2012). Yaklaşık 4.3 Mb (4.345.492 baz çifti [bç]) içeren *M.bovis* genomu 4200 gene sahiptir, ribozomal RNA genlerinin (5S, 16S ve 23S) her birinin tek kopya içerir ve 45 tRNA'ya sahiptir. Diğer *Aktinobakterilerde olduğu gibi* genomunda yüksek Guanin (G)+Citosin (C) oranına (% 65.63) sahiptir. Genetik araştırmalarda bakteriofaj ve plazmid varlığı rapor edilmiştir. Tüberküloz etkenlerinin endotoksin ve ekzotoksinleri yoktur (Akay 1999, Yardımcı 2006).

Etken 75-80°C de 5-10 dakika dayanabilir. Fenol (%2), formalin (%3) ve NaOH (% 5) içinde 4 saatte inaktif olur. Kraşe içinde 3 ay, merada toprakta gübrede 2-6 ay infeksiyöz kalabilir. Direkt güneş ışını ve ultraviyole ışınlarına dayanıksızdır. Alkol (%70-90) 5-10 dakikada bu mikroorganizmaları inaktif hale getirir (Yardımcı 2006).

M.bovis'in neden olduğu BTB, Afrika'nın çoğunda, Asya'nın ve Amerika'nın bazı bölgelerinde sıklıkla görülürken, dünya çapında büyük problem olmaya devam etmektedir. 50 milyondan fazla

büyükbaş hayvanın dünya çapında MB ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Bu hastalığı mevcut yöntemlerle kontrol altına alma girişimlerine rağmen yılda yaklaşık 18 milyar TL küresel ekonomik zarar oluşmaktadır (Waters vd. 2012, OIE 2021).

Enfekte sığırların tedavisi, yüksek maliyet ve uzun süreli olması sebebiyle ayrıca kanunlara bağlı olarak yapılmaz. Test yöntemi ve şartlı kesim/imha, sadece hastalığın evcil hayvanlarda yayılmasını engelleyen kontrol önlemidir. Fakat bu yöntemler hastalığın eradikasyonu konusunda pratik değildir. Sütlerin pastörizasyonu, et muayenesi, çiftlik ziyaretleri, sığırların sistematik bireysel testleri ve enfekte olmuş hayvanların çıkarılması, hareket kontrollerini içeren yoğun sürveyans programları gibi Veteriner Hekimliği Hizmetleri hastalığın yayılmasını azaltmada etkili olmuştur (Parlan ve Buddle, 2015).

Hastalıktan korumak amacıyla hayvanlarda kullanılan lisanslı bir ticari aşı yoktur. Sığır TB'unun hayvan sağlığı ve ticareti üzerindeki finansal etkisi ve hastalığı kontrol etmenin zorluğundan dolayı, son yıllarda sığırlarda TB aşılarının kullanılmasına yönelik ilgi artmıştır. Evcil ve vahşi hayvan türleri ile insanlar için yeni aşılardan, tanı testlerinin geliştirilmesi hastalık kontrolünün iyileştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Bu bölümde sığır tüberkülozu ve *M.bovis* enfeksiyonuna karşı aşı çalışmaları hakkında güncel bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

1. SIĞIR TÜBERKÜLOZUNUN EPİDEMİYOLOJİSİ

M. bovis, siğir tüberkülozunun asıl etkeni olmasına rağmen, tüm MTBC üyeleri arasında en geniş konakçı aralığına sahiptir. *M. bovis*; siğir, bufalo, keçi vb. çiftlik hayvanlarını enfekte edebilir. Keçiler, *M. bovis*'in rezervuar konakçıları olarak kabul edilirken domuzlar, kediler, köpekler, atlar ve koyunlar gibi diğer hayvan türleri, yayılma konakları olarak kabul edilir. Şu anda *M. bovis* enfeksiyonları, atlar, develer, yaban domuzları, geyikler, antiloplar, tilkiler, vizonlar, gelincikler, sıçanlar, primatlar, lamalar, tapirler, filler, gergedanlar, yer sincapları, su samuru, fok, tavşan, köstebek, rakun, çakal ve aslanlar, kaplanlar, leoparlar ve vaşaklar gibi 40'tan fazla serbest dolaşan vahşi hayvan türünde bildirilmiştir. Porsuklar başta olmak üzere birçok yaban hayvan türü büyük rezervuardır (Kamel vd. 2014, OIE 20214).

M. bovis' de diğer mikobakteriler gibi, çevrede şartlarına dayanıklıdır. Çevre koşullarına bağlı olarak yaklaşık 6 hafta karkastan ve 4 hafta dışkıdan izole edilebilir, ancak kirlenmiş suda 58 güne kadar, örtülü dışkıda 2 yıla kadar canlı kalması mümkündür (Courtenay vd. 2006, Fine vd. 2011).

M. bovis, yağmurlarla yayılabilir ve bu da siğirleri yaban hayatından kaynaklanan enfeksiyonlara karşı daha duyarlı hale getirir. Bununla birlikte, hastalığın indirekt bulaşması için gereken miktar, doğrudan veya aerosol geçiş için gerekenden daha yüksektir (Fine vd. 2011). BTB bir sürüde kongenital, alimenter, solunum, genital ve deri yoluyla bulaşabilir. Genel olarak, yem ve meraların

kontaminasyonu hastalığın bulaşmasında önemsiz görünmektedir, çünkü fomitlerdeki enfektif organizma dozlarının hayatta kalma süreleri gerçekçi koşullar altında nispeten kısadır ve hayvanlar yaygın olarak enfeksiyona yol açabilecek kadar yüksek bir doza maruz kalmazlar. Taşıyıcı konakçılar sebebiyle bTB enfeksiyonu, başka herhangi bir *M. bovis* kaynağı olmasa da yatay transfer yoluyla sürüde uzun süre devam edebilir ve diğer duyarlı konakçılara bulaşabilir (Morris vd. 1994, Biet vd. 2005).

Farklı türlerdeki tüberküloz lezyonların boyutu, görünümü ve dağılımı önemli değişikliklere rağmen, evcil sığırlarinkine çok benzer. Hastalığın ciddiyeti ve klinik semptomlar, türün duyarlılığına, etkenin genotipe ve bTB'nin yaygınlığına bağlıdır. Bazı sığır ve geyik ırklarının *M. bovis* enfeksiyonlarına dirençli olabileceği bildirilmiştir (Drewe vd. 2009, Rodríguez Campos 2012, Bermingham vd. 2014, Waters vd. 2014).

M. bovis'in aerosol geçişi, sürü üyeleri arasında en sık bulaşma şeklidir. Diğer türlere yayılma, farklı bulaşma yollarıyla gerçekleşebilir. İnsanlar, köpekler ve kediler enfeksiyonu enfekte sürülerle doğrudan temas yoluyla yakalanabildikleri halde, hastalığın sindirim formuna daha duyarlıdırlar. Enfekte süt içmek, enfekte karkaslarla beslenmek ve hatta lenf düğümlerinin akan fistüllerinden salgılanan irin ile temas etmek, hastalığın bulaşma yolu sebepleri arasında sayılabilir. BTB genellikle ihmal edilen bir halk sağlığı sorunudur. Zoonotik TB'nin yılda 143.000 kişiyi etkilediği ve yaklaşık

12.300 kişiyi öldürdüğü tahmin edilmektedir (Michel vd. 2007, WHO 2019)

Sığırların ülkeler ve hatta kıtalar içinde ve arasında serbest dolaşımı, büyükbaş hayvan tüberkülozunun dünya çapında dağılımını ve evrimleşmiş, antibiyotiğe dirençli türlerin yayılmasını kolaylaştırmaktadır (Sechi vd, 2001). Sığır patojeninin çoğu TB tedavisinde birinci basamak ilaçlardan biri olan pirazinamide direnç mutasyonları taşır ve bu durum tedaviyi geciktirir. Sığır tüberkülozunun hayvanlar ve insanlar arasında yeniden ortaya çıkması, özellikle gelişmekte olan ülkelerde dünya çapında ciddi bir sorundur. Sığır sürülerinde *Mycobacterium bovis* enfeksiyonları 2005 ile 2010 yılları arasında dünya çapında 109 ülkede bildirilmiştir (Ramos vd. 2014, Guimaraes vd. 2020).

M.bovis zoonotik potansiyele sahiptir, bu nedenle, tüberküloz etkeninin alt tür düzeyinde belirlenmesi halk sağlığı açısından önemlidir. *M. bovis* suşları, *M. tuberculosis*'in aksine, insanlar arasında etkili bir şekilde bulaşmasa da, özellikle cezaevleri gibi kapalı popülasyonlarda insandan insana enfeksiyon potansiyeli vardır (Romero vd. 2006, CDC 2011, Gumi vd. 2012; Gonzalo Asensio vd. 2014). Bulaş kaynağı (insan veya hayvan) DNA tiplendirmesi (fingerprint) ile ayırt edilebilir (Pérez-Lago vd. 2014).

Dünya çapındaki insan TB vakalarının yaklaşık % 3.1'inin *M. bovis* kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. 2016 yılında DSÖ, insanlarda 147.000 yeni zoonotik TB vakası ve hastalık nedeniyle 12.500 ölüm olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, zoonotik TB'nin küresel

yüküne ilişkin tahminler kesin değildir. Bunun nedeni, insanlarda zoonotik TB vakaları, sığırlarda sığır TBC'sinin kontrol edildiği ve gıda güvenliği standartlarının yüksek olduğu ülkelerde nadirdir. Zoonotik TB'nin sonuçları insan sağlığının ötesine uzanır. Sığır tüberkülozu, geçim kaynakları çiftlik hayvanları olan toplulukların refahını tehdit etmektedir. Hastalık, et ve süt üretiminin azalması ve insan tüketimine uygun olmayan karkasların veya etkilenen parçaların imhası yoluyla önemli bir ekonomik etkiye sahiptir. Sığır tüberkülozu ayrıca hayvanların ve hayvansal ürünlerin uluslararası ticaretine de engeller oluşturur. Yaban hayatı popülasyonlarında endemik hale geldiğinde, bu koruma çabalarını tehdit eder ve hayvanlar ve insanlar için bir enfeksiyon rezervuarı görevi görebilir (Romero vd. 2006, Malama vd. 2014).

Çiftlik düzeyinde hastalığı önlemek amacıyla yönetim prosedürlerinin uygulanmasıyla bir noktaya kadar hastalığın görülme oranı azaltılsa da, aşılarda geliştirilmesi daha büyük kazanımlar sağlayacaktır (Morris vd. 1994).

2. AŞI VE AŞI ÇEŞİTLERİ

Organizmaya uygun yolla verildiğinde bağışık yanıt oluşturarak, canlının enfeksiyon hastalıklarından korunmasını sağlayan biyolojik maddelere aşı denir. Günümüzde de hala aşılarda, enfeksiyöz hastalıklara karşı koruma da en etkili biyogüvenlik önlemlerinden birini oluşturmaktadır. Ancak, yine de canlıları bütün enfeksiyöz

hastalıklardan korumak mümkün olamamıştır (Altınsoy 2007, Karslıgil 2010)

Aşılama, canlıları hastalıklardan korumak, infeksiyöz ajanların etrafa ve diğer canlılara yayılmasını ve bulaşmasını önlemek ve böylece infeksiyon etkenlerini ve infeksiyonu kontrol altına almak, populasyon içinde morbidite, mortalite ve hastalığın prevalensini minimal düzeye indirmek, sağaltım ve hastane masraflarını azaltmak, canlılara sağlıklı ve rahat bir ortam sağlamak için başvuru olan etkili, kolay ve ucuz bir uygulamadır. Aşılar, ancak, sağlıklı olan canlılara, belli programlar dahilinde yapılır. Koruma ve kontrol önlemlerinin çok önemli bir maddesini oluşturan aşılama, ancak, biyogüvenlik önlemlerinin en az aşılama kadar önemli diğer koşulları ile birlikte kullanıldığı zaman etkili olabilmektedir (Arda 2011).

Aşı uygulamalarının tarihçesine bakıldığında M.Ö. 400'lü yıllara kadar dayandığı görülmektedir. Tarihte ilk keşfedilen aşı çiçek aşısı olmuş ve 1796 yılında Edward Jenner tarafından modern tıp yöntemi ile uygulanmıştır. Ardından 1885 yılında Louis Pasteur kuduz aşısını geliştirmiştir. Daha sonra uluslararası örgütlerin finansmanı ile birçok aşı geliştirilmiş ve aşı programları global olmaya başlamıştır. Bulaşıcı hastalıklardan ölümlerin engellenmesinde en etkili yöntem olan aşılar, antibiyotiklerden önce kullanılarak birçok canlının hayatını kurtarmıştır 19.yy. sonlarında birçok ülkede kuduz aşısı ile zorunlu aşı uygulamaları başlamıştır (Selçuk 2011, Akdeniz ve Kavukcu 2016).

Canlılarda, spesifik aktif bir bağışıklık oluşturmak için, genellikle, bir bütün halinde mikroorganizmalardan (aktif ve inaktif aşılar) veya bunların yüzey antijenik moleküllerinden (subünit aşılar) hazırlanan aşılar kullanılmaktadır. Aşılar hazırlanma teknolojilerine göre aşağıda verildiği üzere başlıca 2 gruba ayrılır (Arda 2011).

1- Klasik (konvansiyonel, tradisyonel) aşılar

2-Biyoteknolojik (gen mühendisliği) aşılar

2.1. Klasik (Konvansiyonel, Tradisyonel) Aşılar:

Günümüzde klasik aşılardan en sık mikroorganizma (inaktif ve aktif) aşıları, subünit aşılar, toksoid aşılar, sentetik peptit aşılar, antiidiyotip antikör aşılar kullanılmaktadır. İnaktif ve aktif mikroorganizma aşılarında, mikroorganizmaların kendileri bütün olarak bulunmasına karşın, diğer aşılarda etkenlerin antijenik moleküllerinden (protein, glikoprotein, toksin vd.) yararlanılmaktadır (Karslıgil 2010, Arda 2011).

2.1.1. İnaktif aşılar;

Bu aşılar, mikroorganizmaların bütünlüğü bozulmadan, çeşitli kimyasal maddeler (formol, fenol, betapropiolakton, vd.) veya fiziksel teknikler (ısı, UV ışınları) ile mikropların inaktif hale getirilmesiyle hazırlanır. Ancak bu tür inaktivasyonlarda, mikroorganizmaların antijenik yapılarında, vücut içerisinde üreyen etkenlere göre hem sayıca ve hem de tür olarak bazı değişimler meydana gelebilir. Bu durum ve etkenin üreme özelliği olmaması sebebiyle bağışıklık

sistemini uyarmada aktif aşılar göre zayıf etkilidir. En önemli avantajı daha düşük maliyetli ve güvenli olmasıdır (Karslıgil 2010, Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.1.2. Aktif (Atenüe/zayıflatılmış) aşılar;

Çeşitli yollarla (devamlı veya ortam değıştirilerek üretim, genetik müdahale vb.) antijenik niteliği bozulmadan mutasyona uğratarak patojenitesi ortadan kaldırılan veya virölansı azaltılan mikroplardan hazırlanan aşılar. Canlı aşılar, inaktif aşılar göre maliyeti ve güvenlik riski daha yüksektir. Fakat oluşturdukları bağışıklık düzeyi daha güçlüdür. Son yıllarda, güvenilir birçok suş elde edilmiş ve ticarileştirilmiştir. Fakat, yerel suşlardan hazırlanan aşılar, orjinleri dışa ait olanlardan koruyuculuğu daha fazladır (Karslıgil 2010, Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.1.3. Subünit aşılar;

Bu aşılar mikroorganizmaların yüzeyindeki antijenik moleküllerden (bakteriler için flagellin, pili, kapsül polisakkaridleri, hücre duvarı polisakkaridleri, virüsler için kapsid ve zarfta bulunan bazı antijenik komponentler VP, HA, NA, F-proteini, M-proteini, vd) konvansiyonel yöntemlerle (gen teknolojiyle hazırlananları da var) çıkarılıp, saflaştırılarak hazırlanan aşılar. Bu aşılar asellüler özellik taşırlar. Ancak, bu aşıları hazırlamak zor, zaman alıcı ve bağışıklıkları da orta derecedir (Karslıgil 2010, Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.1.4. Toksoid (anatoksin) aşılar;

Bakteri (*Clostridium*, *Bacillus spp.* vb.) toksinlerinin saflaştırılıp, ısı veya kimyasala maruz bırakılarak (formaldehid, fenol, gluteraldehid, vd) antijenik yapı bozulmadan sadece toksin etkisinin giderilmesiyle elde edilen aşılardır. Bu aşılar kuvvetli antikor yanıt oluşturur (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.1.5. Sentetik peptid aşılar;

Bu aşılar mikroorganizmaların antijenik yapılarında bulunan ve 8-50 aminoasitten oluşan epitoplardan hazırlanan aşılardır. İnaktif aşılar da olduğu gibi uygun adjuvantlar veya taşıyıcı proteinlerle birleştirilerek bağışıklığı uyarma etkisi artırılır. Monokomponent aşıların etkinliği düşük olduğu için çoğunlukla multicomponent aşılar tercih edilmektedir. Fakat oluşan bağışıklık genellikle yeterli bulunmamıştır (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.1.6. Antiidiyotip antikor aşılar;

Bu aşılar bir antijenin epitopuna karşı oluşmuş antikorların (idiyotip antikor), başka bir canlıya verilmesi ve bu antikorlara karşı oluşan ve epitopla benzer yapıya sahip antiidiyotip antikorlardan hazırlanan aşılardır. Kısaca mikroorganizmanın antijenik yapısıyla benzer olan antikorların üretilip, saflaştırılmasıyla elde edilen aşılardır. Bu aşılardan elde edilen bağışıklık genellikle istenilen düzeyde değildir (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.2. Biyoteknolojik (gen mühendisliği) Aşılar:

Klasik aşıların çeşitli olumsuzluklardan (üretim, maliyet, yetersiz bağışıklık, allerjiler vb.) hazırlanamaması, 2. nesil aşılar olan biyoteknolojik aşı üretimine neden olmuştur.

Biyoteknolojik yöntemlerle, mikroorganizmaların genomlarından patojenlerin virulens faktörlerini (protein, glikoprotein, vd) kodlayan genlerin çıkartılması veya bu genlerde mutasyonlar oluşturularak elde edilen apatojenik veya düşük virülensli suşlar aşı hazırlamada kullanılır. Bu tür ileri teknoloji ile hazırlanan aşılar aşağıda verildiği üzere başlıca 3 grup altında toplanabilirler.

- 1) Mutant mikroorganizma aşıları
- 2) Rekombinant aşılar
- 3) Nükleik asit (DNA, CDNA ve mRNA) aşıları

Birinci ve ikinci gruptaki aşılarda mikroorganizmaların tümü kullanılırken, 3. grupta yer alan aşılarda sadece antijenik protein yapılar veya nükleik asitler kullanılır, mikroorganizmalar bütün olarak kullanılmazlar (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.2.1. Mutant mikroorganizma aşılar:

Bu aşılar patojenlerin virulens genleri veya virulensle ilgili diğer genler yabancı gen eklenerek insersiyonu mutasyonu ile veya bu genler çıkartılarak delesyon mutasyonları ile apatojen hale getirilen

mikoorganizmalardan hazırlanır. Fakat insersiyon mutan aşılar da etken genlerde oluşacak revizyonla tekrar patojen özellik kazanabilir, bu sebeple delesyon mutant aşılarda daha güvenlidir. Bu güven üremeyi etkilemeyen birden fazla genin delesyonu ile daha da artar. Klasik yöntemlerle de (atenüasyonlar) mikroorganizmalarda mutasyonlar oluşmaktadır fakat bu mutasyonlar kontrollü değildir (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.2.2. Rekombinant aşılarda:

Rekombinant mutant mikroorganizma aşılarda, Rekombinant polipeptid aşılarda ve Rekombinant yem aşılarda örnek verilebilir.

2.2.2.1. Rekombinant mutant mikroorganizma aşılarda;

Bu aşılarda özellikle delesyon mutant suşların bazı genleri içine immunojenik özellikte homolog veya heterolog birkaç genin insersiyonuyla elde edilen aşılardır. Böylece, mutant suşlar bir aşı vektörü (Baculovirüs, Adenovirüs, BCG, *S.Typhi*, *S.Typhimurium* aro A SL 3261 vd.) olarak kullanılır ve birkaç hastalığa karşı aynı anda çoğul koruma sağlanabilir. Fakat bireyler vektörlere karşı spesifik antikor taşıyorsa immun yanıt baskılanabilir (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

Tablo 1. Bazı rekombinant mutant mikroorganizma aşular (*Plotkin vd. 2013*).

Rekombinant aşular	Eklenen genler
Vaccine virüs	Kuduz virüs geni (glikoprotein, gP)
Kanatlı çiçek virüsü	Newcastle virüs geni (emaglutinin-neuraminidase (HN) ve F-protein genleri)
Kanarya çiçek virüsü	Canine distemper virus, feline leukemia virus ve kuduz virusunun genleri

2.2.2.2 Rekombinant polipeptid aşular; Bu aşular immunojenik veya antijenik polipeptitleri kodlayan genlerin çoğaltılıp bir vektöre (plazmit, faj, virüs), vektörün de alıcı hücreye (bakteri, ökaryotik hücre- maya vb.) aktarılmasıyla ilgili proteinlerin çoğaltılıp, saflaştırılmasıyla elde edilen aşılardır. Ökaryotik alıcı hücrelerde (Örn, *S.cerevisiae*) sentezlenen polipeptidlere glukoz molekülü eklendiği için immunojenitesi prokaryot hücrelere göre fazladır (Arda 2011, Plotkin vd. 2013).

2.2.2.3 Rekombinant yenebilir aşular; Bu aşular vitamin, protein ve diğer besleyici özellikler açısından zengin yenilebilir besinler olup aynı zamanda aşı görevi gören gıdalardır (Altındis vd. 2014; Aswathi vd. 2014). Yenebilir aşı olarak domates, mısır, tütün, muz, havuç ve yer fıstığı gibi bitkiler otoimmün hastalıklar, rotavirüs ve kuduz hastalığına karşı transforme edilmiştir. Bulaşıcı hastalıkları azaltmak ve aşılamaı kolaylaştırmak için yenebilir aşular umut verici bir geleceğe sahip ve alternatif olarak düşünülmektedir (Glick vd. 2010, Laere vd. 2016).

2.2.3. Nukleik asit (DNA, CDNA ve mRNA) aşılar:

Bu aşılar mikroorganizmanın genomundan immunojenik veya antijenik molekülleri kodlayan genlerin bir ekspresyon vektör DNA'sına (Örn, Ecol R1) insert edilmesiyle elde edilir. Elde edilen rekombinant ekspresyon vektörü canlılara aşı olarak verilerek ekspresyonu (transkripsiyon ve translasyonun) sağlanır ve immun sistemi uyararak spesifik antikorlar sentezlenir (Arda 2011; *Plotkin vd., 2013*). 2000'lerin sonlarına kadar, RNA'nın istikrarsızlığından, yetersiz in vivo sunumundan ve aşırı inflamatuvar yanıtların uyarılmasından kaynaklanan engeller nedeniyle DNA temelli yaklaşımların geliştirilmesi üzerinde duruldu Fakat son yıllar yaşanan gelişmelerle başlangıçta kanser hastalıklarına karşı ve 2019 yılında gerçekleşen covid-19 pandemisinden korunmak amacıyla viral hastalıklara karşı mRNA aşılar ön plana çıkmıştır. mRNA aşıları, bağışıklığı uyarmasını düşündüğümüz hedef proteinin sentezinde rol alan mRNA'nın invitro koşullarda üretilmesi ve organizmaya uygulanması sonucu immun yanıtın oluşması amacıyla geliştirilen yeni bir aşıdır. Şuana kadar lisans alan tek aşı covid-19 virüsüne karşı geliştirilen mRNA aşısıdır (Pardi vd. 2020).

3. SİĞİRLERDE TÜBERKÜLOZ AŞI ÇALIŞMALARI

TB'ye karşı kullanılan lisanslı tek ticari aşı, insanlarda kullanılan zayıflatılmış bir MB olan Bacille Calmette-Guerin (BCG) aşısıdır ve insanlarda koruyuculuğu % 0-80 aralığında olup, koruyuculuk süresi yaklaşık 10 yıldır. Hayvanlarda kullanılan lisanslı bir ticari aşı yoktur.

Sığır TB'unun hayvan sağlığı ve ticareti üzerindeki finansal etkisi ve hastalığı kontrol etmenin zorluğundan dolayı, sığırlarda TB aşılarının kullanılmasına yönelik ilgi son yıllarda artmıştır. Evcil ve vahşi hayvan türleri için yeni aşilar ile tanı testlerinin geliştirilmesi, hastalık kontrolünün iyileştirilmesine katkıda bulunacaktır (Agger ve Andersen 2001, Pathan vd. 2007).

Tarihsel olarak, bTB'ye karşı korunma için sığırlara, deri altı (subkütan, s.c.), oral ya da intavenöz olarak uygulanan virülans genlerinin susturulduğu ya da over-ekspres edildiği rekombinant canlı BCG aşiları, attenüe MTB ve MB aşiları, DNA aşiları, alt ünite rekombinant protein aşiları ve virülans genlerini taşıyan viral vektör aşiları kullanılmış olup, birçok çalışmada BCG'ye eşdeğer veya BCG'den daha iyi koruma potansiyeli Tablo 1'de özetlendiği gibi rapor edilmiştir (Parlan ve Buddle 2015).

Tablo 2. Sığırlarda test edilen bazı aşı çeşitleri (Parlan ve Buddle 2015)

Aşı tipi	Aşı	BCG'ye karşı etkinliği
Modifiye BCG	BCG overekspresyon Ag85B BCG Δ <i>zmp1</i>	Yüksek Test edilmedi
Attenüe <i>M.tuberculosis</i> suşları	<i>M. tuberculosis</i> Δ RD1 Δ panCD	Düşük
Attenüe <i>M.bovis</i> suşları	UV-irradiated <i>M. bovis</i> <i>M. bovis</i> Δ leuD <i>M. bovis</i> Δ RD1 <i>M. bovis</i> Δ mce2	Yüksek Test edilmedi Eşit Yüksek
DNA aşiları	<i>Mycobacterial</i> DNA <i>Mycobacterial</i> DNA + BCG	Eşit Yüksek
Adjuvanlı protein aşiları	Protein + BCG BCG + rekombinant adenovirüs	Yüksek /Eşit
Virüs vektör aşiları	veya mikobakteriyel proteini eksprese eden virüs	Yüksek

BCG ile aşılama deneysel olarak hastalığın ciddiyetini azaltmış, sığırlarda 1 yıl ile 22 ay arasında bir koruma sağladığı rapor edilmiştir (Ameni vd. 2010, Lopez vd. 2010). Fakat saha denemelerinde istenilen başarı elde edilememiştir. Bunun sebebi olarak farklı BCG suşlarının kullanımı, çok yüksek BCG dozları uygulanması, aşılama zamanları, çevresel mikobakterilere önceden maruz kalma, doğal enfeksiyonla mücadele edememe ve yavruların aşılardan önce MB ile enfekte ineklerin sütüne maruz kalması olarak bildirilmiştir (Buddle vd. 2002, Parlan ve Buddle 2015). Bunlara ek olarak BCG ile aşılanmış buzağuların yaklaşık % 80'inde aşılardan 6 ay sonra bile tüberkülin deri testinde reaksiyon gösterdiği rapor edilmiştir (Whelan vd. 2011). Ayrıca BCG ile aşılanmış hayvanları MB ile enfekte olanlardan ayırmak için BCG suşları tarafından eksprese edilmeyen MTB kompleksinden alınan antijenlerin kullanıldığı DIVA (differentiate infected from vaccinated animals) testlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. BCG aşılması ile ilgili bilimsel ve yasal olan bazı zorlukları özetleyecek olursak;

1-Türkiye gibi test ve şartlı kesim/imha kontrol stratejileri uygulayan ülkelerde, BCG aşılması, standart tüberküline dayalı teşhis araçlarının özgüllüğünü tehlikeye atmaktadır.

2-Aşılı hayvanların MB ile enfekte olması durumunda aşılı ve enfekte ayırımında da güçlük oluşmaktadır.

3-BCG insanlar için mevcut olan tek aşıdır ve sığırlarda kullanımı, insanları da etkileyebilecek BCG'ye dirençli bTB suşlarının oluşumuna yol açabilir (Parlan ve Buddle 2015).

Günümüzde ise rekombinant biyoteknolojideki gelişmelerle birlikte, bir veya birkaç spesifik antijen ile dizayn edilmiş, özgün ve uzun süreli koruma potansiyeline sahip alt ünite aşısı geliştirme konusunda ciddi ilerlemeler olmuştur. Değişiklik göstermemesi ve güvenilir ürünler olması, rekombinant proteinlerin konvansiyonel yöntemlerle üretilen aşılara göre sahip olduğu en önemli avantajdır. Beşeri ve veteriner hekimlik alanında lisanslı ticari protein aşıları (Hepatit, influenza, herpes virüs, chicken pox, Porcilis-PCV2, *Actinobacillus pleuropneumoniae* vb.) bulunmaktadır (Balamurugan vd. 2006). Horwitz ve Harth (2003), kobay modelinde MTB'nin 30-kDa majör salgı proteinini eksprese eden bir MB BCG suşu olan Rbcg30 aşısını değerlendirmiş ve ticari BCG aşısından daha iyi koruma sağladığını rapor etmişlerdir. BCG suşunun ESAT-6 proteini ile takviyesinin de koruma potansiyelini arttırdığı rapor edilmiştir (Pym vd. 2003). Okay vd. (2019) MTB rekombinant Erp, HspR, LppX, MmaA4 ve OmpA proteinlerinin immünojenik etkisini BCG aşı ile karşılaştırarak BALB/c farelerinde değerlendirilmişler. Erp, HspR ve LppX formülasyonlarının, IFN- γ seviyesinin artırılmasında BCG kadar etkili olduğunu, ayrıca Erp formülasyonunun IL-12 seviyesini 15. ve 30. günlerde BCG'den daha fazla arttırdığını bildirilmişlerdir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sığır tüberkülozu zoonotik öneme sahip bir hastalıktır. Hayvanlarda uygulanan aşısının olmaması sebebiyle dünyada ve ülkemizde görülme sıklığı oldukça fazladır. Bu hastalığa bağlı ekonomik kayıplar ve insan sağlığını tehdit etmesi yeni koruyucu önlemlerin gerekliliğini ortaya koymaktadır. Hastalıklardan korumada en önemli strateji aşılama değildir. Fakat birçok ülkede yıllarca önce belirlenen ve hala geçerli olan tüberküloz teşhisi ile ilgili kanunlar yeni aşı stratejileri geliştirmede önemli bir engel oluşturmaktadır. Günümüz aşı teknolojisinin gelişmesiyle birlikte tüberküloz hastalığına karşı gerek insanlarda gerek hayvanlarda uygulanabilecek yeni aşı çalışmaları ve aşı ile hastayı ayırt edebilen testler geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır. Birçok deneysel tüberküloz aşı çalışması başarılı bulunsa da saha çalışmalarının sayısının az olması ve bu saha çalışmalarında da sürüde istenilen bağışıklık dağılımını yakalanamamıştır.

Her yıl birçok insan ve hayvanın tüberküloza yakalandığını göz önüne aldığımızda mevcut koruma stratejinin yeterli olmadığı ve hastalıklara karşı en etkili koruma yöntemi olan aşılamanın sığır tüberküloz içinde geliştirilmesi gerekmektedir. Bunun için gerek kamu ve özel bilim şirketleri tarafından yeterli desteğin sağlanması ve araştırmacıların teşvik edilmesi önemlidir.

KAYNAKLAR

- Agger EM and Anderse P, 2001. Tuberculosis subunit vaccine development: On the role of interferon- γ . *Vaccine* 19, 2298–2302.
- Akay Ö, 1997. Asido-Dirençli Bakteriler. İçinde: Özel Mikrobiyoloji, 4.Baskı, Medisan, Ankara,180-198.
- Akdeniz M, Kavukcu E, 2016. Aşılama ve Aşıların Tarihçesi. Klinik Tıp Aile Hekimliği , 8(2), 11-28 .
- Alexander KA, Laver PN, Michel AL, Williams M, Van Helden PD, Warren RM and Gey van Pittius NC, 2010. Novel Mycobacterium tuberculosis complex pathogen, M. mungi. *Emerg. Infect. Dis.* 16 , 1296 - 1299 .
- Altındis E, Iz SG, Ozen MO, Nartop P, Deliloglu GI and Gurel A, 2014. Plant Derived Edible Vaccines and Therapeutics. İçinde: Atta-ur-Rahman (Ed), Frontiers in Clinical Drug Research: Anti-Infectives, Bentham Science Publishers.
- Altinsoy N, 2007. Aşı Üretim Teknikleri ve Kontrolü. AÜ. Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara
- Ameni G, Vordermeier M, Aseffa A, Young DB, Hewinson RG, 2010. Field evaluation of the efficacy of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin against bovine tuberculosis in neonatal calves in Ethiopia. *Clin Vaccine Immunol.*17(10):1533.
- Arda M, 2011. Vaksinoloji. İçinde; Temel Mikrobiyoloji. Medisan, Ankara.
- Aswathi PB, Bhanja SK, Yadav AS, Rekha V, John JK, Gopinath D, Sadanandan GV, Shinde A, Jacob A, 2014. Plant Based Edible Vaccines against Poultry Diseases: A Review. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2(5): 305–311.
- Balamurugan V, Sen A, Saravanan P, Singh RK, 2006. Biotechnology in the production of Recombinant Vaccine or Antigen for Animal Health. *J Anim Vet Adv.* 5(6), 487-495.
- Bergey DH, Holt JG, Krieg NAR, Sneath PHA, 1994. The mycobacteria. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p: 113.

- Bermingham ML, Bishop SC, Woolliams JA, Pong-Wong R, Allen AR, McBride SH, Ryder JJ, Wright DM, Skuce RA, McDowell SW and Glass EJ, 2014. Genomewide association study identifies novel loci associated with resistance to bovine tuberculosis. *Heredity* 112, 543–551.
- Biet F, Boschiroli ML, Thorel MF and Guilloteau LA, 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC). *Vet. Res.* 36, 411–436.
- Buddle BM, Wards BJ, Aldwell FE, Collins DM, de Lisle GW, 2002. Influence of sensitisation to environmental mycobacteria on subsequent vaccination against bovine tuberculosis. *Vaccine*, 20(7–8):1126–33.
- CDC, R. 2011: *Mycobacterium bovis* (bovine tuberculosis) in humans. Erişim adresi <https://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/general/mbovis.htm>, Erişim tarihi: 05.05.2021.
- Courtenay O, Reilly LA, Sweeney FP, Hibberd V, Bryan S, Ul-Hassan A, *et al.*, 2006. Is *Mycobacterium bovis* in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis?, *Biol. Lett.*, 2:460–462
- Drewe, JA, Foote AK, Sutcliffe RL, and Pearce GP, 2009. Pathology of *Mycobacterium bovis* infection in wildmeerkats (*Suricata suricatta*). *J. Comp. Pathol.* 140,12–24.
- El Kamel A, Joobeur S, Skhiri N, Mhamed SC, Mribah H, Rouatbi N. Fight against tuberculosis in the world. *Rev Pneumol Clin.* 2015;71(2-3):181-7.
- Fine AE, Bolin CA, Gardiner JC, and Kaneene JB, 2011. A study of the persistence of *Mycobacterium bovis* in the environment under natural weather conditions in Michigan, USA. *Vet. Med. Int.* 2011,
- Glick BR, Pasternak JJ, Patten CL. (2010) *Molecular Biotechnology. Principles and Applications of Recombinant DNA*, 4th ed. ASM Press, Herndon, VA, USA.
- Gonzalo-Asensio J, Malaga W, Pawlik A, Astarie-Dequeker C, Passemar C, Moreau F, Laval F, Daffe M, Martin C, Brosch R, and Guilhot C, 2014.

- Evolutionary history of tuberculosis shaped by conserved mutations in the PhoPR virulence regulator. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 111, 11491–11496.
- Guimaraes AMS, Zimpel CK., 2020. *Mycobacterium bovis*: From Genotyping to Genome Sequencing. *Microorganisms.*;8(5):667.
- Gumi B, Schelling E, Berg S, Firdessa R, Erenso G, Mekonnen W, Hailu E, Melese E, Hussein J, Aseffa A and Zinsstag J, 2012. Zoonotic transmission of tuberculosis between pastoralists and their livestock in South-East Ethiopia. *Eco-Health* 9, 139–149.
- Hope JC, Villarreal-Ramos B, 2007. Bovine TB and the development of new vaccines. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, 21, 34-44.
- Horwitz MA, Harth G, 2003. A new vaccine against tuberculosis affords greater survival after challenge than the current vaccine in the guinea pig model of pulmonary tuberculosis. *Infect Immun.*, 71, 1672.
- Huard RC, M Fabre, P de Haas, LC Lazzarini, D van Soolingen, D Cousins, and JL Ho, 2006. Novel genetic polymorphisms that further delineate the phylogeny of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *J. Bacteriol.* 188, 4271–4287.
- Karlson AG, Lessel EF (1970). *Mycobacterium bovis* nom. Nov., *Int J Syst Evol Microbiol.*, 20, 273-282.
- Karsligil T. 2010. Enfeksiyonlara karşı Bağışıklık; Aşılar ve Serumlar. İçinde: Hemşireler için Mikrobiyoloji. Ed. Altındiş M., Nobel Tıp Kitapeleri, İstanbul.
- Laere E, Ling APK, Wong YP, Koh RY, Lila MAM, Hussein S. (2016) Plant-Based Vaccines: Production and Challenges. *J Botany*, 1–11.
- Lopez VG, Renteria ET, Williams JJ, Licea-Navarro A, Mora-Valle AD, Medina-Basulto G, 2010. Field evaluation of the protective efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine against bovine tuberculosis. *Res Vet Sci.*88(1):44–9.
- Malama S, Johansen TB, Muma JB, Munyeme M, Mbulo G, Muwonge A, Djonne B and Godfroid J, 2014. Characterization of *Mycobacterium*

bovis from humans and cattle in Namwala District, Zambia. *Vet. Med. Int.*

- Michel AL, LM de Klerk, Gey van Pittius NC, RM Warren, and PD van Helden, 2007. *Bovine tuberculosis* in African buffaloes: observations regarding *Mycobacterium bovis* shedding into water and exposure to environmental mycobacteria. *BMC Vet. Res.* 3, 23.
- Morris RS, Pfeiffer DU, Jackson, R, 1994. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. Volume 40, Issues 1–2, 153-177,
- NCBI, 2021. Taxonomy Browser, Erişim adresi; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=1765&lvl=3&lin=s&keep=1&srchmode=1&unlock&log_op=lineage_toggle. Erişim tarihi: 05.05.2021
- OIE, R. 2021: Bovine tuberculosis. Erişim adresi: <https://www.oie.int/en/disease/bovine-tuberculosis/>, Erişim tarihi 05/05/2021.
- Okay S, Çetin R, Karabulut F, Dogan C, Sürücüoğlu S and Kurt Kızıldogan A, 2019. Immune responses elicited by the Recombinant erp, hsp, lppx, mmaa4, and Ompa proteins from mycobacterium Tuberculosis in mice. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 66 (2), pp. 219–234.
- Özbey Ö, Kalender H, Muz A (2008): Sığır Tüberkülozu'nun Epidemiyolojisi ve Teşhisi. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg.*, 22, 307-314.
- Pardi, N, Hogan, MJ, Weissman D. 2020. Recent Advances in mRNA Vaccine Technology. *Curr. Opin. Immunol.* , 65, 14–20.
- Parlane NA, Buddle BM, 2015. Immunity and Vaccination against Tuberculosis in Cattle. *Curr Clin Micro Rpt*, 2:44–53.
- Pathan AA, Sander CR, Fletcher HA, Poulton I, Alder NC, Beveridge NE, Whelan KT, Hill AV, McShane H, 2007. Boosting BCG with recombinant modified vaccinia Ankara expressing antigen 85A: Different boosting intervals and implications for efficacy trials. *PLoS One* 2, e1052.
- Perez-Lago L, Navarro Y, and Garcia-de-Viedma D, 2014. Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: a

- review. *Res. Vet. Sci.* 97, 94–100. Supplement.
- Plotkin SA, Orenstein WA and Offit PA, 2013. *Vaccines*. 6th. ed., Elsevier. Philadelphia.
- Pym A, Brodin P, Majlessi L, Brosch R, Demangel C, Williams A, Griffiths KE, Marchal G, Leclerc C, Cole ST, 2003. Recombinant BCG exporting ESAT-6 confers enhanced protection against tuberculosis. *Nat Med* 9, 533–539.
- Ramos, DF, Tavares L, da Silva PE, and Dellagostin OA, 2014. Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates: a review. *Braz. J. Microbiol.* 45, 365–372.
- Rodriguez Campos, S, 2012. Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium caprae* in Spain. Universidad Complutense de Madrid, PhD Thesis.
- Romero B, Aranaz A, de Juan L, Alvarez J, Bezos J, Mateos A, Gomez-Mampaso E, and Dominguez L, 2006. Molecular epidemiology of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* isolates with the same spoligotyping profile as isolates from animals. *J. Clin. Microbiol.* 44, 3405–3408.
- Sechi LA, S Zanetti, M Sanguinetti, P Molicotti, L Romano, G Leori, G Delogu, S Boccia, M La Sorda, and Fadda G, 2001. Molecular basis of Rifampin and Isoniazid resistance in *Mycobacterium bovis* strains isolated in Sardinia, Italy. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 1645–1648.
- Selçuk EB. 2011. Aşıların Tarihiçesi. *Türkiye Klinikleri J Fam Med-Special Topics.* 2(5):1-4
- Van Ingen J, Rahim Z, Mulder A, Boeree MJ, Simeone R, Brosch R, van Soolingen D. 2012. Characterization of *Mycobacterium orygis* as *M. tuberculosis* complex subspecies. *Emerg. Infect. Dis.* 18:653–655.
- Waters WR, Palmer MV, Buddle BM, Vordermeier HM, 2012. Bovine tuberculosis vaccine research: historical perspectives and recent advances. *Vaccine*, 30(16):2611–22.
- Waters WR, TC Thacker, JT Nelson, DM DiCarlo, MF Maggioli, R Greenwald, J Esfandiari, KP Lyashchenko, and Palmer MV, 2014. Virulence of two

- strains of *Mycobacterium bovis* in cattle following aerosol infection. *J. Comp. Pathol.* 151, 410–419.
- Whelan AO, Coad M, Upadhyay BL, Clifford DJ, Hewinson RG, Vordermeier HM, 2011. Lack of correlation between BCG-induced tuberculin skin test sensitisation and protective immunity in cattle. *Vaccine*, 29(33):5453–8.
- WHO (World Health Organization), 2019. Global Tuberculosis Report 2019. Geneva, Switzerland.
- Yanti B, Mulyadi M, Amin M, *et al.*, 2020. The role of *Mycobacterium tuberculosis* complex species on apoptosis and necroptosis state of macrophages derived from active pulmonary tuberculosis patients. *BMC Res Notes* 13, 415.
- Yardımcı H, 2006. Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar). Ed. Aydın N, Paracıkoğlu J. içinde: *Mycobacterium* infeksiyonları, Ilke Emek Yayinlari, Ankara.

BÖLÜM 8

SAMANDAĞ YEŞİL DENİZ (*Chelonia mydas*) KAPLUMBAĞALARININ KAN BİYOKİMYA DEĞERLERİNİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR¹
Prof. Dr. M. Enes ALTUĞ², Doç. Dr. Şinasi AŞKAR³
Uzm. Osman KINA⁴, Doç. Dr. Nurgül ZENGİN⁵

¹ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çankırı, Türkiye. tunaykontas@yahoo.com . ORCID ID : 000-0002-1121-8799.

² Mustafa Kemal Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Veterinerlik Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye. ealtug@mku.edu.tr .ORCID ID : 0000-0003-3896-9944.

³ Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çankırı, Türkiye. sinasia@gmail.com . ORCID ID : 0000-0002-7836-3798.

⁴ Mustafa Kemal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı Hatay, Türkiye. osi.kina@hotmail.com . ORCID ID : 0000-0001-8328-1693.

⁵ Balıkesir Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye. nurgul.atmaca@balikesir.edu.tr . ORCID ID : 0000-0003-3141-8031.

GİRİŞ

Deniz kaplumbağaları tropikal ve subtropikal denizlerde yaşayan, büyük, hava soluyan canlılardır. Farklı boyut, şekil ve renktedirler. Deniz kaplumbağaları; hayvanlar (Animalia) âleminin, omurgalılar bölümünün, sürüngenler sınıfının, kaplumbağalar (Testudines) takımında yer almaktadır (Lutz ve Musick, 1997). Sekiz deniz kaplumbağası türü vardır: *Caretta caretta* (İribaş kaplumbağa, Linnaeus, 1758), *Chelonia mydas* (Yeşil kaplumbağa ya da çorba kaplumbağası, Linnaeus, 1758), *Chelonia agassizii* (Bocourt, 1868), *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761), *Eretmochels imbricate* (Linnaeus, 1766), *Lepidocheys kempfi* (Garman, 1880), *Lepidocheys olivacea* (Eschsholtz, 1829), *Natator depressa* (Garman, 1880). Tüm türlerin tehlike altında olduğu kabul edilmektedir (Anonim, 1991; Lutz ve Musick, 1997).

Deniz kaplumbağaları tropik ve subtropik kumsallara yuvalarlar. Her üreme sezonunda denizin sığ kısımlarına gelen erkek ve dişi deniz kaplumbağaları burada çiftleşir. Çiftleşmeden sonra dişi deniz kaplumbağaları yuvalamak için kumsala çıkar. Erkek deniz kaplumbağaları ise çiftleşmeden sonra beslenme alanlarına göç ederler (Al-Habsi ve ark., 2006). Dişiler aynı üreme mevsiminde, yaklaşık 15 gün aralıklarla birkaç kez yuvalayabilirler. Yaklaşık 45 – 60 gün sonra kuluçka süresini tamamlayan yumurtalardan yavrular çıkmaya baslar. Yavrular denizden yansıyan ışığın etkisiyle denize doğru yol alırlar. Denize ulasan yavrular, plastronlarında bulunan ve henüz absorbe olmayan vitellus kesesinden dolayı suya dalamaz ve yaklaşık iki ile

yedi gün arasında su yüzeyinde yüzerler. Daha sonra dip kısımlara dalarak yetişkin birey olana kadar beslenirler. Bu aşamada genç deniz kaplumbağaları carnivordur. Deniz dibinde bulunan yumuşakça gibi canlılarla beslenirler. Yetişkinliğe ulaştıktan sonra beslenme ve üreme alanları arasında göç ederler. Bu dönemde deniz kaplumbağaları herbivordur (Ülkü, 2009).

Ca. caretta türünün yuvalama kumsallarının başında Yunanistan, Türkiye ve Kıbrıs gelmektedir. Ayrıca bu tür Suriye, Libya, İsrail, Mısır, Tunus ve İtalya kıyılarına da yuvalamaktadır. *Ch. mydas* türü için ise Türkiye kumsalları birinci derece önemli olup, bunu Kıbrıs ve İsrail izlemektedir (Canbolat, 2004; Ouerghi, 2006). *Ca. caretta*'ların yaklaşık %30 - %50'sinin, *Ch. mydas*'ların da yaklaşık %70 - %80'inin Türkiye'nin Akdeniz sahillerinde yuvalamakta olduğu bildirilmiştir (Kaska, 2007). Bern Sözleşmesi ve CITES ile koruma altına alınmış olan *Caretta caretta* ve *Chelonia mydas* türlerinin Türkiye'de tüm Akdeniz kıyı şeridinde 17 üreme kumsalı bilinmektedir (Baran ve Kasperek, 1989). *Ch. mydas* türleri Akdeniz'de Samandağ, Akyatan, Kazanlı, Göksu Deltası, Yumurtalık, Kızılot ve Kumluca kumsallarına yuvalamaktadırlar (Oruç ve ark., 2003; Canbolat 2004). Bu nedenle Akdeniz'de bu türlerin korunması bakımından Türkiye kumsalları büyük önem taşımaktadır (Kasperek ve ark., 2001). Akdeniz'de deniz kaplumbağalarının izlenmesi ve kumsal önemlerinin belirlenmesi üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (Hathaway, 1972; Başoğlu, 1973; Başoğlu ve Baran, 1982; Geldiay, 1983, 1984; Geldiay ve ark., 1982; Baran ve Kasperek, 1989; Groombridge, 1990; Canbolat, 1991; Baran ve ark., 1998;

Baran ve Türkozan, 1996; Kaska, 1993; Türkozan ve ark., 1998; Türkozan, 2000; Kaska ve ark., 2001).

Samandağ Kumsalı kuzeyinde Çevlik Beldesi ve güneyinde Suriye ile sınırı oluşturan kayalık alan ve Meydan Köyü ile sınırlıdır. Samandağ kumsalı, üreme alanı Doğu Akdeniz’le sınırlı olan Yeşil Deniz Kaplumbağası’nın az sayıdaki üreme alanlarından biridir (Yerli ve ark., 1997; Yalçın ve ark., 2003). Doğu Akdeniz kumsallarında yapılmış çalışmalar olmasına rağmen, Samandağ kumsallarında yuvalayan deniz kaplumbağaları ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır (Yerli ve Demirayak, 1996; Yerli ve Canbolat, 1998; Baran ve Kasperek, 1989; Demirayak, 1999) ve bu çalışmalar genellikle yuva sayıları ve yuva başarıları ve kısmen sahildeki yuva dağılımları ile ilgilidir (Baran ve Kasperek, 1989; Yerli ve Demirayak, 1996; Yerli ve Canbolat, 1998; Demirayak, 1999; Yalçın, 2003; Yalçın-Özdilek ve ark., 2004).

Kan biyokimya referans değerlerinin belirlenmesi sürüngenlerin, özellikle kaplumbağaların sağlık durumlarını belirlemek için gereklidir. Kan parametreleri kaplumbağa ve populasyonlarının sağlık ve fizyolojik durumlarının, çevresel faktörler ve stres etkisinin hassas ve güvenilir bir belirteçidir. Çünkü bu türler çevresel değişimlere çok duyarlıdırlar. Deniz kaplumbağalarında kan biyokimya değerlerindeki değişme fizyolojik durumla veya kronik/patolojik durumlarla ilişkili olabilir (Swimmer, 2000; Dickinson ve ark., 2002; Lopez-Olvera ve ark., 2003; Montilla ve ark., 2004).

Canlılarda doku ve organ faaliyetlerini ortaya koymak için rutin olarak bakılan kan total protein, albumin, trigliserid, kolesterol, glikoz, üre, ürik asit, kreatinin, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP), iyon ve mineral düzeyleri (Na, K, P, Ca, Cl, Fe, Cu, Zn) çeşitli deniz kaplumbağası türünde ölçülmüştür (Aguirre ve ark., 1995; Hasbun, 1998; Swimmer, 2000; Rotsal ve ark., 2001; Dickinson ve ark., 2002; Lopez-Olvera ve ark., 2003; Montilla ve ark., 2004; Montano ve ark., 2004; Keller ve ark., 2004). Türkiye’de bulunan deniz kaplumbağalarının sağlık ve hastalık durumlarının tespiti için gerekli olan referans kan biyokimya değerleri hakkında çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle projede Türkiye Doğu Akdeniz sahilinde bulunan *Ch. mydas* kaplumbağalarının hematolojisi ve kan biyokimyası hakkında temel verilerin toplanarak, normal kan referans sınırlarının belirlenmesi amaçlanmaktadır.

MATERYAL

Çalışmanın materyalini 20 adet yavru (yumurtadan yeni çıkmış), 9 adet genç (40-70 cm uzunluğunda) ve 20 adet olgun (70-100 cm uzunluğunda 15 adet dişi ve 5 adet erkek) *Ch. mydas* kaplumbağası oluşturmuştur.

Deniz kaplumbağalarında yaş tayini yapılamamaktadır, fakat yeşil kaplumbağaların seksüel olgunluğa 25-50 yaşlarında ulaştıkları ve olgun kaplumbağaların boy uzunluğunun 70-100 cm arasında değiştiği bildirilmektedir (Anonim, 1991). Bu nedenle çalışmada kaplumbağaların karapaks boyu ölçülerek, karapaks uzunluğu

40cm'den aşağı olanlar yavru, 40-70 cm arasında olanlar genç, 70 cm ve üzerinde olanları ise ergin kaplumbağa olarak kabul edildi. Yakalan kaplumbağalarda cinsiyet ayrımı ise kan testesteron ve 6strojen seviyelerinin 6l6m6 6le yapıldı. Ergin kaplumbağalarda testesteron ve 6strojen hormonları seviyelerinde dişi ve erkek kaplumbağalar arasında istatistiksel bir fark bulunması ile cinsiyet ayrımı yapılabilirdi. Fakat bu çalışmada yavru ve genç kaplumbağaların testesteron ve 6strojen seviyelerinde fark çıkmamıştır. Bolten ve Bjorndal (1992)'in G6ney Bahamalar'da yaptıkları çalışmada, genç *Ch. mydas* kaplumbağalarında testesteron hormon değereri 10 pg/ml'den aşağı olanları dişi, 20 pg/ml'den yukarı olanları ise erkek olarak kabul etmişlerdir. Bu çalışmada yavru ve gençlerin testesteron değerlerinin sırasıyla 15.5 ve 17.8 pg/ml olarak bulunması nedeni ile, yavru ve genç kaplumbağalarda cinsiyet ayrımı yapılamadı.

1. Kaplumbağaların Yakalanması

Kaplumbağa 6rnekleri 2006-2009 yılları arasında Samandağ sahili (36⁰09''-36⁰18'' enlem ve 35⁰54''- 35⁰58'' boylamları) ve Karataş sahilinde (35⁰55''-35⁰56'' enlem ve 36⁰52''- 36⁰53'' boylamları) motorla denize açılmalar sırasında yapılan dip trol6, ortasu trol6 ve trata uygulamaları ile yakalanan kaplumbağalar ve Samandağ kumsalında yaz aylarında (Haziran-Eyl6l6 arası) yuvalamaya çıkan dişiler ve onların yumurtadan çıkan yavrularından alındı. Yuvalamak için karaya çıkan dişi kaplumbağalardan 6rnekler, hayvanı strese sokmamak için, yuvalamayı bitirdikten sonra, denize geri d6n6ř sırasında alındı. Doku ve kan 6rnekleri alınan deniz kaplumbağaları,

tekrar örnek alınmasını önlemek için, pit tag (pasive integrated system) ile markalandı.

2. Kaplumbağaların Anestezisi Ve Kan Örneklerinin Alınması

Yakalanan kaplumbağalar vücut çapına uygun araba tekerleri üzerinde tesbit edildikten sonra, öncelikle fiziki muayene yapıldı. Yakalama stresini azaltmak için hayvanlar 15-30 dakika dinlendirildi. Anestezi uygulamaları yavru, juvenil ve erişkinlerde dorsal sinus vena'dan gerçekleştirildi. Anestezi uygulamalarında hayvanların sakinleştirilmesi için premedikasyon olarak medetomidine (0,02-0,03 mg /kg, Domitor) veya midazolam (1-2 mg /kg, Dormicum), genel anestezik olarak ise ketamin hydrochloride (10-20 mg/kg, Alfamine) veya tiletamine-zolezepam (1-2 mg/kg, Zoletil) iv olarak kullanıldı. Anesteziden sonra kan örnekleri steril koşullar altında dorsocervikal sinusdan direkt olarak sodyum heparinli kan tüplerine erişkin ve juvenillerde vacutainer ile, yavrularda ise insülin iğneleri yardımıyla alındı. Alınan kan örneklerinin bir kısmı hematolojik analiz için kullanılırken, geri kalan kısım ise 3000 rpm'de 10 dak. santrifüj edildi (NF 200, NÜVE). Plazmaları çıkarıldıktan sonra, plazma örnekleri analizler yapılincaya kadar -86 °C'de donduruldu.

3. Kaplumbağa Kanlarının Hematolojik Analizi

Kaplumbağa kanlarının hematolojik analizi için NATT ve Herrick'in (1952) bildirdiği yöntemle, kan örneklerinde eritrosit ve lökosit sayımı yapıldı. Mikrohematokrit yöntemle hematokrit değer tayini yapıldı. Lökosit tiplerinin belirlenmesinde May-Grünwald-Giemsa boyama

yöntemi kullanıldı. Lökositlerin; heterofil, eozinofil, bazofil, lenfosit ve monosit olarak tiplendirilmesi yapılarak yüzde oranları belirlendi.

4. Kaplumbağa Kanlarının Biyokimyasal Analizi

Ch. mydas kaplumbağalarının sağlık-hastalık durumunun ortaya konulması için gerekli olan referans değerlerin belirlenmesi için, kaplumbağa kanlarında biyokimyasal kan parametrelerine (kan glikoz, üre, ürikasit, kreatinin, kolesterol, trigliserid, total protein, bilirubin, aspartat transaminaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalın fosfataz (ALP), gama-glutamil transferaz (GGT), laktat dehidrogenaz (LDH), sodyum (Na), Potasyum (K), Kalsiyum(Ca), Fosfor (P), Mağnezyum (Mg), Klor (Cl) değerleri) ve hormon düzeylerine (Testesteron, Östradiol) bakıldı. Biyokimyasal parametreler *Ch. mydas* kanlarında ticari otoanalizör kitleri (Teco diagnostics, California, U.S.A) ile otoanalizörde (XL-600, Erba, İndia) bakıldı.

Plazma hormon düzeyleri belirlenirken, ergin dişi olduğu (östrojen ve testesteron seviyelerine göre) belirlenen kaplumbağalar, örneklerin alınma zamanına göre 3 gruba (yaz, ilkbahar ve sonbahar) ayrılmıştır. Plazma Testesteron (Catalog No: 582601), Östradiol (Catalog No: 582251) DRG (USA) enzim immunoassay test kitleri kullanıldı. ELİSA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay) kit okumaları µQuant mikropleyt spektrofotometre (BioTek Instruments, U.S.A.) ile yapıldı.

5. İstatistiksel Analiz

Gruplar arasındaki istatistiksel farklar tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ve Duncan Testi kullanılarak değerlendirildi. Elde

edilen sonuçlar $X \pm SE$ olarak verildi. $p < 0,05$ ve altı istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Türkiye Samandağ sahilinde bulunan *Ch. mydas* kaplumbağalarının kan hematoloji ve biyokimya değerleri bu çalışma ile belirlenmiştir. *Ch. mydas* kaplumbağaların yaşa (yavru, genç, ergin) ve cinsiyete (dişi, erkek) göre kan hematoloji değerleri Tablo 1’de, kan biyokimya değerleri Tablo 2’de verilmiştir. Ayrıca *Ch. mydas* kaplumbağalarının yaşa (yavru, genç,ergin) ve cinsiyete (dişi, erkek) göre kan enzim aktivite değerleri Tablo 3’de, mineral madde düzeyleri ise Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 1. Samandağ *Ch mydas* Kaplumbağalarının Kan Hematoloji Değerleri

Fizyolojik Kan Parametreleri	Yavru (n=20)	Genç (n=9)	Ergin Dişi (n=15)	Ergin Erkek (n=5)
Karapaks Boyu	12.6 ± 1.5 ^a	48.7 ± 5.2 ^b	89.1 ± 6.3 ^c	92.7 ± 6.8 ^c
Alyuvar Sayısı (10 ⁹ /mm ³)	422.45± 18.62 ^a	370.16± 19.72 ^b	388.57± 15.84 ^b	378.12± 14.69 ^b
Akyuvar Sayısı (10 ³ /mm ³)	22.34± 1.93 ^a	18.68± 1.84 ^b	19.43± 1.76 ^b	18.73± 1.28 ^b
Hematokrit (%)	40.12± 1.85 ^a	32.79± 2.47 ^b	33.37± 2.22 ^b	35.2± 2.14 ^b
Heterofil (%)	34 ± 1.02 ^a	35,7 ± 2.18 ^a	60.3 ± 6.25 ^b	58.5 ±9.48 ^b
Eozinofil (%)	3.54 ± 0.18 ^a	4.23 ± 0.37 ^b	4.14 ± 0.42 ^b	5.16 ± 0.94 ^c
Bazofil	-	-	-	-
Lenfosit (%)	24.75 ± 0.69 ^a	27.07 ± 0.63 ^a	34.57 ± 0.94 ^b	36.65 ± 0.42 ^b
Monosit (%)	0.58± 0.17	0.63± 0.09	0.71± 0.29	0.68± 0.17
Total Hemoglobin (g/dL)	11.15± 1.35	11.86± 1.02	13.19± 1.05	12.6± 1.83

^{a,b,c} aynı satırda istatistiksel olarak önemlilik olduğunu göstermektedir (P<0.05)

Tablo 2. *Ch mydas* Kaplumbağalarının Kan Biyokimya Değerleri

Biyokimya Parametreleri	Yavru (n=20)	Genç (n=9)	Ergin Dişi (n=15)	Ergin Erkek (n=5)
Glukoz (mg/dl)	65.7± 1.86 ^a	91.8± 2.19 ^b	132.7± 3.67 ^c	147.4± 4.26 ^c
Total Kolesterol (mg/dl)	197.3± 16.1 ^a	210.3± 18.6 ^a	345.3± 23.8 ^b	272.1± 21.5 ^c
Kreatinin (mg/dl)	0.05± 0.01 ^a	0.19± 0.008 ^b	0.12± 0.019 ^c	0.14± 0.010 ^c
Trigliserit (mg/dl)	128.5± 18.7 ^a	171.44± 22.4 ^b	284.83± 36.3 ^c	196.94± 27.3 ^b
Total Protein (g/dl)	4.6± 0.87 ^a	4.72± 0.12 ^a	5.25± 0.33 ^b	5.17± 0.28 ^b
Albumin (g/dl)	1.93± 0.20 ^a	2.02± 0.29 ^a	2.97± 0.36 ^b	2.81± 0.42 ^b
Üre (mg/dl)	4.33± 1.17 ^a	4.72± 0.48 ^b	4.83± 0.79 ^b	4.78± 0.57 ^b
Ürik asit (mg/dl)	0.93± 0.03 ^a	1.53± 0.06 ^b	1.72± 0.13 ^c	1.56± 0.11 ^b
Total Bilirubin (mg/dl)	0.018± 0.004 ^a	0.020± 0.004 ^a	0.026± 0.005 ^b	0.024± 0.003 ^b
Direk Bilirubin (mg/dl)	0.008 ±0.001 ^a	0.009± 0.001 ^a	0.013± 0.002 ^b	0.014± 0.001 ^b

^{a,b,c} aynı satırda istatistiksel olarak önemlilik olduğunu göstermektedir (P<0.05)

Türkiye Samandağ sahilinde bulunan *Ch. mydas* kaplumbağaların kan enzim aktivite değerleri Tablo 3'te, mineral madde düzeyleri ise Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3. *Ch mydas* Kaplumbağalarının Kan Enzim Aktivite Değerleri

Enzim Parametreleri	Yavru (n=20)	Genç (n=9)	Ergin Dişi (n=15)	Ergin Erkek (n=5)
AST (IU/L)	151.3± 10.73 ^a	163.2±11.86 ^b	168.5±12.17 ^b	179.7±12.23 ^c
GGT (IU/L)	3.83± 1.60 ^a	4.9± 2.42 ^b	5.4± 2.53 ^b	5.1± 2.46 ^b
ALT (IU/L)	4.9± 0.73 ^a	5.4±0.39 ^a	9.30±1.28 ^b	14.9±2.46 ^c
Amilaz (IU/L)	109± 12.73 ^a	229.89±13.73 ^b	230.17±17.80 ^b	232.36±16.24 ^b
ALP (IU/L)	29.21± 2.58 ^a	32.36± 1.86 ^a	76.17± 4.85 ^b	54.12± 3.32 ^c
LDH (IU/L)	127.83± 8.19 ^a	149.2± 11.26 ^b	155.3± 14.34 ^b	152.8± 9.47 ^b

^{a,b,c} aynı satırda istatistiksel olarak önemlilik olduğunu göstermektedir (P<0.05)

Tablo 4. *Ch mydas* Kaplumbağalarının Kan Elektrolit Değerleri

Mineral madde değerleri	Yavru (n=20)	Genç (n=9)	Ergin Dişi (n=15)	Ergin Erkek (n=5)
Kalsiyum (mg/dl)	8.5±0.44 ^a	8.8±0.96 ^a	16.8±1.97 ^b	12.1±1.23 ^c
Fosfor (mg/dl)	3.9±0.26 ^a	4.1±0.32 ^a	7.4±0.81 ^b	5.3±0.96 ^c
Sodyum (mEq/L)	137.0± 4.82 ^a	141.97± 3.59 ^a	153.84± 5.73 ^b	150.83± 4.68 ^b
Potasyum (mEq/L)	3.64± 0.34 ^a	3.79± 0.62 ^a	5.84± 1.12 ^b	5.72± 1.09 ^b
Magnezyum (mg/dl)	1.46±0.04 ^a	1.53±0.06 ^a	1.84 ± 0.14 ^b	1.72±0.52 ^b
Klor (mEq/L)	98.5± 7.51 ^a	105.2± 6.29 ^a	107.8± 7.12 ^a	102.6± 8.34 ^a

^{a,b,c} aynı satırda istatistiksel olarak önemlilik olduğunu göstermektedir (P<0.05)

TARTIŞMA

Deniz kaplumbağalarının nesli tehlike altında olması nedeni ile, bilim adamları bu türlerle çok ilgilenmektedir. Fakat deniz kaplumbağaları gibi, doğada yaşayan hayvan türlerinde örnek toplanması zor olduğundan, referans kan değerlerinin belirlenmesi de zordur. Referans kan değerleri, hayvanların sağlık-hastalık, beslenme ve üreme durumlarının belirlenmesinde büyük önem taşır (Yaralıoğlu ve ark., 2004). Çoğu deniz kaplumbağası için normal hematolojik ve biyokimyasal değerler bildirilmesine rağmen (Aguirre ve ark., 1995; Hasbun, 1998; Swimmer, 2000; Rotsal ve ark., 2001; Dickinson ve ark., 2002; Lopez-Olvera ve ark., 2003; Montilla ve ark., 2004; Montano ve ark., 2004; Keller ve ark.,2004), Türkiye’de bulunan deniz kaplumbağalarının hematolojisi, biyokimyası ve hormonal değerleri hakkında herhangi bir bilgi yoktur.

Bu çalışmada yavru *Ch. mydas* kaplumbağalarında kırmızı ($422.45 \cdot 10^9/\text{mm}^3$) ve beyaz ($22.34 \cdot 10^3/\text{mm}^3$) kan hücre sayıları ile hematokrit değeri (% 40.12), genç ve ergin kaplumbağalardan daha yüksek bulunmuştur (Tablo 1). Çalışmada kırmızı kan hücre sayıları, Wells ve Baldwin (1995)'nin ve Hasbun (1998)'nin ergin *Ch. mydas* kaplumbağalarında bulduğu değerler ile benzerlik gösterirken, Wells ve Baldwin (1995)'nin yavrular için bulduğu değerden çok düşüktür. Samour ve ark. (1998)'in Birleşik Arap Emirliği sahillerinde bulunan *Ch. mydas* kaplumbağaları ile yaptıkları çalışmada, genç, ergin dişi ve erkek kaplumbağalar için buldukları kırmızı kan hücre sayıları, bu çalışmada bulunan değerler ile benzerdir.

Çalışmada total hemoglobin düzeyi gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamasına rağmen, en yüksek dişi *Ch. mydas* kaplumbağalarında (13.19 g/dL) bulunmuştur. Çalışmada bulunan hemoglobin düzeyleri, Wells ve Baldwin (1995)'nin yavru ve ergin kaplumbağalar için bulduğu değerlerden yüksektir. Samour ve ark. (1998)'in genç, dişi ve erkek ergin *Ch. mydas* kaplumbağaları için bulduğu değerler ile benzerdir.

Bu çalışmada belirlenen beyaz kan hücre sayıları, Samour ve ark. (1998) ve Hasbun (1998)'nin ergin *Ch. mydas* kaplumbağalarında bulduğu değerlerden oldukça yüksekken, Work ve Balazs (1999)'in genç *Ch. mydas* kaplumbağaları için bulduğu değerler ile benzerlik göstermektedir. Heterofil, lenfosit, monosit ve eozinofil düzeyleri ise, Work ve Balazs (1999)'in genç kaplumbağalarda, Samour ve ark.

(1998)'ın ergin dişi ve ergin erkek *Ch. mydas* kaplumbağalarında bulunduğu değerlerden yüksektir.

Kaplumbağa hematokrit değerleri ise Bolten ve Bjorndal (1992), Work ve Balazs (1999), Southwood ve ark.(2003) ve Whiting ve ark. (2007)'ın genç *Ch. mydas* kaplumbağaları için bulunduğu değerler ve Hasbun (1998) ve Flint ve ark. (2010)'ın ergin *Ch. mydas* kaplumbağalarında bulunduğu değerler ile benzerlik gösterirken, Wells ve Baldwin (1995)'nin yavru ve ergin kaplumbağalar için bulunduğu değerlere göre yüksek olmasına rağmen, kan hematokrit değerlerinin yavru kaplumbağalarda erginlerden daha yüksek bulunması yönünden benzemektedir. Kan hematokrit değerinin beslenme, sağlık durumu, egzersiz ve stres gibi durumlardan etkilenebileceği bildirilmiştir (Bolten ve Bjorndal, 1992). Yapılan bu çalışma ile, kırmızı ve beyaz kan hücre sayıları ve hematokrit değerinde yaş ile beraber bir düşüş olduğu ve cinsiyet yönünden bir farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmada glukoz değerleri en yüksek olarak ergin dişi (132.7 mg/dl) ve ergin erkek (147.4 mg/dl) kaplumbağalarda belirlenmiş olup, yaşla beraber glukoz değerinde istatistiksel olarak bir artış ($P<0.05$) olduğu ve cinsiyete göre değişmediği görülmüştür. (Tablo 2). Hamann ve ark. (2006) yeşil kaplumbağalarda yaşla birlikte kan glukoz değerinin düştüğünü bildirmiştir. Çalışma ile elde edilen sonuçlar, Bolten ve Bjorndal (1992)'ın ve Swimmer (2000)'ın genç yeşil kaplumbağalarda bulunduğu değerler ile benzer olmasına rağmen, Hamann ve ark. (2006)'ın genç ve ergin kaplumbağalarda bulunduğu glukoz değerlerinden yüksektir.

Bu çalışmada en yüksek kolesterol ve trigliserit değerleri dişi *Ch. mydas* kaplumbağalarına aittir. Kolesterol ve trigliserit için belirlenen değerler, Bolten ve Bjorndal (1992)'ın genç yeşil kaplumbağalarda bulunduğu değerlerle benzer olmasına rağmen, Swimmer (2000)'ın değerlerinden yüksektir. Ayrıca Hasbun ve ark. (1998) Birleşik Arap Emirliği sahillerinde yaptıkları çalışmada, ergin yeşil deniz kaplumbağalarında total kolesterol düzeyini 226.08 mg/dL olarak belirlemişlerdir. Çalışmada ergin kaplumbağalar için bulunan değerler, Hasbun ve ark. (1998)'nın bulunduğu değerlerden yüksektir. Çalışmada total kolesterol ve trigliserit değerleri dişilerde, erkeklerden daha yüksek ($P<0.05$) bulunmuştur. Dişilerde kolesterol ve trigliserit değerlerinin yüksek bulunması, yağ katabolizması ve vitellogenesis ile ilişkili olabilir (Dickinson ve ark., 2002).

Total protein ve albumin düzeylerinin özellikle herbivorlarda, beslenme düzeyinin iyi bir göstergesi olduğu belirlenmiştir (Colores ve ark., 1992). Çalışmada total protein ve albumin değerleri en yüksek olarak ergin kaplumbağalarda belirlenmiştir (Tablo 2). Total protein ve albumin değerleri, Aguirre ve Balazs (2000) ve Whiting ve ark. (2007)'ın genç *Ch. mydas* kaplumbağalarında, Hasbun ve ark. (1998) ve Flint ve ark. (2009)'ın ergin kaplumbağalarda bulunduğu değerler ile benzerdir. Whiting ve ark. (2007), yeşil deniz kaplumbağalarında, çalışmamıza benzer olarak, yaşla beraber total protein, albumin ve globulin değerlerinin arttığını belirlemişlerdir. Benzer sonuçlar *Ca. Caretta*'larda da belirlenmiştir (Frair ve Shah, 1982). Yaşla birlikte albumin ve protein değerlerinin değişmesi, kaplumbağaların beslenme şekillerindeki değişikliği yansıtabilir (Hamann ve ark. 2006).

Çalışmada erginlerde total protein ve albumin değerlerinin cinsiyete göre değişmediği belirlenmesine rağmen, Hamann ve ark. (2006) ergin dişi *Ch. mydas* kaplumbağalarında total protein ve albumin düzeylerini, ergin erkek kaplumbağalardan daha yüksek olarak belirlemişlerdir. Plazma ürik asit değeri de protein alımı ile ilişkilidir ve özellikle etçil sürüngenlerde beslenmeden sonra oluştuğu gösterilmiştir (Dickonson ve ark., 2002). Çalışmada plazma ürik asit düzeyi, en yüksek olarak ergin dişi kaplumbağalarda (1.72 mg/dl) bulunmuştur. Ürik asit düzeyinin yaş ile arttığı ($P<0.05$) ve cinsiyete göre de farklılık olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Hamann ve ark. (2006)'da Avusturalya yeşil deniz kaplumbağalarında benzer sonuçlar bulmuştur. Ürik asit için belirlenen değerler, Bolten ve Bjorndal (1992) ve Swimmer (2000)'nin genç kaplumbağalar için bulduğu değerler ile benzerdir.

Üre ve kreatinin kaplumbağalarda protein katabolizmasının önemli bir göstergesidir (Whiting ve ark. 2002). Çalışmada üre ve kreatinin değerlerinde cinsiyete göre farklılık belirlenmemiştir. Bolten ve Bjorndal (1992)'in genç kaplumbağalarda üre ve kreatinin için bulduğu değerler, çalışmanın değerlerinden yüksekken, Aguirre ve Balazs (2000)'in genç kaplumbağalar için bulduğu değerlerle benzerdir. Çalışmada ergin kaplumbağalar için bulunan değerler ise, Hasbun ve ark. (1998)'in bulduğu değerlerden düşüktür. Düşük üre ve kreatinin miktarı, Samandağ sahilinde bulunan kaplumbağaların proteince düşük beslendiğinin göstergesi olabilir (Whiting ve ark. 2002)

Çalışmada en yüksek total bilirubin ve direk bilirubin değerleri ergin kağlumbağalarda belirlenirken, ergin kaplumbağalarda cinsiyetler arasında farklılık olmadığı belirlenmiştir (Tablo 2). Bulunan değerler, Bolten ve Bjorndal (1992) ile Aguirre ve Balazs (2000)'ın genç kaplumbağalar için bulduğu değerlerden düşüktür. Bilirubin değerlerinin karaciğer fonksiyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Dickinson ve ark., 2002).

Çalışmada en yüksek demir konsantrasyonu ergin erkek kaplumbağalarda (88.4 µg/dl) belirlenmiştir (Tablo 2). Çalışmada bulunan demir konsantrasyonları Bolten ve Bjorndal (1992) ve Aguirre ve Balazs (2000)'ın genç kaplumbağalarda bulduğu değerler ile benzerdir. Hamann ve ark. (2006)'a benzer olarak, çalışmada demir konsantrasyonları yaşa ve cinsiyete bağlı olarak değişmiştir. Enfeksiyon sırasında demir konsantrasyonunun düştüğü, çeşitli sürüngen ve memeli hayvanda gösterilmiştir (Aguirre ve Balazs, 2000).

Enzimler, hayvan ve insanlarda hastalık teşhisinde kullanılan önemli parametrelerdir. Aspartat aminotransferaz (AST) karaciğerden sonra en fazla olarak miyokard hücresinde bulunan sitoplazmik bir enzimdir. Dolayısı ile bu dokuların hasarında bu enzimin serum düzeyleri erkenden yükselir. AST düzeyindeki artış vücuttaki hücre hasarının düzeyi ile orantılıdır ve bu nedenle, hasarın ilerlemesi veya iyileşme sürecinin takibinde önemli bir belirteçtir (Lott ve Stang, 1980). Alanin aminotransferaz (ALT), karaciğer hücre harabiyetinde artış gösteren önemli bir enzimdir. Hepatit ve siroz gibi karaciğer

parankim hastalıklarının yanı sıra, kalp yetmezliği, akut miyokard enfarktüsü ve kas distrofilerinde de ALT artışı gözlenir (Şentürk ve ark., 2004). AST ve ALT gibi enzimler deniz kaplumbağalarında da teşhis amacı ile kullanılabilir (Whiting ve ark. 2007). Çeşitli türlerde iskelet kası, kalp kası ve karaciğer hücre membranının hasar görmesi durumlarında, bu enzimler hücrelerden kana karışır (Swimmer, 2000). Çalışmada en yüksek Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) seviyeleri ergin erkeklerde tespit edilmiştir (Tablo 3). Kaplumbağalarda AST ve ALT seviyelerinin cinsiyete göre değiştiğini, Hamann ve ark. (2006)'da belirtmiştir. Kaplumbağalarda AST seviyesinin erkek kaplumbağalarda yüksek olması, erkeklerde çiftleşme mevsimine bağlı olarak aktivitesinin artmasına bağlı olabilir. Çalışmada AST ve ALT için bulunan değerler, önceki çalışmalar ile benzerdir (Swimmer, 2000; Whiting ve ark., 2007). Deniz kaplumbağalarında AST ve ALT aktivitesinin fibropapillomatoziste arttığı gösterilmiştir (Swimmer, 2000).

Alkalin fosfataz (ALP) çok çeşitli dokularda bulunan memrana bağlı bir enzimdir. ALP aktivitesinin % 95'i karaciğer ve kemik kaynaklıdır (Swimmer, 2000). Çalışmada en yüksek aktivite ergin dişilerde 76.17 IU/L olarak belirlenmiştir. ALP aktivitesi için belirlenen değerler, Bolten ve Bjorndal (1992)'den düşük iken, Aguirre ve Balazs (2000) 'nin genç kaplumbağalar için belirlediği değerlerle benzerdir. Sürüngenlerde yüksek ALP aktivitesinin, hiperparatiroidizm, Paget hastalığı gibi çeşitli kemik hastalıkları ve böbrek yetersizliğinde görüldüğü bildirilmiştir (Frye, 1981).

Laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi, laktik asidi piruvik aside çeviren sitoplazmik bir enzimdir. Hücre içi LDH düzeyleri serumdakinden 500 kat daha fazla olduğu için, serumdaki en ufak bir artış hücre hasarının bir göstergesidir. LDH vücuttaki hemen hemen her dokuda bulunsa da, LDH1 miyokard dokusuna özgüdür ve total LDH aktivitesine paralel bir seyir gösterir (Collinson, 2000). Gama-Glutamil Transferaz (GGT) ise bir membran enzimidir. Karaciğerde, böbrekte, beyinde, prostatda ve pankreasta bulunur. GGT enziminin hepatitte, sirozda ve kanserde arttığı bildirilmiştir (Gürel, 2008). Amilaz pankreas, tükürük bezleri ve salgınmaktadır. Kandaki amilazın genellikle üçte biri pankreas, üçte ikisi ise tükürük bezleri kaynaklıdır. Yüksek kan amilaz düzeyi pankreatitte ve bazı kanser türlerinde (örn. akciğer) görülür (GÜREL, 2008). Çalışmada gama glutamil transferaz (GGT), Laktat dehidrogenaz (LDH) ve Amilaz enzim aktivitelerinde genç ve ergin kaplumbağalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Aguirre ve Balazs (2000)'in genç kaplumbağalar için belirlediği GGT aktivite değerleri bu çalışmada belirlenen değerlerden düşük iken, LDH aktivite değerleri yüksektir. Fakat çalışmada belirlenen LDH aktivitesi, Bolten ve Bjorndal (1992) ile Flint ve ark. (2009)' un deniz kaplumbağaları için belirlediği değerler ile benzerdir. Çalışmada ergin kaplumbağaların GGT, LDH ve amilaz aktivitesinde cinsiyete göre bir fark bulunmamıştır.

Deniz suyu ve deniz kaplumbağalarının besinleri, vücut sıvıları tuz konsantrasyonunun yaklaşık 3 katını içerir. Esas olarak sodyum (Na) ve klor (Cl)'dan oluşan, fakat magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca) ve potasyumu (K) da içeren tuz iyonları, kaplumbağanın kafasında

bulunan lakrimal bezlerden salgılanır. Tuz bezleri her zaman aktif değildir. Deniz kaplumbağalarının geniş aralıklardaki plasma tuz değerini tolere ettiği gösterilmiştir (Whiting ve ark. 2007). Çalışmada en yüksek Ca, Na, K, Mg, P düzeyleri ergin kaplumbağalarda belirlenmiştir. Cl düzeylerinde yaşa ve cinsiyete göre bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 4). Çalışmada bulunan değerler, daha önce yapılan çalışmalara göre düşüktür (Bolten ve Bjorndal, 1992; Hasbun ve ark. 1998; Aguirre ve Balazs, 2000; Southwood ve ark. 2003; Hamann ve ark. 2006; Whiting ve ark., 2007). Çalışmada dişilerde Ca (16.8 mg/dl) ve P (7.4 mg/dl) değeri en yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum dişilerde vitellogenesis ile ilişkili olabilir. Çünkü Ca'un dişilerde vitellogenesisin göstergesi olduğu belirlenmiştir (Dickinson ve ark. 2002).

SONUÇ

Bu çalışma ile Doğu Akdeniz bölgesinde bulunan *Ch mydas* kaplumbağalarının referans kan değerleri belirlenmiştir. Sürüngenlerde ve deniz kaplumbağalarında referans kan değerleri sağlık-hastalık, beslenme ve üreme siklusunun belirlenmesinde önemlidir. Bu nedenle çalışmada Doğu Akdeniz sahillerinde bulunan *Ch. mydas* kaplumbağasının kan biyokimya değerlerinin yaşa (yavru, genç, ergin) ve cinsiyete (erkek, dişi) göre ayrı ayrı belirlenmesi ile, nesli tehlike altında olan bu türün popülasyonunun kontrol altına alınarak, hastalıkları yönünden önlem alınması ve tedavilerinin yapılması mümkün olacaktır. Ayrıca Türkiye sahillerinde bulunan ve nesli tehlike altında olan diğer kaplumbağa türlerinin (*Caretta caretta*

gibi) sağlık hastalık yönünden izlenmesinde de bu çalışma ile elde edilen veriler yararlı olacaktır.

Bu çalışma TÜBİTAK (TOVAG 1050207) tarafından desteklenmiştir. Ayrıca bu çalışma için Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik kurulundan (Onay No:2005/023), Türkiye Orman ve Su işleri Bakanlığından (Onay No:414-5632) ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığından (Onay No: 01-2378) onay alınmıştır.

KAYNAKÇA

- Aguirre, AA. (1996). Plasma biochemistry values of green turtles with and without fibropapillomas in the Hawaiian Islands. U.S. Department of Commerce, Washington, D.C., 15 pp.
- Alaçam, E. (2002). Hormonların klinik kullanımı. Alaçam E. Ed, Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 4.Baskı, Ankara: Medisan sf:41-54.
- Alaçam, E. (1994). Reprodüktif hormonların klinikte kullanımları. Alaçam E. Ed, Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 1.Baskı, Ankara: Medisan.
- Al-Hasbi, A.A., Alkindi, A.Y., Mahmoud, I.Y., Owens, D.W., Khan, T., Al-Abri, A. (2006). Plasma hormone levels in the green turtles *Chelonia mydas* during peak period of nesting at Ras Al-Hadd-Oman. *J.Endocrinol*, 191(1), 9-14.
- Anonim. (1991). The Atlantic Green Turtle (*Chelonia mydas*). Erişim Adresi: www.turtles.org Erişim Tarihi: 05.03.2005.
- Baran, İ., Kasperek, M. (1989). Marine Turtles in Turkey: Status Survey 1988 and Recommendations for Conservation and Management. Heidelberg, Germany: World Wide Fund for Nature, 123pp.
- Baran, İ., Türkozan, O. (1996). Nesting activity of the loggerhead turtle, *Caretta caretta*, on Fethiye Beach, Turkey in 1994. *Chelonian Conservation and Biology*, 2(1), 93-968.
- Baran, İ., Durmuş, S.H., Türkozan, O. (1998). Erster Nachweis der Lederschildkröte, *Dermochelys coriacea* (Linnaeus, 1766) (Testudines: Dermochelyidae) aus türkischen Gewässern. *Herpetofauna*, 20 (112), 34.
- Baran, İ., Kumlutas, Y., Kaska, Y., Türkozan, O. (1994). Research on the Amphibia, Reptilia and Mammalia species of the Koycegiz-Dalyan Special protected area. *Tr. J. Zool*, 18, 203-219.
- Başkale, E., Kaska, Y. (2003). Koruma amaçlı deniz kaplumbağa yuvalarının taşınması. I.Ulusal Deniz Kaplumbağası Sempozyumu, İstanbul.
- Başıoğlu, M., Baran, İ.A. (1982). Short report on the sea turtle material collected from anatolian beaches. *Doğa Bilim Dergisi Temel Bilimler*, 6(2), 69-71.

- Baçoğlu, M. (1973). Sea turtles and the species found along the shores of neighbouring countries. *Türk Biyol. Derg.* 23, 12-21.
- Bolten, A.B., Jacobson, E.R., Bjorndal, K.A. (1992). Effects of anticoagulant and autoanalyzer on blood biochemical values of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Am J Vet Res*, 53, 2224-2227.
- Canbolat, A.F. (2004). A review of sea turtle nesting activity along the Mediterranean coast of Turkey. *Biol. Conserv*, 116, 81-91.
- Canbolat, A.F. (1991). An investigation on the population of *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) on Dalyan Beach (Mugla, Turkey). *Tr. J. Zool.* 15, 255-274.
- Demirayak, F. (1999). The status of the green turtle, *Chelonia mydas*, nesting habitat in Kazanlı. – Medasset, Report submitted to the 19th Meeting of the Standing Committee of the Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats (Bern Convention). Strasbourg.
- Dickinson, V.M., Jarchow, J.L., Trueblood, M.H. (2002). Hematology And Plasma Biochemistry Reference Range Values For Free-Ranging Desert Tortoises In Arizona. *Journal of Wildlife Diseases*, 38(1), 143-153.
- Flint, M., Morton, J.M., Limpus, J.C., Kane, P.C., Murray, J.P., Mills, C.P. (2010). Development and application of biochemical and haematological reference intervals to identify unhealthy green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Journal*, 185(3), 299-304
- Frair, W., Shah, B.K. (1982). Sea turtle blood serum protein concentrations correlated with carapace lengths. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 73A: 337-339.
- Frye, F.L. (1981). Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry. *Veterinary Medicine Publishing Co.*, Kansas, pp 456.
- Geldiay, R. (1984). An investigation on the conservation of the sea turtle (*Caretta caretta* and *Chelonia mydas*) population along the Aegean and Mediterranean coast of Turkey. *Doğa Bilim Dergisi, Seri A* 8:66-75.
- Geldiay, R., Koray, T., Balik, S. (1982). Status on sea turtle populations (*Caretta caretta caretta* and *Chelonia mydas mydas*) in the northern Mediterranean

- sea, Turkey. in: *Biology and Conservation of Sea Turtle* (ed. K. A. Bjorndal) pp. 425-434.
- Geldiay, R. (1983). The importance of scientific strategy on the conservation of sea turtles (*Caretta caretta* and *Chelonia mydas*). *E.Ü. Fen Fak. Dergisi, Seri B* 1:328-349.
- Gregory, L.F., Gross, T.S., Bolten, A.B., Bjorndal, K.A., Guillette, L.J. (1996). Plasma corticosterone concentrations associated with acute captivity stress in wild loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Gen Comp Endocrinol.* 104, 312-320.
- Groombridge, B. (1990). *Marine turtles in the Mediterranean; Distribution, population status, conservation: A report to the Council of Europe.* World Conservation Monitoring Centre, Cambridge, UK. p 72.
- Guillette, L.J., Bjorndal, K.A., Bolten, A.B., Gross, T.S., Palmer, B.D., Witherington, B.E., Matter, J.M. (1991). Plasma Estradiol-17 Beta, Progesterone, Prostaglandin F, and Prostaglandin E2 Concentrations During Natural Oviposition In The Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*). *Gen Comp Endocrinol.* 82,121-30.
- Gürel, A. Gama-glutamil transferaz enzimi. Erişim Tarihi: 01.01.2008 Erişim adresi: <http://saglikdanis.com>.
- Hamann, M., Schauble, C.S., Simon, T., Evans, S. (2006). Demographic and health parameters of green sea turtles *Chelonia mydas* foraging in the Gulf of Carpentaria, Australia. *Endangered Species Research*, 2, 81–88.
- Hasbun, C.R. (1998). Normal Blood Chemistry of Free Living Green Sea Turtles, *Chelonia mydas*, from the United Arab Emirates. *Comp. Hematology International*, 8,174-177.
- Hathaway, R. (1972). Sea turtles: unanswered questions about sea turtles in Turkey. *Balık ve Balıkçılık*, 20, 1-8.
- Kaska Y., Çelik A., Bağ H. Aureggi M., Özel K., Elçi A., Kaska A., Elçi L. (2004). Heavy metal monitoring in stranded sea turtles along the Mediterranean Coast of Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 13, 769-776.

- Kaska, Y., Baran, I., Ilgaz, Ç.,Turkozan, O., Oz, M., Erdogan, A. (2001). An estimation of the total nesting activity of sea turtles in Turkey Proceedings of the 21th International Sea Turtle Symposium. Philedelphia-USA.
- Kaska, Y. (1993). Investigation of *Caretta caretta* population in Patara and Kizilot. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- Kaska, Y., Kıracı, A., Kaska, A., İli, P. (2007). Dalaman ve Sarıgerme (Muğla) Kumsallarına Yuva Yapan Deniz Kaplumbağalarının Yavru ve Cinsiyet Oranlarının ve Yuva Dağılımının Araştırılması. II. Ulusal Deniz Kaplumbağaları Sempozyumu, Dalyan/Muğla, Bildiriler Kitabı, sf. 71-80.
- Kasperek, M., Godley B.J., Broderick, A.C. (2001). Nesting of the Green Turtle, *Chelonia mydas*, in the Mediterranean: a review of status and conservation needs. *Zoology in the Middle East*, 24, 45-74.
- Keller, M.K., Kucklick, J.R., Craig, A.H., Harms, C.A., Patricia, D., Mcclellan-Green, P. (2004a). Organochlorine Contaminants In Sea Turtles: Correlations Between Whole Blood And Fat. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 23(3),726-738.
- Keller, M., Kucklick, J.R., Stamper, M.A., Harms, C.A., Mcclellan-Green, P. (2004b). Associations between Organochlorine Contaminant Concentrations And Clinical Health Parameters in Loggerhead Sea Turtles from North Carolina, USA. *Environmental Health Perspectives*, 112(10),1074-1079.
- Kohel, A.K., MacKenzie, D.S., Rostal, D.C., Grumbles, J.S., Lance, V.A. (2001). Seasonality in plasma thyroxine in the desert tortoise, *Gopherus agassizii*. *Gen. Comp.Endocrinol*, 121, 214-222
- Licth, P., Wood, J.F., Wood, F.E. (1985). Annual and diurnal cycles in plasma testosterone and thyroxine in the male green sea turtle *Chelonia mydas*. *Gen Comp. Endocrinol*, 57(3), 335-44
- Lopez-Olvera, J.R., Montane, J., Marco, I., Martinez-Silvestre, A., Soler, J., Lavin, S. (2003). Effect Of Venipuncture Site On Hematologic And Serum Biochemical Parameters In Margined Tortoise (*Testudo Marginata*). *Journal Of Wildlife Disease*, 39(4),830-836.

- Lott J.A., Stang, J.M. (1980). Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. Clin Chem. 26, 1241-1250.
- Lutz, P.L., Cooper, A.D. (1981). Effect of forced submergence and low seawater temperature on the physiology and behavior of sea turtles. U.S. Department of Commerce, Washington, D.C., s 50.
- Montana, B.E., Riosmena, R., Aguirre, A., Gardner, S.C. (2004). Temporal Variability Of Hematology And Blood Biochemistry In The Black Sea Turtle *Chelonia Mydas* Agassiz (Cryptodira: Cheloniidae) In Their Natural Environment. Erişim Adresi: <http://iconferences.seaturtle.org/preview.shtml> Erişim Tarihi:15.03.2005.
- Montilla, A.F., Hernandez, J., Bravo, A. (2004). Blood Biochemistry Values Of Green Turtle (*Chelonia Mydas*) In The Gulf Of Venezuela, High Venezuelan Guajira Erişim Adresi: <http://iconferences.seaturtle.org/preview.shtml> Erişim Tarihi:15.03.2005.
- Moon, D., Owens, D.W., MacKenzie, D.S. (1999). The effects of fasting and increased feeding on plasma thyroid hormones, glucose, and total protein in sea turtles. Zool.Sci. 16, 579-586.
- Natt, M.P., Herrick, C.A. (1952). A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. Poult Sci, 31,735-738.
- Oruç, A., Demirayak, F., Sat, G. (1997). Trawl fisheries in the eastern Mediterranean and its impact on Sea Turtles, WWF & DHKD report.
- Owens, D.W. (1997). Hormones in the life history of sea turtles (Editors: P.L. Lutz, J.A. Musick). The biology of sea turtles. CRC press.
- Rostal, D.C., Owens, D.W., Grumbles, J.S., MacKenzie, D.S., Amoss, M.S. (1997). Seasonal reproductive cycle of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). General and Comparative Endocrinology, 109, 232-243.
- Rostal, D.C., Palodino, F.V., Patterson, R.M., Soptila, J.R. (1996). Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas National Park. Costa Rica. Chelonian conservation and biology (Chelonian Conserv.Biol.), 2(2), 230-236.

- Rotsal, D.C., Grumbles, J.S., Palmer, K.S., Lance, V.A., Spotila, J.R., Paladino, F.V. (2001). Changes in Gonadal and Adrenal Steroid Levels in the Leatherback Sea Turtle (*Dermochelys coriacea*) during the Nesting Cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 122,139-147.
- Samour, J.H., Howlett, J.C., Silvanose, C., Hasbun, C.R., Al-Ghais, S.M. (1998). Normal haematology of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. *Comparative Haematology International*, 8, 102–107.
- Southwood, A.L., Darveau, C.A., Jones, D.R. (2003). Metabolic and cardiovascular adjustments of juvenile green turtles to seasonal changes in temperature and photoperiod. *Journal of Experimental Biology*, 206, 4521-4531.
- Swimmer, J.Y. (2000). Biochemical Responses To Fibropapilloma And Captivity In The Green Turtle. *Journal Of Wildlife Diseases*, 36(1), 102-110.
- Şentürk, H., Canbakan, B., Hatemi, İ. (2004). Karaciğer Enzim Yüksekliklerine Klinik Yaklaşım, *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Süreli Yayınlar*, 38, 9-13.
- Türkozan, O. (2000). Reproductive Ecology of the Loggerhead turtle, *Caretta caretta* on Fethiye and Kızılot Beaches, Turkey. *Chelon. Conserv. Biology*, 3(4), 686-692.
- Türkozan, O., Baran, İ., Durmuş, H., Kaska, Y. (1998). The loggerhead turtle populations of the southwest beaches of Turkey and protection studies. s. 291-294 In: Epperly, S.P. and J. Brain (Compilers). *Proceedings of the Sixteenth Annual Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFCS-415.
- Whiting, S.D., Guinea, L.M., Limpus, J.C., Fomiatti, K. (2007). Blood chemistry reference values for two ecologically distinct populations of foraging green turtles, eastern Indian Ocean. *Comp Clin Pathol*. 16,109-118.
- Wibbels, T., Owens, D.W., Limpus, C.J., Reed, P.C., Amoss, M.S. (1990). Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating, and nesting in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Gen Comp. Endocrinol*, 79(1), 154-164.
- Work, T.M., Balazs, G.H. (1998). Causes of green turtle (*Chelonia mydas*)

- morbitidy in Hawaii. In: Epperly SP, Braun J 17 th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation. NOAA, Miami, s 291-292.
- Yalçın, Ş. (2003). Evaluation of conservation program for *Chelonia mydas* in Samandağ coast: a two-year study of monitoring on green sea turtles 1st International Conference on Environmental Research and Assessment.s. 5-12.
- Yalçın, Ş., Sönmez, B., Kayıkçı, S. (2003). Samandağ deniz kaplumbağaları 2001 ve 2002 üreme dönemi izleme çalışmaları raporu. Çevre Bakanlığı Çevre Koruma Genel Müdürlüğü, 26s.
- Yalçın-Özdilek, Ş., Sönmez, B., Özdilek, HG., Kaska, Y., Ozaner, F.S., Sangün, M.K. (2004).Samandag Kumsalı'ndaki fiziksel ve kimyasal bazı parametrelerin yeşil kaplumbağaların (*Chelonia mydas l.*, 1758) yuva dağılımı, yoğunluğu ve eşey oluşumları üzerine etkilerinin belirlenmesi ve bu konuda bir eğitim programının uygulanması (Investigation of some physical and chemical parameters' effects on green turtles' (*Chelonia mydas L.*, 1758) nest distribution, nesting density, and sex differentiation and application of an educational program on this subject. TUBİTAK YDABAG (2004). 103Y058 nolu proje raporu, Ankara.
- Yaralıoğlu, S., Şahin, T., Şındak, N., Yürekli, U.F. (2004). Investigation of some hematolojic and biochemical parameters in the serum of gazelles (*Gazella subgutturosa*) in Ceylanpınar. Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences, 28, 369-372.
- Yerli, S., Canbolat A.F. (1998). Doğu Akdeniz Bölgesindeki deniz Kaplumbağalarının Korunmasına yönelik Yönetim planı ilkeleri, ÇBÇKGM, Yayını, Ankara, 88.
- Yerli, S., Canbolat, A.F., Ozaner, S. (1997). Deniz Kaplumbağalarının Koruma Amaçlı Yönetim Planının Hazırlanması. (Sonuç Raporu). Çevre Bakanlığı Çevre Koruma Genel Müdürlüğü. Ankara.
- Yerli, S., Demirayak, F. (1996). An overview on the sea turtles in Turkey and their nesting beaches in 1995. DHKD. Rapor No:96/4, s 129.



ISBN: 978-625-7562-88-1