

44490.

T.C.  
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GUMBORO AŞISI YAPILAN CİVCİVLERDE A VE  
E VİTAMİNLERİNİN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ VE BAZI KAN  
DEĞERLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**Araş. Gör. Firuze KURTOĞLU**  
Veteriner Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman  
**Prof. Dr. Mehmet NİZAMLIOĞLU**

**T.C. YÜCE İZRETTİN KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

1995  
KONYA

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

1.	<b>GİRİŞ</b> .....	1
2.	<b>LİTERATÜR BİLGİSİ</b> .....	4
2.1.	Vitamin A .....	4
2.1.1.	Vitamin A aktivitesi ve fonksiyonları .....	9
2.1.2.	Vitamin A'nın immun sistem üzerine etkileri.....	16
2.1.3.	Vitamin A'nın diğer metabolik rolleri .....	20
2.2.	Vitamin E .....	22
2.2.1.	Vitamin E'nin fonksiyonları .....	25
2.2.2.	Vitamin E'nin immun sistem üzerine etkileri .....	29
2.3.	Vitamin A ve E arasındaki ilişkiler .....	36
2.4.	İmmun sistem hakkında genel bilgiler .....	39
2.4.1.	İmmunitenin hücresel temeli .....	39
2.4.1.1.	T lenfositler .....	40
2.4.1.1.1.	Sitotoksik T lenfositler .....	40
2.4.1.1.2.	Yardımcı (Helper) T lenfositler .....	41
2.4.1.1.3.	Baskılayıcı (Suppressör ) T lenfositler .....	41
2.4.2	Humoral immunité .....	41
3.	<b>MATERYAL ve METOT</b>	
3.1.	Materyal .....	44
3.2.	Metot .....	46
3.2.1.	Vitamin A ve E tayini .....	46
3.2.1.1	Plazma ekstraksiyonu .....	46

3.2.1.2.	HPLC analiz şartları .....	47
3.2.1.3.	Vitaminlerin HPLC'de analizi .....	47
3.2.2.	ELISA ile Ig G tayini .....	48
3.2.3.	Kan frotilerinin hazırlanması .....	49
3.2.4.	Total protein ve albumin tayini .....	49
3.2.5.	Ürik asit tayini .....	49
3.2.5.1.	Kalibrasyon eğrisinin hazırlanması .....	50
3.2.6.	AST ve ALT tayinleri .....	50
3.2.7.	Sonuçların istatistikî yönden değerlendirilmesi .....	50
4.	<b>BULGULAR</b> .....	51
5.	<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	67
5.1.	Vitamin A .....	67
5.1.1.	Vitamin A'nın immun parametreler ile ilişkisi .....	69
5.1.2.	Vitamin A'nın diğer bazı kan parametreleri ile ilişkisi .	71
5.1.2.1.	Total protein ile ilişkisi .....	71
5.1.2.2.	Albumin ile ilişkisi .....	72
5.1.2.3.	Ürik asit ile ilişkisi .....	73
5.1.2.4.	Kan hücre sayıları ile ilişkisi .....	73
5.2.	Vitamin E .....	74
5.2.1.	Vitamin E'nin T lenfosit oranları ile ilişkisi .....	75
5.2.2.	Vitamin E' nin farklı dozlarının AST ve ALT enzimleri üzerine etkisi .....	76
5.2.3.	Vitamin A ve E arasındaki ilişkiler. ....	77
6.	<b>ÖZET</b> .....	79
7.	<b>SUMMARY</b> .....	82
8.	<b>LİTERATÜR LİSTESİ</b> .....	85

9.	<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	102
10.	<b>TEŞEKKÜR</b> .....	103



## TABLOLAR

## Sayfa No

<b>Tablo I.</b>	Değişik türlerde $\beta$ -karotinin vitamin A' ya dönüşüm oranı ve normal vitamin A ihtiyaçları .....	11
<b>Tablo II.</b>	Vitamin A' nın metabolik roleri .....	15
<b>Tablo III.</b>	Hayvan türlerine göre rasyon vitamin E içerikleri .....	24
<b>Tablo IV.</b>	E.coli ile enfekte edilen kanatlılarda fagositoz, humoral immunité ve mortalite oranları .....	34
<b>Tablo V.</b>	Yüksek düzeydeki E vitamininin serum vitamin A konsantrasyonları üzerine etkisi .....	38
<b>Tablo VI.</b>	Tavuklarda yüksek düzeydeki E vitamininin bazı kan parametreleri üzerine etkisi .....	38
<b>Tablo VII.</b>	Deneme gruplarına uygulanan vitamin düzeyleri .....	45
<b>Tablo VIII.</b>	Gruplara uygulanan rasyonun % bileşimi.....	45
<b>Tablo 1.</b>	Aşılı ve aşısız gruplarda vitamin A ve E değerleri .....	52
<b>Tablo 2.</b>	Aşılı ve aşısız gruplarda total protein, albumin ve ürik asit değerleri. ....	53
<b>Tablo 3.</b>	Aşılı gruplarda akyuvar sayıları. ....	54
<b>Tablo 4.</b>	Aşısız gruplarda akyuvar sayıları.....	55
<b>Tablo 5.</b>	Aşılı ve aşısız gruplarda dönemlere göre AST ve ALT enzimlerinin değişimleri .....	56
<b>Tablo 6.</b>	Aşılı gruplarda Ig G değerleri ile aşılı ve aşısız gruplarda T lenfosit değerleri.....	57
<b>Tablo 7.</b>	Kan değerlerinin dönemlere göre istatistikî karşılaştırması .....	58

<b>Tablo 8.</b>	Kan değerlerinin aşılı ve aşısız gruplara göre istatistiki karşılaştırması .....	58
<b>Tablo 9.</b>	Kan hücrelerinin aşılı ve aşısız gruplara göre istatistiki karşılaştırması .....	58
<b>Tablo 10.</b>	İncelenen parametrelerin gruplara göre istatistiki .....	59
<b>Tablo 11.</b>	AST ve ALT enzimleri ile Ig G değerlerinin dönemlere göre . istatistiki karşılaştırması .....	59
<b>Tablo 12.</b>	Akyuvar sayılarının gruplara göre istatistiki karşılaştırması .....	59
<b>Tablo 13.</b>	AST , ALT ve Ig G değerlerinin gruplara göre istatistiki .....	60

**ŞEKİLLER****Sayfa No**

<b>Şekil 1.</b>	$\beta$ -karotinin vitamin A' ya dönüşümü.....	7
<b>Şekil 2.</b>	Retinol-retinal-retinoik asitin kimyasal yapıları .....	8
<b>Şekil 3.</b>	Vitamin A <sub>1</sub> ve A <sub>2</sub> ' nin kimyasal yapıları.....	8
<b>Şekil 4.</b>	İzopren ünitesinden köken alan yapılar .....	9
<b>Şekil 5.</b>	Vitamin A'nın mannoz transferindeki rolü .....	13
<b>Şekil 6.</b>	Membran glikoproteinlerinin şematik gösterilişi .....	14
<b>Şekil 7.</b>	Vitamin A'nın kolesterol sentezindeki rolü .....	15
<b>Şekil 8.</b>	Tokoferollerin kimyasal yapıları .....	23
<b>Şekil 9.</b>	Vitamin A ve selenyumun antioksidant aktivasyonu .....	28
<b>Şekil 10.</b>	Virus İle uyarım sonucu immun sistem fonksiyonları üzerine vitamin E' nin etkisi .....	28
<b>Şekil 11.</b>	T ve B lenfositlerin oluşumları .....	39

## GRAFİKLER

## Sayfa No

<b>Grafik I.</b>	Vitamin A yetersizliğinin ve NDV enfeksiyonunun PBL sayıları üzerine etkisi .....	19
<b>Grafik II.</b>	Aşı içerisinde farklı oranlarda katılan vitamin E' nin HI titreleri üzerine etkisi .....	33
<b>Grafik III.</b>	E.coli ile enfekte edilen kanatlılarda dalakta prostaglandin üretimi .....	34
<b>Grafik IV.</b>	Vitamin E dozlarına göre HI titrelerindeki değişimler .....	35
<b>Grafik 1.</b>	Gruplara göre plazma vitamin A düzeyleri .....	61
<b>Grafik 2.</b>	Gruplara göre plazma vitamin E düzeyleri .....	61
<b>Grafik 3.</b>	Gruplara göre serum total protein değerleri .....	62
<b>Grafik 4.</b>	Gruplara göre serum albumin değerleri .....	62
<b>Grafik 5.</b>	Gruplara göre plazma ürik asit değerleri .....	63
<b>Grafik 6.</b>	Gruplara göre serum Ig G değerleri. ....	63
<b>Grafik 7.</b>	Gruplara göre %T lenfosit değerleri .....	64
<b>Grafik 8.</b>	Gruplara göre nötrofil sayıları .....	64
<b>Grafik 9.</b>	Gruplara göre lenfosit sayıları .....	65
<b>Grafik 10.</b>	Gruplarda AST enzim değişimleri .....	65
<b>Grafik 11.</b>	Gruplarda ALT enzim değişimleri. ....	66



## 1. GİRİŞ

Vitaminler, organizmada çok az düzeylerde bulunan , büyüme, gelişme ve farklılaşma gibi birçok metabolik olaylarda etkili olan maddelerdir.

Yağda eriyen vitaminlerden olan A ve E vitaminleri hücre farklılaşması,epitel bütünlüğünün korunması, üreme ve devamının sağlanması, görme fonksiyonu gibi pek çok olaylarda önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle bu vitaminlerin hücreSEL ve humoral bağışıklığın oluşumu ve işleyişinde oldukça etkili olduğu da bildirilmektedir (10,12,15,23,25,39,41,54,77,80,109,110). Ayrıca bu çalışmalarda, vitamin A ve E'nin bağışıklık oluşumunda kanatlılarda diğer hayvanlara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Kanatlı hayvanlar, yapıları gereğince diğer hayvan türlerine göre hastalıklara, stres faktörlerine , beslenme yetersizliklerine karşı daha fazla duyarlılık gösterirler. Bundan dolayı kanatlı hayvan yetiştiriciliği oldukça riskli olup, diğer yetiştiricilik sektörlerine oranla aşılama, rasyon dengesi, hijyen gibi faktörlerde daha hassas ve dikkatli olunmasını gerektirir.

Aşılama, bu hususta en önemli etkenlerden biri olup, hayvanları hastalıklara karşı korumada büyük etkiye sahiptir. Bunun yanısıra sadece aşılama yeterli olmayıp rasyonlarda özellikle protein-enerji-vitamin dengesinin iyi ayarlanması ve düzenli bir beslenmenin sağlanması gerekmektedir.

Bu konuda yapılan çalışmalarda (37,46), protein ve enerji yetersizliklerinin bağışıklık sistemi üzerine olumsuz etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Son yıllarda da özellikle A ve E vitamini yetersizliklerinde kanatlı immün sisteminin hem hücresel hem de humoral yönde olumsuz olarak etkilendiğini belirten pek çok çalışmaya (10,22,31,63,74,79,86,87) rastlanmaktadır.

İmmün sistem faaliyetlerinin belirlenmesinde hücresel ve humoral immün faaliyetler birlikte ele alınır ve değerlendirilir. Bu faaliyetler, perifer kandaki T ve B lenfosit sayıları, aktivite yetenekleri, yine perifer kandaki makrofajların sayıları, fagositoz özellikleri, plazma hücrelerinin antikor sentezleyebilme yetenekleri olarak sınıflandırılır. Bu sistemdeki herhangi bir aksaklık immün sistemin normal işleyişini engeller (30,96,103,110,111).

IBD (İnfeksiyöz Bursal Disease) diye adlandırılan Gumboro , kanatlılarda, özellikle civciv ve piliçlerde viral olarak meydana gelen akut seyirli ve oldukça bulaşıcı bir hastalıktır (72,91,104,105). Bu hastalık bursa Fabricius'u dejenere ederek immün sistemi baskılar. Buna bağlı olarak hastalık durumlarında hayvanlarda bursa Fabricius ve timusta nekroz, aplastik anemi, akut hepatit, karaciğerde fonksiyonel bozukluklar gözlenir (84,95). Korunmada ise aşılama en iyi yöntemdir (2,130). Gumboro' ya karşı aşılanmış olan tavuklarda antikorların ELISA (Enzim Linked Immunosorbent Assay) ve QAGP (Kantitatif Agar Gel Presipitasyon)

testlerinin karşılaştırmalı olarak incelendiği çalışmalarda (3,20,66,67), ELISA ile daha yüksek titrede antikorlar ölçülebilmiş ve bu hastalıkla ilgili olarak , antikor tayini için ELISA kullanılmasının daha duyarlı sonuçlar verdiği tespit edilmiştir(21,70).

Organizmada plazma hücreleri tarafından sentezlenen Ig lerin miktar tayininde antijen türüne spesifik olmak üzere birçok metot kullanılmaktadır. Bunlar; ELISA, HI (Hemaglütinasyon İnhibisyon), QAGP, Lam Aglütinasyon gibi testler olup ,ELISA testi bu testlerin içerisinde en duyarlı sonuçları vermektedir, fakat uygulama metodları oldukça pahalı olduğundan, çoğu zaman başka testlere başvurulmaktadır.

Vitamin A, diğer besinlere oranla rasyonda yeterli miktarlarda bulunmadığı hallerde eksikliğine bağlı bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda (26,43), aşırı düzeyde vitamin E verilen Leghorn ırkı tavuklarda başlangıçta normal düzeyde olan vitamin A seviyesinin birkaç hafta sonra aşırı vitamin E 'ye bağlı olarak düştüğü görülmüştür.

Bunun yanında visseral organlardaki harabiyete bağlı olarak ALT (Alanin Amino Transferaz) başta olmak üzere AST (Aspartat Amino Transferaz), CK (Kreatin Kinaz), GGT (Gama Glutamil Transferaz) enzim seviyelerinde de artışlar olduğu kaydedilmiştir.

Yapılan bu projede, A ve E vitaminlerinin değişik miktarlarda kanatlı rasyonlarına katılmasıyla bağışıklık sistemi başta olmak üzere organizmada bazı kan değerleri üzerindeki etkilerinin tespiti ve hayvanların daha dirençli ve sağlıklı yaşamaları için rasyonlarında bulunan vitamin miktarlarının yeterli olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. LİTERATÜR BİLGİSİ

Vitaminler, hayati fonksiyonların sürekliliği ve sağlıklı bir yaşam için çok az miktarlarda gerekli olan, yetersizlik hallerinde hücresel ve dokusal değişikliklerle metabolizma bozukluklarının şekillendiği organik bileşiklerdir (6,31,93,118,123,133). Yağda eriyen vitaminlerden A ve E vitaminleri izopren ünitelerinden kurulmuşlardır (Şekil4). İzopren ünitesinden tüm yağda eriyen vitaminler, steroidler ve terpenler köken alırlar(133). Yağda eriyen vitaminler depo edilebilme özelliğine sahip olduklarından yetersizlik belirtileri kısa sürede ortaya çıkmaz (13,71,93).

Suda eriyen vitaminler ise, koenzim fonksiyonuna sahip olup yağda eriyen vitaminlerden farklılık gösterirler. İstisna olarak K vitamini koenzim fonksiyonuna sahiptir (71).

### 2.1. Vitamin A

Vitamin A kimyasal yapısı itibariyle alkol (retinol), aldehit (retinal) ve asit ( retinoik asit) olmak üzere üç formda bulunur. Retinol, daha çok vitamin A'nın doğal ve sentetik formlarını ifade eder ; insan ve hayvan vücudunda asit ve aldehit formlarına dönüşebilir (93, 129). (Şekil 2 ).

Retinol, provitamin A aktivitesine sahip bitkisel karotinoidlerden hayvansal dokularda sentezlenen bir alkoldür ve vitamin A'nın biyolojik aktivitesini ifade etmek için kullanılır. Bu nedenle A vitamini dendiği zaman retinol formu anlaşılır. Aktivitesi yüksek olan A<sub>1</sub> vitaminidir. A<sub>2</sub> vitamini ise etki yönünden oldukça zayıftır ve A<sub>1</sub> vitamininin ancak % 40 'ı kadar etki gösterir (16). Yapı bakımından ikisi arasındaki tek fark, A<sub>2</sub> vitamininde iyonon halkasının 3. ve 4. karbonları arasında ikinci bir çift bağın bulunmasıdır (Şekil 3).

Vitamin A' nın diğer sentez kaynağı ise  $\beta$  karotindir. Karotinler doymamış bir zincir ve bunun iki ucunda birer iyonon halkaları bulunduran yapılardır.  $\alpha$  ve  $\gamma$  karotinlerde 1  $\beta$  iyonon halkası bulunurken  $\beta$  karotinde 2 adet  $\beta$  iyonon halkası vardır. Karotinler ancak  $\beta$  iyonon halkası taşımaları durumunda vitamin A aktivitesine sahiptirler. Bu halkayı taşımayan ya da farklı halka yapısına sahip olan karotinoidler vitamin A aktivitesi gösteremezler (19,52,120). Doğada 400'den fazla karotinoid olmasına rağmen, bunun ancak 50 kadarı biyolojik olarak aktiftir (30).

Retinol ve karotinler emilimleri için ince barsaklarda safra, safra tuzları ve pankreatik sekresyona ihtiyaç duyarlar. Emilimden önce esterazlar tarafından hidrolize edilirler. Organizmaya alınmış olan provitamin A (Karotinoidler) intestinal hücrelerde oksidasyon ve redüksiyon aşamalarından sonra vitamin A ya dönüşür (Şekil 1 ). Daha sonra vitamin A, yağ asitlerine esterifiye olarak, transport için şilomikronlarla birleşir. Ekstra hepatik doku tarafından alınan trigliseridlerin ardından, retinil esterleri ve kolesterolden zengin şilomikron kalıntısı palmitik aside esterifiye olarak karaciğerde bu şekilde depo edilir. Salınımı ise organizmanın ihtiyacına göre düzenlenir. İntestinal, hepatik, yağ sindirimi ve pankreatik

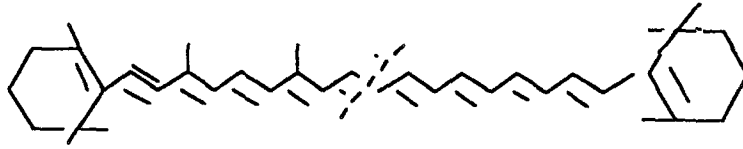
sekresyon bozuklukları, safra kanalı tıkanıklıkları, mikotoksikozis, koksidiozis, kronik diyare gibi durumlarda vitamin A emilimi azalır (31,93).

Vücuda alınan vitamin A ya da karotinoid 'in ihtiyaç fazlası miktarları emilmeden dışkı ile atılır (93,118). Ruminantlarda ise karotin ve vitamin A' nın bir kısmının rumende yıkıldığı belirtilmektedir (93).

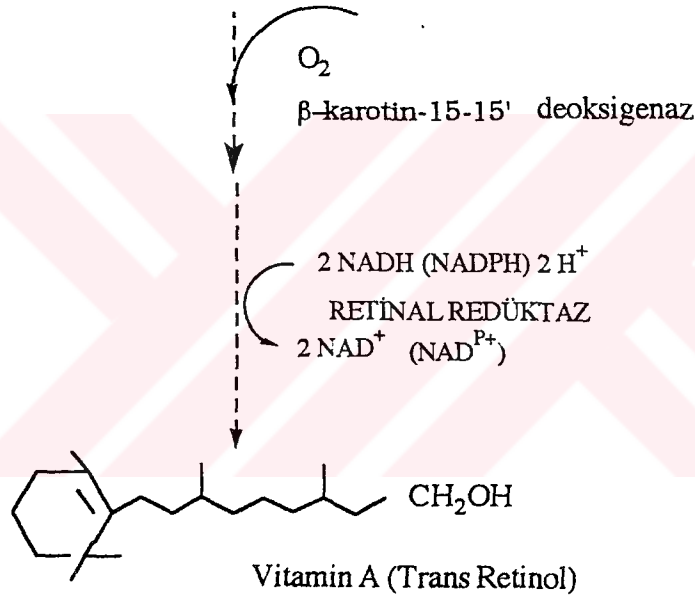
Barsak hücrelerinden emilerek şilomikronlarla taşınan ve karaciğere gelen retinol, buradaki hücrelerde bulunan Hücresel Retinol Bağlayan Protein (CRBP) ile birleşir. Bu yapı, sadece retinolu bağlamakla kalmayıp aynı zamanda hidrolizi, transportu, depolanması ve kana salınması gibi fonksiyonları da yürütür ( 9,57,58).

CRBP' lerin karaciğerde paranzim ve yağ depolayan hücrelerde bulunduğu, fakat yağ depolayan hücrelerdeki miktarlarının daha fazla olduğu belirtilmektedir. Buna ilaveten vitamin A' nın yetersiz olduğu durumlarda, karaciğer hücrelerindeki CRBP' lerin azlığı dikkati çekmiş ve bu durum CRBP'lerin vitamin A depolamasındaki rollerinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (57).

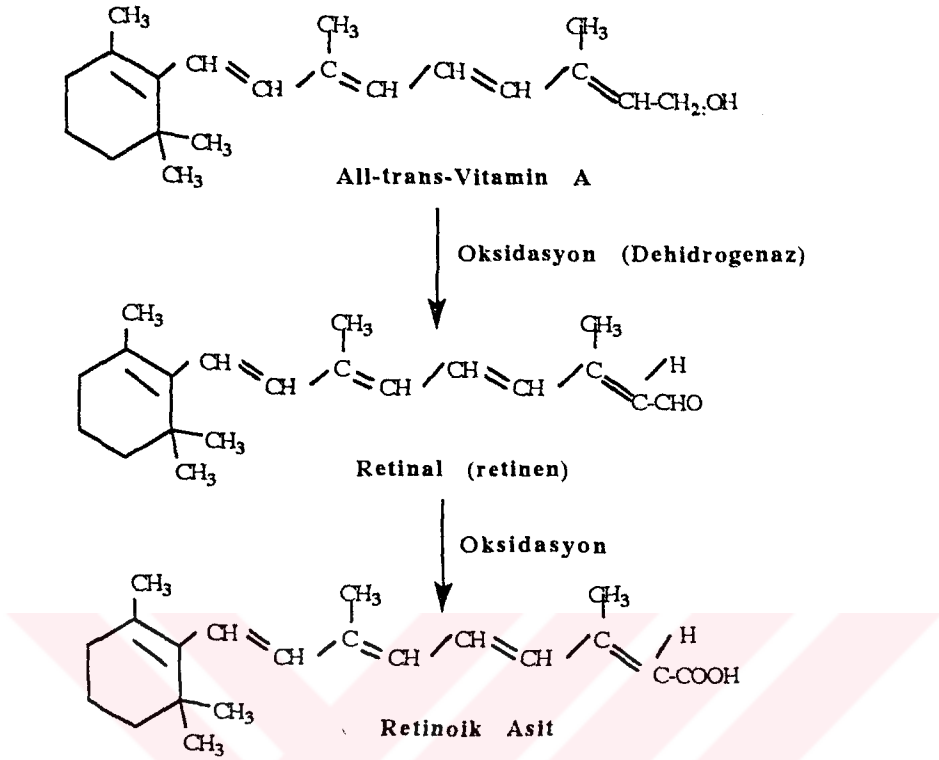
Karotinoidler ve vitamin A, depolama, yüksek sıcaklık, ışık, oksidasyon gibi etkilere uzun süre maruz kalırlarsa stabiliteleri azalır. Vitamin A'nın mineral karışımı içerisine ilave edilmesi hızlı bir şekilde yıkımlanmasına neden olur (13,93). Yapılan bir çalışmada (55), yemlerin 75-80 °C de peletlenmesi sonucunda mevcut vitamin A içeriklerinin % 6.5 oranında azaldığı ve % 3 yağ ilave edilmiş rasyonun 78 °C'de peletlenmesi ile bu yıkımın % 11.5 oranında olduğu tespit edilmiştir .



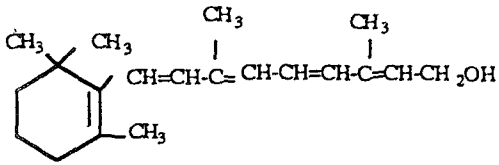
$\beta$ -Karotin



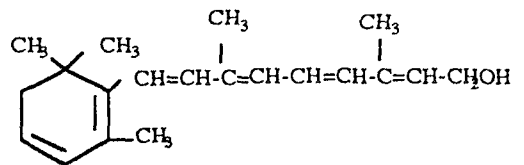
**Şekil 1.  $\beta$ -karotinin vitamin A' ya dönüşümü**



**Şekil 2. Retinol, retinal ve retinoik asit' in kimyasal yapıları**



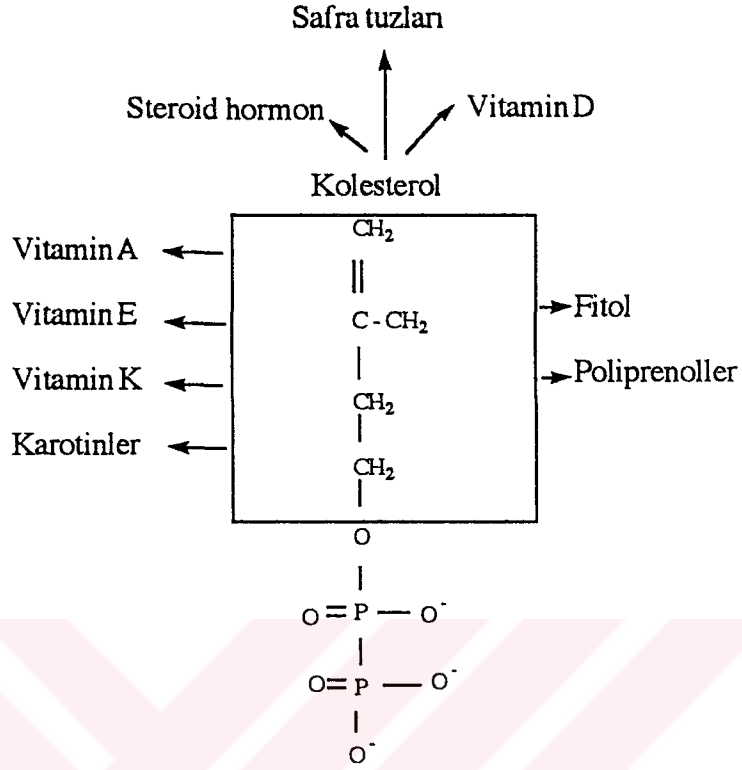
**VİTAMİN A<sub>1</sub>**



**VİTAMİN A<sub>2</sub>**

**Şekil 3. Vitamin A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub> 'nin kimyasal yapıları.**





**Şekil 4. İzopren molekülünden köken alan yapılar.**

### 2.1.1. Vitamin A aktivitesi ve fonksiyonları

Vitamin A aktivitesini belirlemek için farklı ifadeler kullanılmaktadır. Uzun yıllar bu aktivite İnternasyonal Ünite (IU) olarak ifade edilmiş olmasına rağmen günümüzde vitamin A aktivitesinin karşılığı olarak daha çok Retinol Equvalant (RE) ifadesi kullanılmaktadır.

Vitamin A aktivitesini belirlemek amacı ile aşağıda belirtilen eşitliklerden yararlanılabilir (93).

1 IU VitA = 0.3 µg retinol = 0.55 µg vitA palmitat

1 µg RE = 3.33 IU

1 β-karotin equvalant (β-CE) = 0.5 µg RE = 1.667 IU

Canlılar arasında , büyüme dönemlerine ve vücut fonksiyonlara göre vitamin A ihtiyaçları ile β-karotinin vitamin A'ya dönüşüm oranları değişmektedir (93). Bu oranlar Tablo (1 )' de belirtilmiştir.

Donoghue ve ark. (37) 'nın yaptığı bir çalışmada, plazma vitamin A (retinol) seviyelerinin , gıda ile alınan vitamin A' nın barsaklardan kana transferi üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir. Bu çalışma düşük, normal ve yüksek oranlarda vitamin A verilmiş kuzular üzerinde yapılmıştır. Vitamin A'nın emilme oranları sırası ile % 91, 58 ve 14 olarak tespit edilmiş, emilme hızında ise gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir.

**Tablo I. Değişik türlerde  $\beta$  -karotinin vitamin A'ya dönüşüm oranı ve normal vitamin A ihtiyaçları.**

	Dönüşüm % *	RE ** mg/kg yem	B-karotin Ekuvalant mg/kg yem	IU/kg yem
Tavuk	100	0.45	0.9	1500
Köpek	50	1.50	6.0	5000
Domuz	30	0.54	3.6	1800
Koyun	27	0.12	0.9	400
At	10	0.60	12.0	2000
Buzağı	24	0.66	5.5	2200
Siğir	24	1.16	9.7	3800
Yumurta tavuğu	100	1.2	2.4	4000

\* Diyetteki %  $\beta$ -karotin ekuvalantın RE'ye dönüşümüdür.

\*\* Retinol Ekuvalant.

Vitamin A'nın görme, döl verimi, büyüme, gelişme ve farklılaşma üzerine etkisi uzun yıllardan beri bilinmektedir. Özellikle epitel doku bütünlüğünün korunması üzerindeki etkisi birçok yönden önem taşımaktadır (13,30,71,93,125,131,133).

Epitel dokunun zayıflaması sonucunda organizmanın özellikle dış ortamla ilişki halinde olan kısımlarında patojenlere karşı geliştirilen savunma sistemi zayıflar ve mikroorganizmalar bu bariyerleri aşarak kolayca organizma içine girerler (10).

Son yıllarda bu vitaminin immunité üzerine etkisini ele alan çalışmalar ağırlık kazanmıştır. A vitamininin hücresele ve humoral bağışıklığı olumlu yönde etkilediğini belirten birçok çalışma (22,23,35,41,42,96,97,106,107,108,110,117) bulunmaktadır. Çalışmalarda vitamin A yetersizliğinin özellikle vücut savunma sistemleri zayıf olan kanatlı hayvanlar üzerine etkileri incelenmiş, makrofaj aktivitesi, T-hücre sayıları ve plazma hücrelerinin Ig sentezleme yeteneklerinin azaldığı gözlenmiştir.

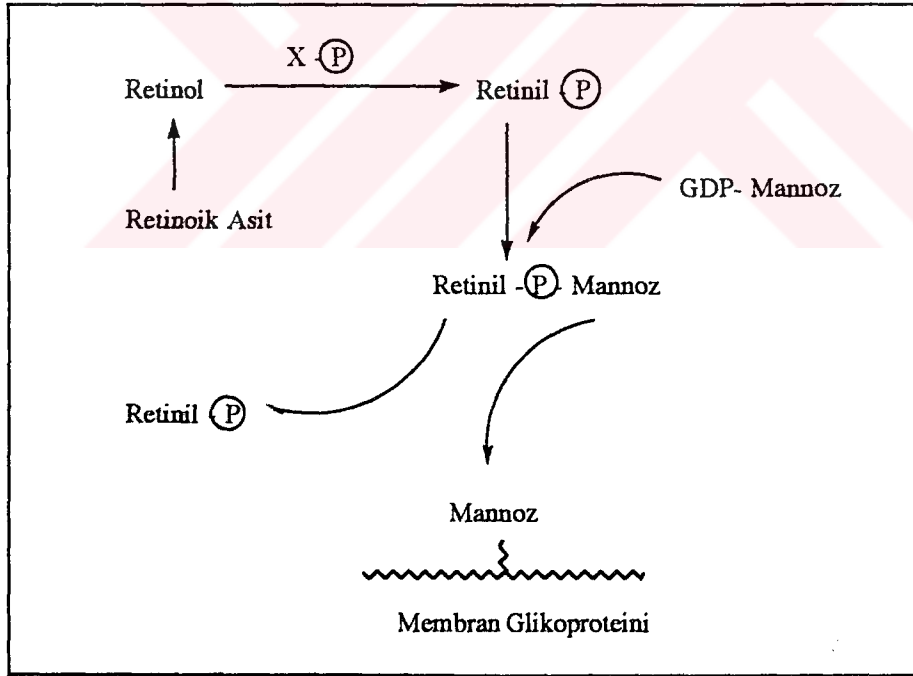
Vitamin A'nın kanatlı immun sistemi üzerindeki etkileri incelendiğinde, rasyonlara değişen oranlarda vitamin A ilavesi ile kandaki hücresele faktörlerde çoğalma (101), özellikle T ve B lenfositlerin sayı ve oranlarındaki olumlu gelişme (46,114), peritoneal makrofajların fagositoz yeteneklerinde artma (110), plazma hücrelerinin Ig sentezleme fonksiyonlarında gelişme (102) olduğu gözlenmiştir.

Bunun yanısıra yüksek düzeyde vitamin A verilmesi ile immun sistem üzerinde gelişen bir takım olumsuz etkilerden de söz edilmektedir. Yapılan bir çalışmada (43), yemlerine ; 0 , 0.85 ve 1000 mg/kg hesabı ile vitamin A ilave edilen ratlarda, E.coli enfeksiyonuna karşı oluşan savunma fonksiyonları karşılaştırılmış ve 1000 mg/kg vitamin A verilen grupta E.coli'ye karşı gelişen direncin fazla vitamin A'nın immun sistemi deprese etmesine bağlı olarak zayıfladığı görülmüştür. Ayrıca bu gruptaki hayvanların yüksek morbidite ve mortalite gösterdikleri de belirlenmiştir. Aşırı vitamin A'nın immun sistemi baskılama mekanizması ise kesin olarak bilinmemektedir (45).

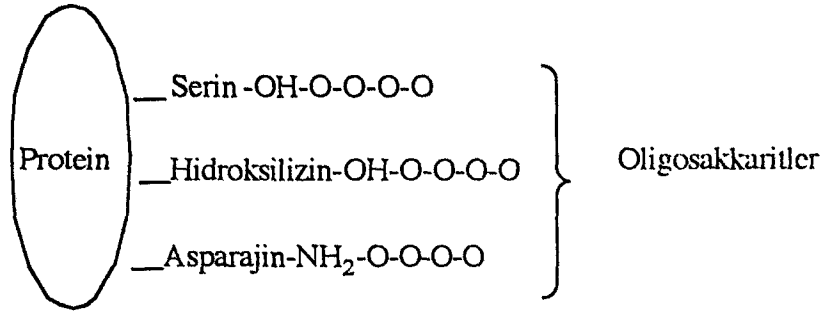
Ratlar üzerine yapılan bir başka çalışmada (53), vitamin A'nın aşırı dozlarda verilmesi ile kemik ve mineral metabolizmasında değişikliklerin

olduğu belirlenmiştir. Ratlara 10.000 IU/gün ve 25.000 IU/gün olarak iki grup halinde vitamin A uygulaması yapılmış ve deneme sonucunda, hiperkalsemi ve hiperfosfatemi şekillenerek kemiklerde zayıflamalar, anormal gelişimler ve kırıklar oluşmuştur. Ayrıca vitamin A'nın PTH salgısını stimule ettiği de belirtilmektedir (53).

Vitamin A membran glikoproteinlerinin sentezi üzerinde önemli etkiye sahiptir (129). Bütün glikoproteinler asparajinin  $-NH_2$  grubuna ya da hidroksilizin ve serinin  $-OH$  gruplarına bağlı olarak oligosakkaritleri içerirler. Vitamin A önce fosforile olur ve daha sonra membran glikoproteinlerinin sentezi için oligosakkaritlere mannoz transferindeki gibi karbonhidratların taşıyıcısı olarak rol alır (Şekil 5).



**Sekil 5. Vitamin A'nın mannoz transferindeki rolü.**



**Şekil 6. Glikoproteininin şematik gösterilişi.**

Membran glikoproteinleri, memeli hücrelerinin dış yüzeylerinde bulunarak yabancı unsurları tanımada ve onlara tutunmada etkilidirler. Vitamin A yetersizliğinde bu sentez azaldığından makrofajların hücresel aktivitesi de zayıflamaktadır ( 28,31,127).

Vitamin A kolesterol sentezinde de önemli etkiye sahiptir (Şekil 7). Özellikle bu etki, sentez zincirinin son basamağında meydana gelir. Vitamin A yetersizliğinde Mevalonat'ın Koenzim Q'ya yıkılımı arttığı için bunun konsantrasyonu artar. Buna paralel olarak vitamin A yetersizliği bulunan hayvanlarda koenzim Q miktarındaki artış, gözlenebilen önemli klinik bulgular arasındadır. Vitamin A yetersizliği olan hayvanlarda glikoneogenezisin azalmasına benzer şekilde ve bunun bir sonucu olarak, kortizol ve kortikosteron gibi steroidlerin sentezi azalır. Aynı şekilde mukopolisakkarit sentezinin azalması sonucunda vücudun mukozal membranlarında keratinleşmeler meydana gelir. Yine hücre farklılaşması ve bölünmesinde de vitamin A önemli bir rol alır. Vitamin A yetersizliğinde hücre keratinleşme hızı, stem hücrelerinin mukus salgılayan hücrelere dönüşme hızından daha yüksektir. Vitamin A yetersizliğinde yine hücre farklılaşmasındaki yavaşlamaya bağlı olarak spermatogeneziste de bir yetersizlik gözlenir ( Tablo II ).



### 2.1.2. Vitamin A'nın immün sistem üzerine etkileri

Vitamin A'nın immün sistem üzerindeki etkileri şu şekilde özetlenebilir (31).

1- Vitamin A ve  $\beta$ -karotin lenfoid organların (Timus, Lenf Nodülleri ve Dalak) hücresel fonksiyonları için gereklidir. Yetersizlikler bu organlarda lenfosit fonksiyonlarının zayıflamasına yol açar.

2- Vitamin A ve  $\beta$ -karotin immünstimülatördürler. Bu vitaminler mitojen tarafından uyarılan lenfosit proliferasyonunu, hücresel sitotoksisiteyi, transport reddini ve doğal öldürücü hücre aktivitesini artırır. Vitamin A, lenfositlerce üretilen IL-2 (Interleukin) ve makrofajlar tarafından üretilen IL-1 oranlarını yükseltir, bunun yanı sıra lenfositlerin IFN (İnterferon) üretimini baskılar.

3- Vitamin A ve  $\beta$ -karotin, IFN ve T lenfosit etkisi üzerinde zıt etkiye sahip olarak görülmektedirler (114).

4- Vitamin A immüitenin başlangıç safhasında etki göstermektedir. Sitotoksik T hücrelerini aktive eder ve muhtemelen T öldürücü hücrelerin aktive edilmesine katılan yardımcı T (T Helper) hücrelerinin çoğalmasına da etki eder.

5- Vitamin A humoral immüiteyi de artırır. Dalaktan köken alan antikor üreten hücre sayılarının çoğalmasını sağlar ve lokal immüiteyi stimüle eder.

6- Vitamin A kortikosteroidlerin immün sistem üzerine gösterdikleri immünosupressif etkiyi ortadan kaldırarak dolaylı yoldan immünstimülatör etki gösterir.



7- Vitamin A fagositozu ve makrofajlarla, PMN lerin hücre içi öldürme fonksiyonlarını artırır.

8- Vitamin A transport glikoproteinlerinin sentezini düzenleyerek lokal immunitiyi düzenler. Ayrıca mukozal epitel hücrelerinden glikoprotein yapısındaki sekretorik komponentlerin sentezlenmesini artırır.

9- Vitamin A yetersizliği, lenfositlerin glikoprotein yüzey özelliklerinde değişikliğe ve lenfositlerin çoğalması, farklılaşması ve mukozal bölgelere göçlerinde azalmaya yol açar.

Vitamin A yetersizliğinin immun sistem üzerindeki etkileri araştırılırken, genellikle herhangi bir hastalık etkeni organizmaya verilir ya da hayvanlara canlı aşı uygulaması yapılır. Vitamin A yetersizliği ile kombine bir durum oluşturularak antikor oluşumu, fagositoz yeteneği, immun sistem organlarındaki değişimler, T ve B lenfosit oranları gibi immun sisteme spesifik fonksiyonlar incelenir.

Bu vitaminin immun sistem fonksiyonları üzerindeki etki mekanizmasını açıklamak amacı ile yapılan bir çalışmada ( 27 ), retinil fosfatın monosakkaritleri bağlanacakları proteinlere transfer ederek glikoprotein sentezine eşlik ettiği ve sentezlenen glikoproteinlerin hücre zarının yapısına girerek lenfositlerin sayıca artması ve makrofajların fagositoz kapasitelerini etkilediği açıklanmakta; vitamin A yetersizliğinde bu mekanizmanın yeterince çalışmadığı bildirilmektedir.

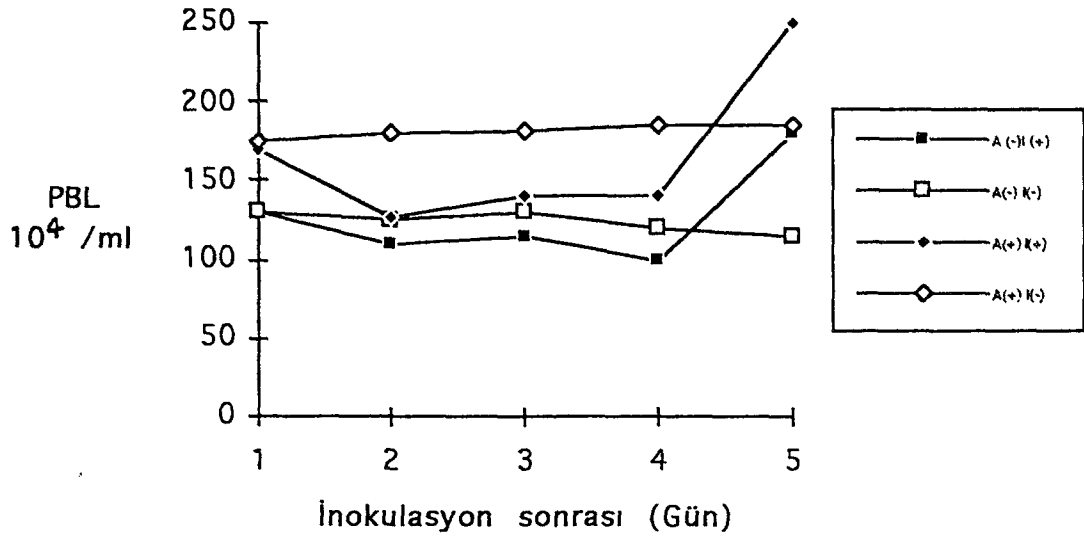
Vitamin A yetersizliği oluşturularak yürütülen bazı çalışmalar (36,101,102,109,110,112,113) çoğunlukla kanatlılar üzerinde sürdürülmüş ve deneysel enfeksiyon olarak ise hayvanlarda NDV (New Castle Disease Virus) oluşturulmuştur. Bu çalışmalarda vitamin miktarları ile NDV'ye

karşı vücutta oluşan antikor titreleri ve morbidite, mortalite oranları arasında ilişkiler olduğu tespit edilmiştir.

Rombout ve ark.(101) ile Sijtsma ve ark. (112) da, benzer bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmalarda civcivler iki ayrı gruba ayrılmış ve 1.gruba 120 RE (Retinol Equvalant) /kg yem 2. gruba ise 1200 RE /kg yem oranında vitamin A, rasyonlarına ilave edilmiştir. Ayrıca hayvanlara La Sota türü canlı NDV, intraokuler olarak uygulanmıştır. Oluşan antikor titreleri HI testi ile inokulasyondan sonra 0. 16. ve 37. günlerde ölçülmüştür.

120 RE/kg yem vitamin A uygulanan grupta, enfeksiyonun daha şiddetli olduğu , morbidite ve mortalite oranlarının 1200 RE/ kg yem vitamin A uygulanan gruba oranla daha yüksek seyrettiği gözlenmiştir. Oluşan antikor titreleri ise yine 120 RE/kg yem vitamin A grubunda daha düşük bulunmuştur.

Rombout ve ark .(101)' nin yaptığı çalışmada ayrıca PBL (Perifer Blood Lymphocytes) sayıları belirlenmiş ve vitamin A yetersizliğine paralel olarak lenfopeninin oluştuğu tespit edilmiştir. Özellikle NDV enfeksiyonu ve vitamin A yetersizliği olan grupta en düşük PBL oranı görülmüş, enfeksiyonu takiben 3. ve 6. günlerde düşük sayıda seyreden lenfositler 6. ve 10. günlerde artmaya başlamışlardır (Grafik I ).



**Grafik I. Vitamin A yetersizliğinin ve NDV enfeksiyonunun PBL sayıları üzerine etkisi (101).**

Sijtsma ve ark.(110) yaptıkları çalışmada, sitotoksik T lenfosit (CTL) oranları üzerine vitamin A yetersizliği ve NDV enfeksiyonunun etkisini incelemişler ve sonuçta CTL aktivitesinde azalma olduğunu, bu durumun hücrel immunitenin zayıflamasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Benzer amaçlı yapılan bir başka çalışmada (111) da, NDV ile enfekte olan ve enfekte olmayan civcivlere iki ayrı grup halinde yine 120 ve 1200 RE/kg yem vitamin A verilerek peritoneal makrofaj (PM) aktivitesi incelenmiştir. Enfeksiyöz ve non enfeksiyöz olan hayvanlarda vitamin A yetersizliği bulunduğundan peritoneal makrofajların maya hücrelerini fagosite etme oranlarının düşük olduğu bulunmuştur.

Rombout ve ark. (102)'nin vitamin A yetersizliği ve New Castle hastalık virusunun safra ve plazma Ig A ve Ig M oranları üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, safra Ig M oranlarında vitamin A düzeylerine bağlı

olarak herhangi bir farklılık görülmemiştir. Plazma Ig A seviyesi yükselirken safra Ig A seviyesi % 25 ten % 10'a düşmüştür. Plazma Ig A seviyesindeki yükselme, hepatobilyer Ig A transportunun vitamin A yetersizliğinde zayıflamış olmasına bağlanmaktadır.

Hepatobilyer Ig A transportu memelilerde ve tavuklarda hepatositlerin sinuzoidal yüzeyleri üzerine lokalize olmuş Sekretorik Komponent (SC) tarafından gerçekleştirilir. Vitamin A yetersizliğinde Ig A'nın azalmış olan hepatobilyer transportu , SC sentezini zayıflatabilir ve buna bağlı olarak Ig A bağlama kapasitesi azalır (102). Benzer şekilde vitamin A yetersizliğinde serum Ig' lerinde azalma gözlenmiştir (36).

Sijtsma ve ark (109) , NDV ve vitamin A yetersizliği durumlarında lenfoid organlardaki değişiklikleri incelemişler, özellikle timus ve bursa Fabricius'un relatif ve absolut ağırlığında azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Relatif dalak ağırlığında ise enfeksiyon sonrasında önemli artışlar tespit etmişlerdir. Karaciğerin bu durumdan etkilenmediği görülmüştür. Vitamin A yetersizliği ve NDV enfeksiyonu ikisi birarada lenfopeni oluştururken, bu durum enfeksiyonun akut fazı (enjeksiyonu takiben 5 gün içinde) süresince tanımlanmıştır. Çalışmada, lenfosit sayıları azalırken, eozinofil, bazofil, monosit ile alyuvar sayıları değişmemiştir. Vücut ağırlığı üzerinde ise herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Total protein değerleri de değişmeyen parametreler arasında olmuştur.

### 2.1.3. Vitamin A'nın diğ er metabolik rolleri

Vitamin A'nın çeşitli dokularda gelişme ve farklılaşmayı sağlayıcı etkilerinden dolayı nukleusla ilişkili olabileceği düşünölmüş ve steroid hormon analogu rolü oynadığı bildirilmiştir (93). Bunun yanında vitamin A steroid hormon sentezlenmesi ile de ilişkilidir. Steroid hormon sentezleyen dokuların mitokondrilerinde 25 hidroksi kolesterolün pregnonolon'a dönüşümünde spesifik sitokrom P-450 rol almakta ve bu enzim kolesterol desmolaz olarak isimlendirilmektedir. Mikrozo mal bir enzim olan 3 -  $\beta$  hidroksisteroid dehidrogenaz ise pregnonolon'u progesterona dönüştürmektedir ve bu dönüşüm mekanizması vitamin A yetersizliklerinden etkilenmektedir (129).

Vitamin A ve  $\beta$ -karotin seviyeleri hipertiroidizm ile ilişkilidir. Bu konuda yapılan bir çalışmada (11), kanatlılara triiyodotronin ve tirotropin uygulaması yapılarak hipertiroidizm oluşturulmuş ve  $\beta$ -karotinin vitamin A' ya dönüşüm oranının azaldığı sonucuna varılmıştır.

Vitamin A ve  $\beta$ -karotinin tümörlerle ilişkileri üzerine yapılan çalışmalar sonucunda Marubuni ve ark .(75), göğüs kanserleri ile vitamin A ve  $\beta$ -karotinin bir ilişkisi olmadığını bildirmelerine rağmen La Vecchia ve ark. (68), servikal kanserler ile  $\beta$ -karotin arasında negatif bir korelasyon olduğunu,  $\beta$ -karotin yönünden zengin gıdalar alınması sonucunda servikal kanser oluşumunun önlenebileceğini saptamışlardır.

Yapılan bir diğ er çalışmada (90), yaşlı erkeklerde  $\beta$ -karotin yönünden zengin gıdalar alınmasının prostat kanserlerine karşı koruyucu etkisinin olduğu ve aralarında negatif bir ilişki bulunduğu bildirilmiştir.

Vitamin A, D vitamini sentezi ile de ilişki halindedir. Vitamin A noksanlıklarında karaciğerde D vitamininin 25. pozisyonunda hidroksile edilmesini sağlayan sitokrom P-450 seviyesi azalarak D vitamini sentezi aksamaktadır (9,129).

Yapılan çalışmalarda (121,122), vitamin A yetersizliğinin doğum sonrası buzağı ölümleri, metritis, mastitis gibi hastalıklarla da ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

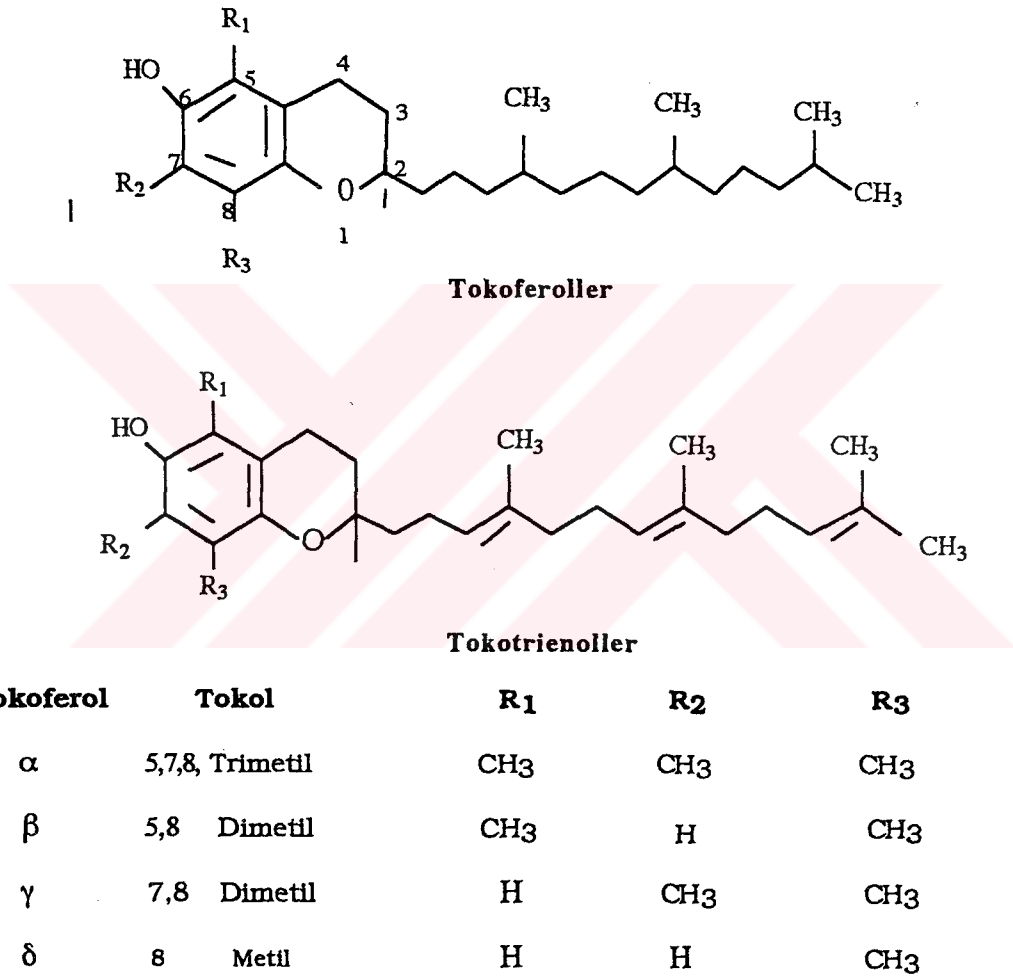
## 2.2 . Vitamin E

Vitamin E ilk olarak 1924 yılında Sure tarafından ratlarda üreme için gerekli esansiyel ve yağda eriyen bir yapı olarak açıklanmıştır (94). Vitamin E nin bu özelliği halen kabul edilmekte ve bunun yanında organizmada daha pek çok fonksiyonu olduğu da bilinmektedir.

Vitamin E'nin fonksiyonları 1936 yılında Evans ve arkadaşlarının  $\alpha$ - tokoferolü buğday tohumu yağından izole etmeleri ile kesinlik kazanmıştır ve bu dönemde  $\alpha$ - tokoferolün vitamin olarak tanımlanan tüm biyolojik aktivitelere sahip olduğu belirtilmiştir. Son yıllarda vitamin E'nin hücresel düzeydeki rolü ise daha çok önem kazanmış ve çalışmalar bu konu üzerinde yoğunlaşmıştır.  $\alpha$ - tokoferolün Evans ve arkadaşları tarafından izolasyonu ve bulunuşundan sonra vitamin E aktivitesine sahip bileşiklerin hepsine toplu olarak Tokoller (Tokol Çekirdeği) denilmiştir. Bunların herbiri 2 metil, 6 kromanol aromatik zincirine bağlı 16 C zincirinden ibarettir. Bu bileşik içerik olarak farklı iki grup taşır: Tokoferol; tamamen doymuş fitol zincirine sahiptir. Tokotrienol; fitol zinciri içinde 3 adet doymamış çift bağ taşır. Her bir tokolün kromanol zinciri bir yada daha fazla 3'lü pozisyonda metilleşebilir ve bu teoriye göre sonuçta her bir grupta 7 farklı bileşik

sonuçlanır. Tabiatta bugün için sadece 4 tip tokoferol bilinmekte ve bunlar  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  olarak işaretlenmektedir (Şekil 8 ).

Vitamin E biyolojik olarak aktif tokoferollerin bir grubuna verilen isimdir. Doğal olarak vitamin E aktivitesi gösteren yapı sadece  $\alpha$ -tokoferoldür ( 6,93,94).



**Şekil 8. Tokollerin kimyasal yapıları.**

E vitamini geniş oranda bitkisel ürünlerde bulunur. Özellikle tohumlu bitkilerde ve taze yeşil bitkilerde yüksek oranda mevcuttur. Kuru yonca ve saman iyi bir vitamin E kaynağıdır. Bitkisel yağlar da yine yüksek vitamin E içeriğine sahiptirler. Hayvansal ürünler genellikle vitamin E bakımından fakirdir (Yüksek oranda vitamin E alan tavukların yumurtası hariç) (93,129).

Genç hayvan rasyonlarında tavsiye edilen vitamin E düzeyleri Tablo III 'de gösterilmiştir.

**Tablo III. Hayvan türlerine göre rasyon vitamin E içerikleri.**

<u>Hayvan türü</u>	<u>mg/kg yem</u> *
Buzağı	15-60
Tavuk	10
Domuz	11
Kanatlı	10
Köpek	50
Buzağı başlama yemi	300

\* Bazı rasyonlarda vit E mg/kg olarak değil, 1 IU = 1 mg dl- $\alpha$  tokoferol olarak verilir.

Yemlerdeki vitamin E düzeyleri çeşitli faktörler tarafından etkilenmektedir. Sulardaki sülfat ve nitratlar E vitamini ve selenyumun emilimini azaltır. E vitamini verilmeden önce yüksek oranda konsantre yem



kullanılması zararlı olabilir. Yemlerin fazla miktarda PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acid) ihtiva etmesi hayvanların E vitamini gereksinimini artırır. Depolama şartlarının elverişli olmadığı durumlarda PUFA ve yağ kapsayan gıdalarda acılaşıma daha fazla olmakta ve E vitamini tahrip olabilmektedir. Balık unu katılmış yemler yüksek düzeyde PUFA içerir, bu yemlere antioksidan maddeler konulmaz ise E vitamini eksikliğine neden olabilir. Ancak balık unlu yemlerde bulunan "Gizzarosine" maddesi tavuklarda taşlık (Gizzard) erezyonuna neden olmaktadır. E vitamininin tavuklarda taşlık erezyonunu önlediği bildirilmiştir. Yemlerin mikotoksin içermesine bağlı olarak E vitamini emilimi bozulduğundan dokularda E vitamini yetersizliği görülmektedir (93,132).

Tavuklarda, çinko ile E vitamini arasında ilişki vardır. Yemlere normalden fazla E vitamini konulması çinko yetmezliklerine neden olmaktadır. Bu gibi hayvanlarda eklem ve deri hastalıklarında artış gözlenmiştir. Buna karşın, yemlerde fazla miktarda çinko bulunması ise, çinkonun pankreas etkisine bağlı olarak E vitamininin emilmesini bozmaktadır (132). Etlerde E vitamininin, oksidasyon ve acılaşmayı geciktirdiği ve aynı zamanda et lezzetini iyi yönde etkilediği bilinmektedir.

### **2.2.1. Vitamin E' nin fonksiyonları**

Vitamin E'nin en belirgin fonksiyonlarından biri antioksidan olarak hücre membranlarını oksidasyona karşı korumasıdır. Vitamin E bu fonksiyonu ile organizmada önemli görevlerden birini üstlenmiştir. Bu görevini, reaktif oksijen ve lipid hidroperoksitlerini reaktif olmayan forma çevirmek suretiyle yapmaktadır. Vitamin E' nin hücresel düzeydeki bu

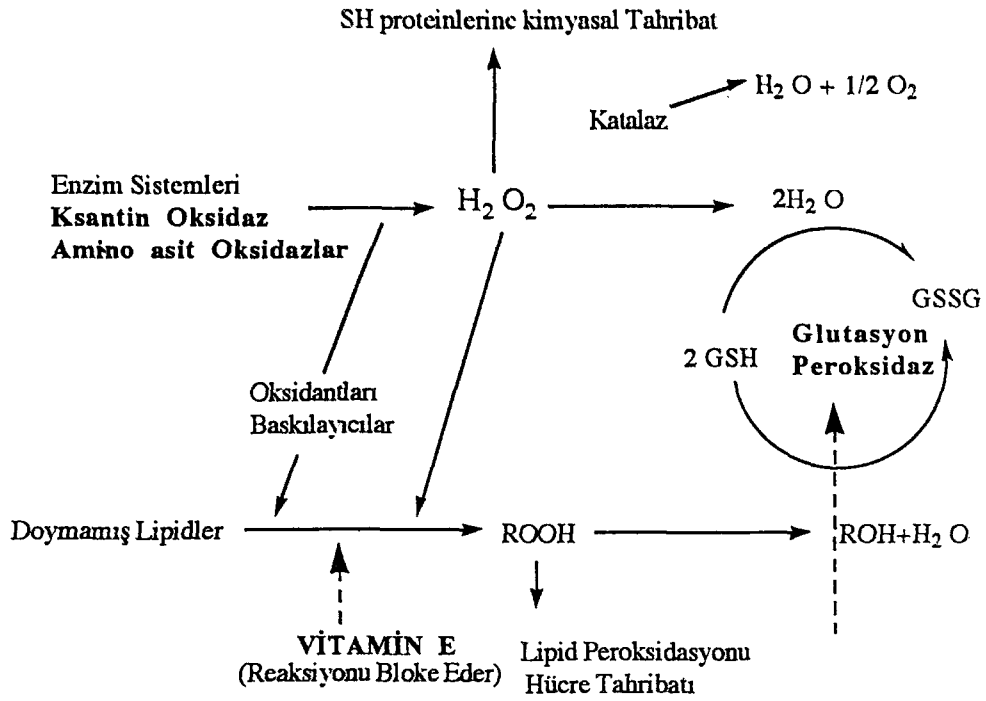
görevine selenyum da eşlik etmektedir. Vitamin E ve selenyum ikisi birlikte hücrel ve doku düzeyinde reaktif oksijen moleküllerinin ve lipid hidroperoksitlerinin düşük düzeyde tutulmasını sağlarlar. Hücrede oksidasyon olayları sırasında yüksek oranda süperoksit ve hidrojen peroksit üretilir. Bu reaktif oksijenler membran lipidlerine, DNA'ya, hücre proteinlerine ve enzimlere zarar verirler. Selenyum ayrıca GSHpx (Glutasyon Peroksidaz) enziminin yapısında yer alır ve bu enzim hidrojen peroksidin suya ve lipid hidroperoksitlere dönüşümünü sağlar. E vitamini hücre zarında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini (Poliansatüre Yağ Asitleri- PUFA) , enzimleri ve transport proteinlerini reaktif oksijenin etkilerinden korur. PUFA tüm sellüler membranlarda bulunur, fakat konsantrasyonları dokudan dokuya değişir. Hücre zarlarında bulunan PUFA'ların en önemlisi Araşidonik asit (AA) dir. Araşidonik asit siklooksigenaz enzim kompleksi ile prostaglandinlere, tromboksan ve prostasiklin'e; lipoksigenaz enzim kompleksi ile de leukotrienlere metabolize olmaktadır (6,93,94,132). Vitamin E ile GSHpx, AA metabolizmasında etkili olmakta ve AA metabolitlerini kontrol etmektedir. Bu metabolitler, polimorf nükleer lökositlerin (PML) fonksiyonunda ve dokuların patojenlerce invazyonu sonu gelişen yangısel yanıtta önem taşır (94). AA metabolizması esnasında reaktif oksijenlerin üretimi artar. Reaktif oksijen fagositoz olayı ile patojenlerin tutulması ve öldürülmesinde rol alır ve fagositoz sonucunda peroksitler oluşur. Oluşan bu peroksitler, bir yandan fagositoz basamaklarının daha hızlı ilerlemesini sağlarken diğer taraftan hücre ve doku bütünlüğü açısından tehlike arz ederek hücrel savunmayı bloke ederler.  $\alpha$ -tokoferol ise buradaki olumsuz mekanizmaları peroksit

oluşumunu önlemek suretiyle durdurur ve hücre sel savunmanın devamlılığını sağlar (93,126,132).

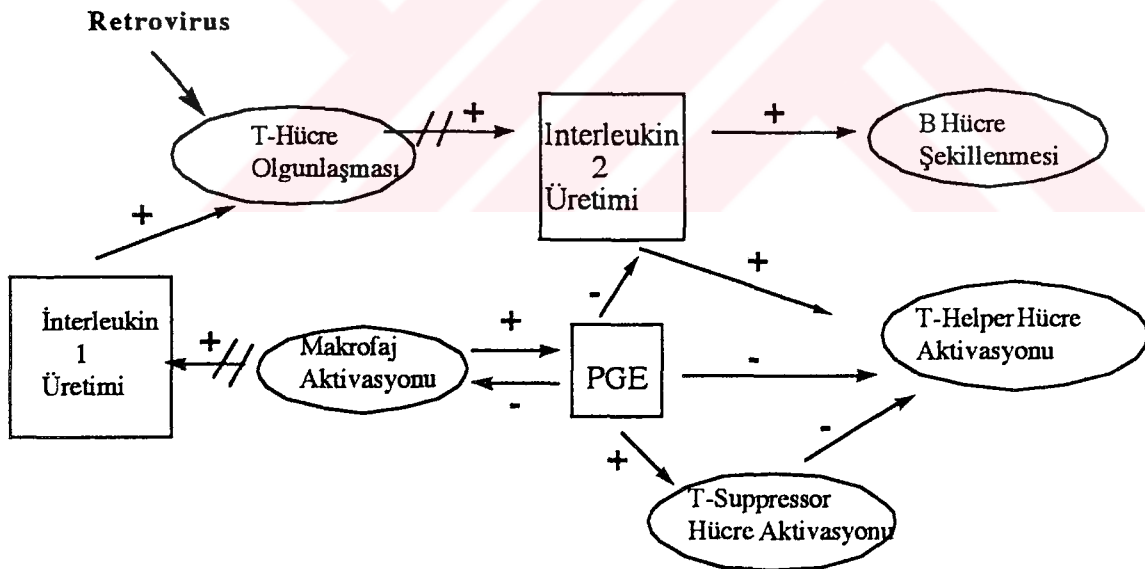
Vitamin E' nin DNA sentezinde de muhtemelen rolü olduğu belirtilmektedir (94).

Vitamin E' nin doymamış yağ asitleri üzerine önemli etkileri vardır; özellikle poliansatüre olan yağ asitleri sadece enerji temininde değil, aynı zamanda doku membranlarının esansiyel bir parçası olarak da yer alır. Membrandaki doymamış yağ asitlerinin çift bağları, peroksitler ve aktif oksijenin diğer formları tarafından yıkıma uğrarlar ve bunlar doğal olarak stabil değildirler. Bu durum zincir reaksiyonuna sebep olarak çok sayıda serbest radikallerin ve hidroperoksitlerin şekillenmesine sebep olur.  $\alpha$ -tokoferol bu reaksiyonun ilerlemesini önler ve serbest radikallerin toplayıcısı olarak görev yapar. Hücre içine doymamış yağ asidinin girişi ve miktarının artışını takiben  $\alpha$ -tokoferol miktarı artar ki, bu durum reaksiyonunun önlenmesi için gereklidir.

Vitamin E ihtiyacı ile doymamış yağ asitleri miktarı arasında matematiksel bir ilişki mevcuttur. Diyetteki herbir gram poliansatüre yağ asidi için farklı türlerde 0.5 - 3 mg  $\alpha$ -tokoferol'e ihtiyaç vardır. Evcil hayvanların rasyonlarına içerdikleri poliansatüre yağ asidi kadar  $\alpha$ -tokoferol ilavesi yapılabilir (94).



Şekil 9. Vitamin E ve selenyumun antioksidant aktivasyonu



Şekil 10. Virus ile uyarım sonucu immun sistem fonksiyonları üzerine vitamin E'nin etkisi.

### 2.2.2. Vitamin E'nin immün sistem üzerine etkileri

Vitamin E' nin çeşitli hastalık etkenlerine karşı hücrel ve humoral bağışıklığın oluşumunda etkili olduğuna dair yapılan çalışmalar özellikle son yıllarda artmıştır (33,34,39,41,48,51,69 ).

İmmün sistem fonksiyonlarının normal işleyişi için gerekli olan vitamin E, araşidonik asidin metabolize olması sırasında oluşan ve immün sistem üzerinde baskılayıcı etkisi bulunan prostaglandinlerin biyosentezlerini azaltmak suretiyle etkisini göstermektedir ( 94,102).

Özellikle viral enfeksiyonlara karşı savunmada gerekli olan interferonların sentezinin de yüksek düzeyde vitamin E verilmesi ile artırılabilirliği bildirilmektedir (40).

Yapılan bir araştırmada (42), adjuvant olarak kullanılan mineral yağlar yerine kısmen ya da tamamen  $\alpha$ -tokoferol kullanılmasının etkileri incelenmiş ve  $\alpha$ -tokoferol oranı % 50' den fazla olduğu veya tamamen mineral yağların yerine kullanıldığı zaman immün sistem üzerinde olumsuz etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, değişik konsantrasyonlardaki vitamin E' nin viral ve bakteriyel antijenlere karşı etkileri incelenmiş ve sonuçta yüksek oranda vitamin E' nin etkisiyle viral antijenlere karşı gelişen immün cevapta artma görülürken bakteriyel (Pasteurella anatipestifer) antijenlere karşı immün cevabın azaldığı belirlenmiştir (Grafik II) ..

Bir diğer çalışmada (33), diyetlerine; 0.25 , 0.50, 5 ve 100 ppm vitamin E ilave edilen broilerler, E.tenella ile enfekte edilen ve edilmeyen

olmak üzere iki grup halinde denemeye alınmışlardır. Hayvanlar mortalite , ağırlık kazancı, kan hücre volümü gibi parametreler açısından incelenmişler ve sonuçta selenyum ile vitamin E'nin sadece immunize olan broilerlerde immun cevabı artırmakla kalmayıp, aynı zamanda primer enfeksiyona karşı savunmayı da etkilediği görülmüştür. Selenyum ve vitamin E'nin hayvanları enfeksiyonlara karşı korumadaki mekanizması tam olarak bilinmemekte birlikte fagositik aktiviteyi artırdıkları düşünülmektedir.

Sığırlar üzerinde yürütülen bir çalışmada (50), vitamin E'nin Staph. aureus 'un nötrofillerce imha edilme oranını artırdığı ve bu oranın selenyum ilavesi ile daha da yükseldiği gözlenmiştir. E.coli tarafından geliştirilen enfeksiyonda ise vitamin E'nin etkisi belirgin şekilde görülürken selenyum ilavesinin değişiklik yaratmadığı belirlenmiştir.

Vitamin E'nin en belirgin etkisi humoral immunité üzerinedir. Bu vitaminin diyete ilave olarak ya da enjeksiyon şeklinde verilmesi tavuklarda ve farelerde antikör üreten hücrelerin sayıca artmasına neden olmaktadır (117,118). Bu ve diğer hayvan türlerinde yapılan benzer çalışmalar göstermektedir ki, vitamin E immun komponentlerin çoğalmasını hızlandırıcı bir etki göstererek, B lenfositleri ve muhtemelen yardımcı T lenfositleri ile işbirliği yapmaktadır (118).

Vitamin E immun sistem ve hastalıklara karşı direncin artırılmasında indirekt rollere sahiptir. Bu roller, metabolik regülatör olması, vitamin A ve ubikinonları oksidasyondan koruması ve araşidonik asidin oksidasyonunu engellemek sureti ile prostaglandin sentezini azaltması şeklinde özetlenebilir (78,81,98).

Laboratuvar çalışmalarında E.coli ile enfekte edilen tavuklarda immun sisteme etki eden en yüksek vitamin E miktarını:

olduğu ve aynı zamanda bu miktarın verilmesi ile bursa Fabricius ve dalakta PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> ve F<sub>2α</sub> düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı etki PG inhibitörü olarak bilinen aspirin ilavesi ile de görülmüştür (119). (Grafik III).

Vitamin E'nin çalışmalarda kullanılan optimal dozu 180-360 mg/kg yem olabilir. Bu doz bugün için kullanılan miktarların 3-6 katı kadardır. Vitamin E'nin parantral dozu için optimal bir düzey belirtilmemiştir. Her ne kadar vitamin E'nin diyetle verilmesi hastalıklara karşı koruma ve profilaktik uygulamalar için pratik bir yol ise de parenteral uygulama ya da aşı ile birlikte verilmesi daha tercihli bir yol olmaktadır. Bununla birlikte yağda eriyen vitaminlerin parenteral olarak uygulanması , enjeksiyon bölgesinde yangısel reaksiyonların şekillenmesine de sebep olabilir. Vitaminlerin suda eriyebilir formları bu problemi engeller ve vitaminlerin dispersiyonu bunların emilmesine yardımcı olur. Aynı zamanda en azından in vitro olarak immunostimülatör etkisini hızlandırır (38,41,76,112,118). Vitamin E'nin yüksek dozlarının immun sistem fonksiyonları üzerine olumlu etkisinin yanısıra, organizmada olumsuz etkilerinin gelişip gelişmediğı araştırılmış (8), Lohmann ırkı broiler civcivler 3 ayrı gruba ayrılarak 37.5, 50 , 100 ppm vitamin E verilmiş ve sonuç olarak büyüme hızında düşme, karaciğer ve böbrekte genişleme, kalp ve barsaklarda konjesyon ile bacak yüzeylelerinde hemorajilere rastlanmıştır. SDH ve GDH enzim aktivitesinde normal sınırlar içinde olmakla birlikte artma gözlenmiştir. Bu serum enzimlerindeki artışlar tavuklarda karaciğer hastalıklarının belirlenmesinde kullanılır. Hipoproteinemi muhtemelen kombine durumdaki karaciğer ve böbrek hastalıklarına bağılı olarak oluşur. Karaciğerdeki başlıca değışiklikler; yağ oranının değışmesi, nekroz, sinusların konjesyonu,hemoraji ve lenfosit ile nötrofil infiltrasyonudur.



Yüksek orandaki vitamin E broilerlerde hemoglobin , perifer kan hücre volümü ve alyuvar sayılarında azalmaya neden olmaktadır (8).

Yapılan çalışmalarda (49,108), değişik konsantrasyonlardaki vitamin E'nin immun sistem üzerinde etkileri araştırılırken, yemlerle alınan vitamin E'nin dokulardaki konsantrasyonları da belirlenmiştir. Bu amaçla kanatlılar 5, 25, 65, 180 µg/g yem düzeyinde α-tokoferölü 24 gün boyunca aldıklarında, kalp, beyin, kas, karaciğer ve akciğer α-tokoferöl düzeyleri sırası ile % 98.6, 93.2, 92.6, 90.6, 84.9 olarak bulunmuştur. Doku homojenatlarının lipid peroksidasyonunu azaltma yetenekleri in vitro olarak dietteki α-tokoferöl konsantrasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Bunun yanısıra değişik dokulardan elde edilen subsellüler fraksiyonlarda α-tokoferöl içeriğindeki değişiklikler yüksek düzeyde olmuştur. Böylece, in vivo olarak peroksidasyonun engellenmesinin dokudan dokuya değiştiği tespit edilmiştir. Ayrıca vitamin E uygulamalarının oral ve subkutan yapılması arasında emilim yönünden farklılıklar meydana geldiği, oral uygulamalar sonucunda vitamin E'nin daha çabuk kana geçtiği, subkutan verilen vitamin E'nin ise kullanılabilirliğinin yavaş olduğu koyunlarda yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştur (56).

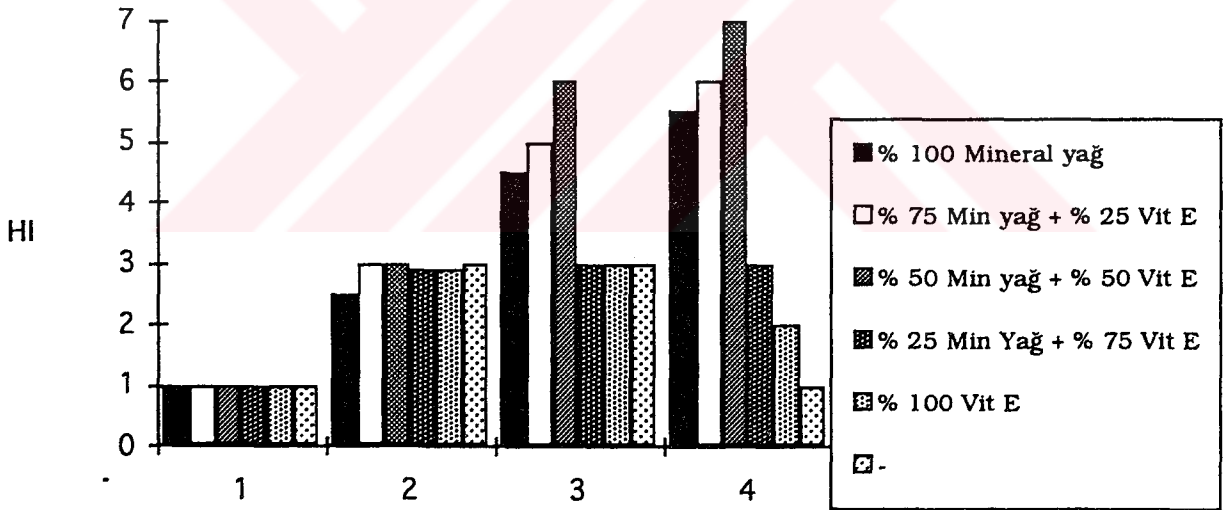
Rasyonlarına 66 IU/kg yem ve 132 IU/kg yem düzeyinde vitamin E ilave edilen civcivler SRBC (Sheep Red Blood Cell) ile uyarılmışlar ve oluşan antikorlar HI testi ile belirlenmiş, antikor titreleri 132 IU/kg yem vitamin E verilen grupta 66 IU/kg yem vitamin E verilen gruba oranla oldukça yüksek bulunmuştur (89).

Franchini ve ark. (39), Newcastle aşısına karşı antikor oluşumunda vitamin E'nin etkisini araştırdıkları çalışmada, immunoglobulin miktarının vitamin E düzeyi ile paralel olarak arttığını ve en olumlu sonucun en

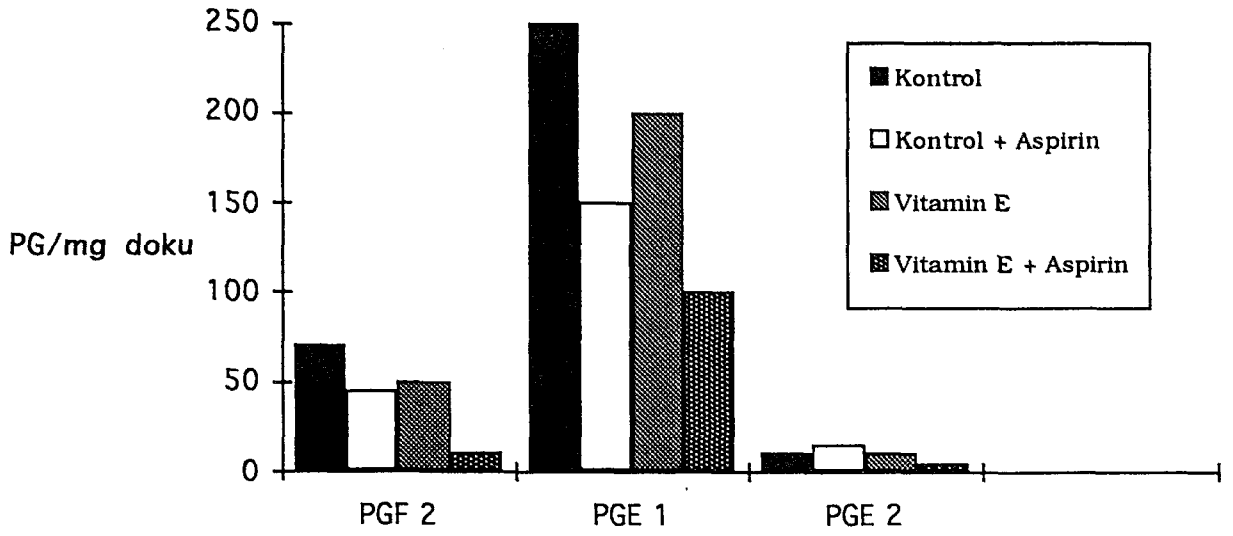


yüksek miktar olarak kullanılan 300 IU/kg ile elde edildiğini bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar tarafından yapılan bir başka araştırmada (41) da, hindi rasyonlarına 360 ppm'e kadar çıkan miktarlarda vitamin E ilavesi ile Newcastle aşısına karşı oluşan bağışıklık incelenmiş ve aşılamaı takip eden 14. haftadan itibaren vitamin E nin artan miktarlarına paralel bir şekilde HI titreleri ve serum Ig düzeylerinde de artışlar elde edilmiştir (Grafik IV).

İki farklı ırk hibrid civcivi kullanılarak vitamin E ve C'nin üç farklı dozunun araştırıldığı çalışmada (87), vitamin E' nin her iki ırkta da antikor titresini önemli ölçüde artırdığı tespit edilirken C vitamininin sadece bir ırkta olumlu sonuç verdiği belirlenmiştir. Franchini ve ark.(40), özellikle  $\alpha$  ve  $\beta$  interferon sentezinin yüksek düzeyde vitamin E verilen kanatlılarda önemli oranda ( $P < 0.05$ ) arttığını bildirmektedirler.



**Grafik II. Aşı içerisine farklı oranlarda katılan vitamin E'nin HI titreleri üzerine etkisi.**

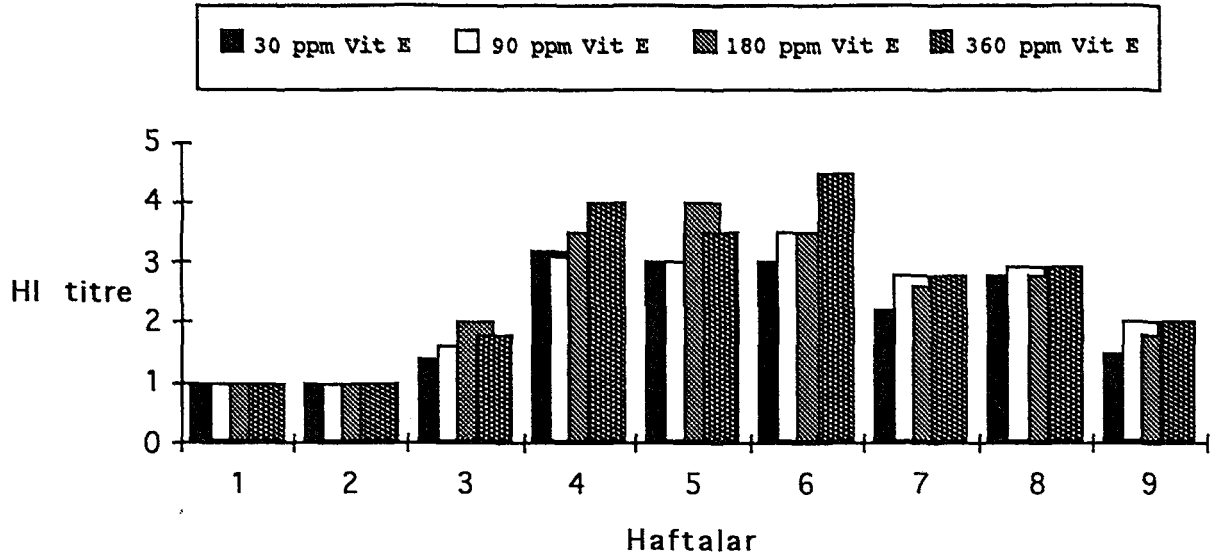


**Grafik III. E.coli ile enfekte kanatlılarda dalakta prostaglandin üretimi**

**Tablo IV . E. coli ile enfekte kanatlılarda fagositoz, humoral immunité ve mortalite oranları.**

Gruplar	% Mortalite	Fagositoz x 10 <sup>4</sup>	HI titre ( Log 2)
Kontrol	53 (10/19)	2.1 ± 0.7 a	9.0 ± 1.0 a
Vitamin E	25 (5/20)	3.6 ± 0.9 b	11.0 ± 0.8 b
Vitamin A	22 (4/18)	1.7 ± 0.7 b	11.1 ± 0.7 b
Vitamin A ve E	39 (7/18)	4.0 ± 1.6 b	8.6 ± 0.7 a

Vitamin E = 300 mg/kg yem ; vitamin A= 60.000 IU/kg yem



**Grafik IV. Vitamin E dozlarına göre HI titrelerindeki değişimler (41).**

Makrofajlar, immunregülasyonda ve enfeksiyonların önlenmesinde önemli role sahiptirler. Makrofajların enfeksiyon bölgesine göç etmeleri vitamin E tarafından etkilenmektedir. Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalar (60,62,64,99,100), vitamin E'nin özellikle Retrovirusun sebep olduğu immun bozuklukların esas düzenleyicisi olduğuna işaret etmektedir ve vitamin E'nin Retrovirus modelindeki immunstimülatör etkisinin makrofajlar üzerine olan etkisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Şekil 9).

Vitamin E bakımından yetersiz olan farelerde nötrofil ve makrofaj şemotaksisinin zayıfladığı ve otooksidatif hasarlardan korunmanın azaldığı görülmüş, diete vitamin E ilavesi farelerde makrofajlar tarafından immunosupressif sitokin üretimini azaltmıştır (100).

Sığırlar üzerinde yapılan bir çalışmada (51), mastitis olgularının vitamin E yetersizliğinde daha sık ve şiddetli olduğu, yangısel bölgede

nötrofil fonksiyonlarının zayıfladığı belirtilmektedir. Vitamin E ilavelerinin ise nötrofil fonksiyonlarının baskılanmasını önlediği tespit edilmiştir.

Sığırlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada (86) ise , B. abortus aşısının standart dozu verilmek suretiyle vitamin E ve selenyum uygulanan gruplarda uygulanmayanlara göre immun parametreler açısından farklılık olup olmadığı incelenmiş, Ig M değerlerinin günlük 1.400 IU vitamin E ilavesi yapılan grupta yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı artış Ig G ve total antikor düzeylerinde de görülürken, yalnız vitamin E ya da vitamin E + selenyum uygulanan gruplar arasında immun parametreler yönünden herhangi bir farklılık görülmemiştir.

Yemlerine; 0, 150 ve 300 I.U /kg dl-  $\alpha$ -tokoferol asetat ilave edilen 1 günlük broiler civcivler 15 günlük oldukları zaman E.coli ile enfekte edilmişler ve  $\alpha$ -tokoferol asetat'ın artan dozlarına paralel olarak mortalitede azalma( $P < 0.01$ ), antikor titrelerinde ise artma( $P < 0.01$ ) gözlenmiştir (87).

### **2.3. Vitamin A ve E arasındaki ilişkiler**

Yemlerde bulunan yağda çözünen vitaminler birbirlerinin emilimini etkilerler (1). Birinin fazla oranda bulunması diğerinin emilimini engeller. Özellikle A vitamininin fazlalığı E vitamininin emilimini yavaşlatır. Bunun tersi durumda söz konusudur. Bu durum barsak bozukluğu olan hayvanlarda ve kanatlıların malabsorbsiyon sendromunda önem taşır (132).

Vitamin A ve E tek başlarına verildikleri zaman immun yanıtı artırır. Yapılan bir araştırmada (87), 1 günlük civcivlere vitamin A ve E hem tek başlarına hem de kombine halde şu sıraya göre oluşturulan gruplara belirtilen dozlarda uygulanmıştır: 0, 150, 300 i.ü. vitamin E ve

0, 30.000, 60.000 i.ü vitamin A / kg yem. E.coli ile enfekte edilen hayvanlarda antikor titreleri ve mortalite oranları gruplara göre kıyaslanmış, her iki vitaminin bireysel olarak artan dozlarda uygulandığı gruplarda mortalite azalmış ( $P<0.01$ ), iki vitaminin kombine verildiği durumlarda ise savunma mekanizmasında belirgin zayıflamalar meydana gelmiştir ( $P<0.01$ ).

Wang .(124)' in yaptığı bir çalışmada, kanatlılara her gün oral yoldan 150 mg vitamin E asetat 1 ay süreyle verilmiş ve deneme grubundaki hayvanlarda hiperkeratozis, trachea epitelinde hiperplazi ve böbreklerde urat birikimi gibi vitamin A yetersizliğine spesifik lezyonlar ortaya çıkmıştır. Bu sonuç, aşırı vitamin E'nin organizmada vitamin A' ya zıt etki gösterebileceğine işaret etmektedir. Bu bulgulara rağmen serum vitamin A seviyeleri normal düzeylerde ( $63,4 \pm 5,3$  mcg/dl ) bulunurken vitamin E düzeyleri normalin yaklaşık 10 katı kadar bir değer göstermiştir ( $4.4 \pm 0.14$  mg/dl).

Benzer şekilde artan oranlarda verilen vitamin E 'ye bağlı olarak serum vitamin A değerlerinin azaldığı belirtilmiştir (125). Bu çalışmada, 300 i.ü. E vitamininin uygulandığı gruptaki hayvanlarda A vitamini değerleri 6 hafta sonra,hiç vitamin A verilmeyen A grubundaki hayvanların A vitamini değerleri ile eşdeğer olmuştur (Tablo V). İlk dönemlerde , aşırı oranda verilen vitamin E grubundaki yüksek serum vitamin A değerleri, fazla orandaki vitamin E'nin karaciğer depolarından vitamin A'nın sekresyonunu artırmasına bağlanmaktadır (125).

**Tablo V. Yüksek düzeydeki E vitamininin serum A vitamini konsantrasyonları üzerine etkisi (125).**

GRUP	<u>Yeme katılan Vit.E</u>	<u>Vit. A (<math>\mu\text{g} / \text{dl serum}</math>)</u>		
	I U /kg Yem	2.hafta	4.hafta	6.hafta
A	--	83 $\pm$ 10	64 $\pm$ 7	42 $\pm$ 5
B	700	63 $\pm$ 8	68 $\pm$ 7	73 $\pm$ 11 *
C	1400	92 $\pm$ 20	80 $\pm$ 7	76 $\pm$ 10 *
D	4200	73 $\pm$ 7	104 $\pm$ 8**	80 $\pm$ 8 **
E	7000	85 $\pm$ 16	95 $\pm$ 9**	48 $\pm$ 3

\*\* P<0.01 \* P<0.05

Yüksek dozda vitamin E , vitamin A' nın hücre içine girmesine engel olarak hedef hücrelerde antagonistik etkilerini göstermektedir (125). Yine bu çalışmada yüksek dozdaki vitamin E 'ye bağlı olarak ALT (Alanin Amino Transferaz) aktivitesinde yükselme (P<0.05) gözlenmiştir (Tablo VI).

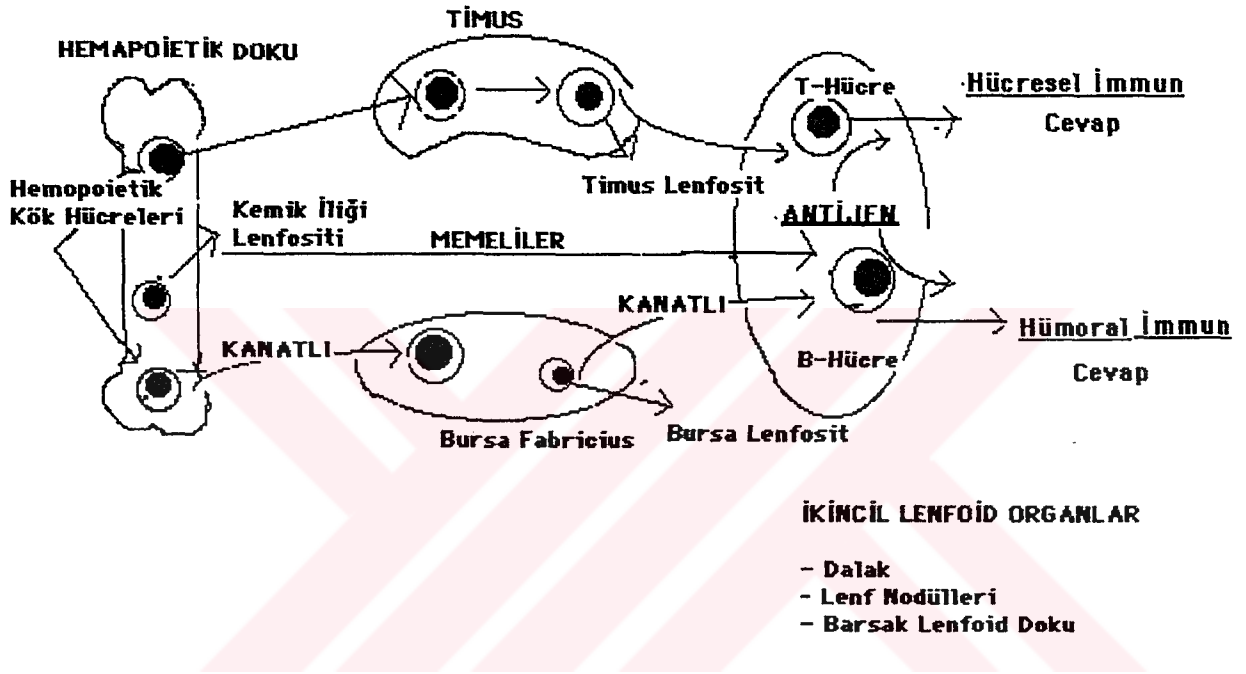
**Tablo VI. Tavuklarda yüksek düzeydeki E vitamininin bazı kan parametreleri üzerine etkisi (119).**

GRUP	<u>Yeme katılan</u>	<u>ALT</u>	<u>AST</u>	<u>CK</u>	<u><math>\gamma</math>-GT</u>
	Vit. E (IU/kg)	U/L	U/L	U/L	U/L
A	--	38 $\pm$ 10	185 $\pm$ 36	1226 $\pm$ 192	32 $\pm$ 4
B	700	45 $\pm$ 8	251 $\pm$ 19	1742 $\pm$ 295	37 $\pm$ 3
C	1400	41 $\pm$ 14	230 $\pm$ 18	1616 $\pm$ 322	40 $\pm$ 3
D	4200	61 $\pm$ 9	224 $\pm$ 21	1649 $\pm$ 363	38 $\pm$ 3
E	7000	77 $\pm$ 3 *	225 $\pm$ 45	1974 $\pm$ 543	37 $\pm$ 7

\* P<0.05

## 2.4. İMMUN SİSTEM HAKKINDA GENEL BİLGİLER

Vitamin A ve E' nin İmmun sistem üzerindeki etkileri incelenirken, konuya açıklık kazandırması bakımından bu sistem hakkında bilinmesi gereken temel hususlara kısaca değinilmiştir (4,61).



Şekil 11. T ve B lenfositlerin oluşumları (4).

### 2.4.1. İmmunitenin hücresel temeli

İmmun sistem spesifik olarak lenfosit adı verilen hücrelerden köken alır. Bu hücreler, kanda ve lenf nodüllerine bağlı lenf damarları içerisindeki lenf adı verilen beyaz sıvı içerisinde bol miktarda bulunur. Organizmada

timus, lenf nodülleri, dalak, apandis ve kemik iliği lenfoid organlar olarak özelleşmişlerdir.

1960'lı yıllarda immun cevap üzerinde farklı iki tip lenfositin etkili olduğu belirlenmiştir. T-lenfositler ; timustan köken alırlar ve hücrel immun cevaptan sorumludurlar. B-lenfositler ise memelilerde kemik iliğinden ya da fetal karaciğerden köken alırlar ve antikor üretiminden sorumludurlar. Kanatlılarda ise B-lenfositler bursa Fabricius'tan köken almışlardır. Bu özellik sadece kanatlılara hastır.

Lenfositler, hemopoietik kök hücrelerden oluşurlar ki , bu hücrelere alyuvarlar, akyuvarlar ve trombositler dahildirler. Bu kök hücreler fötusta hemopoietik doku olarak bilinen karaciğerde, erişkinlerde kemik iliğinde lokalize olmuşlardır. Bu nedenle hemopoietik doku, timus ve bursa Fabricius primer lenfoid organlar olarak tanımlanırlar. Sekunder lenfoid organlara ise, payer plakları olarak bilinen apandis ve tonsiller gibi organlar dahildirler (Şekil 11 ).

**2.4.1.1. T lenfositler:** T lenfositlerin farklı reaksiyonları hücrel immun cevap olarak isimlendirilir. Bu farklı reaksiyonlar farklı T lenfosit tiplerince oluşturulur:

**2.4.1.1.1. Sitotoksik T lenfositler:** Bu hücreler direkt olarak virus ile enfekte olmuş hücreye saldırarak etki gösterirler. Bu etki aynı zamanda tümör hücrelerine ve yabancı doku (greft) hücreleri için de geçerlidir. T lenfositler bu hücreleri tanıyarak perforin adı verilen bir protein salgılar ve yabancı hücreleri eritirler. Bütün hücrelerin yüzeyinde Major Histocompatibiliti Kompleks (MHC) adı verilen bir topluluğu oluşturan, genler tarafından determine edilen doku uyum antijenleri vardır. Bu nedenle yabancı doku hücreleri de immun sistem hücreleri tarafından kolayca



tanınırlar. Virusla enfekte hücrelerde viral RNA hedef hücre ribozomlarında yeni nükleoprotein sentezlenmesine neden olur. Bu nükleoprotein parçası da hedef hücrenin yüzeyinde MHC molekülüne tutunur. Sitotoksik T lenfosit ise yabancı nükleoproteini tanıyarak virus ile enfekte olan hücreyi öldürür (61).

T lenfositler tarafından salgılanan lenfokinler makrofajların yangı bölgesine göçünü ve bu hücrelerin davranışlarını kontrol ederler.

#### **2.4.1.1.2. Yardımcı (Helper) T lenfositler:**

Bu hücreler İnterleukin adı verilen kimyasal mediatörler salgılayarak bu maddelerle, antijenlere karşı T ve B hücrelerinin cevap vermesini sağlarlar. İnterleukinlerin etkisi ile T ve B lenfositler uyarılırlar. Yardımcı T lenfositler antijen sunan hücrelerin faaliyeti ile aktive edilip interleukin salgırlar (4.61).

#### **2.4.1.1.3. Baskılayıcı (Suppressör) T lenfositler:**

Bu hücreler yardımcı T lenfositlerin antagonisti olarak çalışırlar. Fakat bu hücrelerin çalışma mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. Yardımcı ve baskılayıcı T lenfositlere düzenleyici etkilerinden dolayı major efektör hücreler adı verilir. Yardımcı hücreler direkt olarak etkili olurlarken baskılayıcı hücreler indirekt etkilidirler.

### **2.4.2. Humoral İmmunite**

Humoral immuneden B lenfositler sorumludurlar. B lenfositler hemapoietik hücrelerden köken alırlar. Kanatlılarda ise bunların orijini bursa Fabricius'tur. T ve B lenfositler morfolojik olarak sadece antijenle

stimüle edildikten sonra ayırt edilebilirler. Stimüle olmamış T ve B hücreler elektron mikroskopta bile benzer şekilde görülürler. Her iki hücre de antijenle stimüle edildikten sonra çoğalır ve olgunlaşır. Aktive olmuş B hücreleri antikor sentezleyen plazma hücrelerine dönüşürler. B hücrelerinin antikor üretmeleri iki şekilde gerçekleşir:

1- Antijen B lenfositin yüzeyine tutunur. B lenfosit plazma hücresine farklılaşır ve antijene spesifik immunglobulin sentezlenir.

2-Antijenler , antijen sunan hücrelerin faaliyeti ile yardımcı T lenfositlerin yüzeyine (MHC II molekülüne) tutunurlar. Aktive edilmiş olan yardımcı T lenfositler, lokal kimyasal mediatör olarak etki eden İnterleukin (IL) adı verilen proteinleri üretirler (IL 4, IL 5, IL 6) . İnterleukinlerin etkisi ile B lenfositler aktive edilerek, çoğalırlar ve immunglobulin sentezi için plazma hücrelerine dönüşürler.

Plazma hücreleri tarafından sentezlenen antikorlar. çok değişik formdadırlar ve herbiri farklı aminoasit sekansına ve antijen için farklı bağlanma bölgelerine sahiptirler. Değişik savunma durumlarında kanda ve farklı vücut sıvılarında görülen 5 tür immunglobulin vardır:

1- **Ig G:** Serum Ig türlerinin % 75'ini oluşturur. Plasenta bariyerini geçebilen tek immunglobulindir.

2- **Ig A:** Serumda miktarı azdır. Ancak gözyaşı, kolostrum, salya, burun, bronş, barsak, prostat salgılarında bulunur. Vagina sıvısının temel immunglobulinidir. Enzimlere dayanıklıdır. Ig A sindirim, solunum ve üriner yolların mukozalarındaki plazma hücreleri tarafından salgılanır. Ig A'nın lümene geçebilmesi için epitel hücreleri tarafından üretilen salgı komponentine ihtiyaç vardır.

**3- Ig M:** Serum immunglobulinlerinin %10'unu oluşturur. B lenfositlerin yüzeylerindeki temel immunglobulindir. Ig M'nin zara bağlı ve dolaşımda olan biçimleri vardır. Zara bağlı türleri hücre yüzeyindeki reseptörleri oluştururlar. İşte bu yüzey reseptörlerinin özel antijenlerle etkileşimi sonucu B lenfositler uyarılıp çoğalarak farklılaşırlar ve plazma hücrelerini oluştururlar. Ig M ayrıca komplement sistem denilen bakteri hücreleri gibi yabancı hücrelerin eritilmesini sağlayan bir grup plazma proteinini de aktive eder.

**4- Ig E:** Mast hücreleri ve bazofillerin yüzey reseptörlerine aşırı derecede ilgi gösterir. Plazma hücreleri tarafından salgılandıktan hemen sonra bu hücrelerin yüzeylerine bağlanırlar. Böylece Ig E yapımına neden olan antijenlerin yeniden organizmaya girmesi ile bu antijenler bazofil ve mast hücrelerindeki Ig E reseptörleri ile birleşirler. Oluşan antijen antikor kompleksi bu hücrelerden çeşitli biyolojik aktif maddelerin salınımına neden olur. Histamin, heparin, leukotrienler gibi maddeler allerjik reaksiyonları başlatırlar.

**5- Ig D:** Özellikleri ve işlevleri çok iyi bilinmemektedir. Plazmada Ig'lerin % 0-2'sini oluştururlar. Ig M ile birlikte B lenfositlerin hücre zarına yerleşmiş durumda olup B lenfositlerin farklılaşıp olgunlaşmasında rol alırlar.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Çalışma materyali olarak, ticari bir civciv işletmesinden temin edilen 750 adet Hyline ırkı erkek yumurtacı civciv kullanılmıştır. Hayvanlar O. günlük iken alınıp, S.Ü.Veteriner Fakültesi Deneme ve Uygulama ünitelerine getirilerek aşı ve aşısız olmak üzere iki grup halinde tutulmuşlardır. Her grup kendi arasında, kontrol grubu dahil vitamin A ve E'nin dozlarına göre 6 ayrı alt gruba ayrılarak toplam 12 grup şeklinde düzenlenmiştir.

Deneme gruplarına Tablo VII' de belirtilen şekilde yemleme programı uygulanmıştır. Yemleme programında esas olan vitamin A ve E'nin dozlarındaki farklılık olup, temel rasyon içerikleri ve oranları ise Tablo VIII' de belirtilmiştir.

Civcivler 12 günlük olduklarında aşı olması gereken grubun içme suyuna Gumboro (IBD) aşısı konarak ilk aşı uygulaması yapılmıştır. Bu uygulama 28. günde tekrarlanmıştır. Aşılama işleminin hemen öncesinde hayvanlardan, direkt kalbe girilerek kan alınmış ve herbir kan örneği ikiye ayrılarak yarısı serum elde etmek amacı ile normal tüpe konmuş, diğer yarısı ise plazma elde etmek amacı ile heparin içeren tüpe aktarılmıştır.

Bütün gruplardaki hayvanların, ısı, ışık, verilen yem ve su miktarları gibi faktörlerden eşit derecede yararlanması sağlanmış, yem ve suları ad libitum olarak verilmiştir. İlk bir ay içerisinde civcivler için yaklaşık 30 °C

lık bir ortam sağlanmış, bir ay sonrasında ise oda ısısı normal şartlarda (20-25 °C arasında) tutulmuştur.

**Tablo VII. Deneme sũresince gruplara uygulanan vitamin dũzeyleri**

Gruplar	Vitamin A (IU/kg yem)	Vitamin E (IU/kg yem)
1.Grup (Kontrol)	---	---
2.Grup	18.000	---
3.Grup	40.000	---
4.Grup	80.000	---
5.Grup	18.000	70
6.Grup	18.000	700

**Tablo VIII. Gruplara uygulanan rasyonun % bileşimi.**

Yem maddesi	%
Buğday	66.2
Soya Fasũlyesi	26
Balık Unu	2
Bitkisel Yağ	3
Kireç taşı	1.5
DCP	0.8
Min. Premix	0.1
Tuz	0.15
Vit. Premix	0.25

### **3.2 Metot:**

Hayvanların kanları ilk haftayı takiben 1'er hafta aralıklarla 6 kez alınmıştır. Kan alma işlemi sabah saat 8<sup>00</sup>- 10<sup>00</sup> arasında direkt kalbe girilerek yapılmış, alınan kanların plazma ve serumları derhal çıkartılmıştır. Kan alımı yapılan günlerde her gruptan 6'sar civcivden kan alınmış ve her seferinde aşılı ve aşısız gruplardan toplam 72 kan örneği elde edilmiştir. Alınan kan örneklerinde AST, ALT, total protein, albumin, ürik asit, vitamin A ve E ile antikor titre tayinleri için serum ve plazmalar derin dondurucuda bekletilmiştir. Bunun yanısıra akyuvar formülü ve % T lenfosit sayımı için her bir kandan iki ayrı sürme kan frotisi hazırlanmıştır.

#### **3.2.1. Vitamin A ve E tayini**

Bu iki vitaminin tayini Kenneth ve ark.( 59 )'nın belirttiği şekilde Yüksek Performans Likit Kromatografi (HPLC) de gerçekleştirildi.

##### **3.2.1.1. Plazma ekstraksiyonu**

Plazmalar, derin dondurucudan çıkartılıp çözündükten sonra ekstraksiyon tüpü içerisine 200 µl plazma kondu, üzerine 200 µl etanol ilave edilerek 15 sn vortexte karıştırıldı. Bu karışım üzerine 400 µl n-hekzan ilave edilerek tekrar 1 dk vortekste karıştırıldı. Tüpler 2000 devirde 10 dk santrifüj edilerek üst kısımda yer alan hekzan fazından 300 µl başka bir tüpe alınarak 37 °C ye ayarlanmış etüvde bir gece hekzanın uçması için bekletildi. Daha sonra ağzıları kapatılarak analize kadar -20 °C de saklandı.

**3.2.1.2. HPLC analiz şartları**

HPLC	: LA 6A Shimadzu
Pompa	: LC 6A
Sistem Kontrolör	: SCL 6A
UV-VİS Dedektör	: SPV 6 AV
Rekorder	: C R6a Chromatopac
Kolon	: ET 125 / 1/4 "/ 3 NUCLEOSİL 120-5 C 18
Mobil Faz	: Metanol/Asetonitril/Kloroform (25/60/15)
Akış Hızı	: 1 ml /dk
Rekorder	: 5 mm/dk
Dalga Boyu	: Retinol :325 nm Tokoferol:292 nm

**3.2.1.3. Vitaminlerin HPLC'de analizi**

İşleme hazır hale getirilmiş olan tüpler -20 °C den çıkartılarak oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Bu arada HPLC cihazı ölçüm için standardize edilerek her bir tüp içine 100 µl etanol ilavesi ile numunenin çözünmesi sağlandı. 1-2 dakika sonra bu karışımdan 20 µl alınarak cihaza enjekte edildi. Standart eğri grafiğine uygun olarak, elde edilen pikler değerlendirildi.

### 3.2.2. ELISA İle Ig G Tayini

Serumda Ig G tayini için , IBD'e spesifik olarak hazırlanmış IDEXX marka test kiti (\*) kullanıldı. A vitamininin aşı titresini artırıcı etkisinin olup olmadığını araştırmak amacı ile serum örnekleri sadece aşı grup hayvanlardan alınarak; 1. ,2. ve 4. vitamin grupları denemede kullanıldı. Numuneler , 2 kez yapılan Gumboro aşısına karşı oluşması beklenen titrelerin en yüksek olduğu 3. ve 6. haftalarda alındı. Ig G tayininde, IBD'ye spesifik antijenle kaplı hazır pleytler kullanıldı. Bu pleytlerin pozitif ve negatif kontrol gözleri dışındaki çukurcuklara 75 µl sulandırma sıvısı kondu ve üzerlerine bu sulandırma sıvısı ile 1/125 oranında sulandırılmış olan serumlardan 25 µl ilave edildi. Pleytin A<sub>1</sub> ve A<sub>2</sub> gözlerine (-) kontrol, A<sub>3</sub> ve A<sub>4</sub> gözlerine ise (+) kontrol serumlardan 100' er µl konuldu. 30 ' oda ısısında beklendikten sonra pleyt 3 kez bidistile su ile yıkandı. Çukurcuklara 100' er µl konjugat (Anti chicken - goat Horseradish Peroksidase ) ilave edilerek 15 ' beklendi. Pleyt tekrar 3 kez bidistile su ile yıkandı ve gözlerle 100 ' er µl substrat (Ortofenilen diamin + fosfat sitrat buffer + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ) ilave edildi. 15' beklendi ve herbir çukurcuğa 100 µl stop solusyonu (% 0.12 Hidroflorik asit) konularak Mikroplate - Autoreader EL 311 (Bio-tek Instruments Inc. EL 311 SX ) cihazında 650 nm de ölçüldü. Absorbans değerleri logaritmik değerlere çevrilerek log<sub>10</sub> tabanına göre Ig G değerleri elde edildi.

.....  
 \* Infectious Bursal Disease Antibody test kit. IDEXX Innovators In Diagnostics IDEXX Laboratories , Inc. One IDEXX Drive, West brook, Maine 04092 USA



### **3.2.3. Kan frotilerinin hazırlanması**

Bu amaçla belirli grup ve haftalarda alınan kanlardan hemen frotiler hazırlanarak açık havada kurutuldu ve May Grünwald-Giemsa yöntemiyle (65) boyanarak hücre sayımları yapılmak üzere saklandı. Daha sonra mikroskopik incelemede 100 hücre sayılarak % lenfosit, monosit, heterofil, eozinofil, bazofil oranları tespit edildi. Yine aynı şekilde frotiler yapılarak kurutulmuş preparatlar da % T lenfosit oranlarının belirlenmesi amacıyla Mueller ve ark.nın ( 82 ) belirttiği şekilde, T lenfositlere özgü alfa naftil asetat esteraz (ANAE) enziminin demonstrasyonu esasına göre boyandı. Mikroskopik incelemede kahverengimsi granülleri bulunan lenfositler ANAE-pozitif kabul edilerek her frotilde 200 hücre sayılmak suretiyle % T lenfosit oranları belirlendi.

### **3.2.4. Total protein ve albumin tayini**

Total protein ve albumin tayini için kan serumu kullanıldı ve ölçümler bio CLINICA test kitleri ile Shimadzu UV-Vis 2100 model spektrofotometrede kan alımlarını takiben 2. günde gerçekleştirildi.

### **3.2.5. Ürik asit tayini**

Kan plazmasında ürik asit miktar tayini, spektrofotometrik olarak yapıldı ( 7 ).

### **3.2.5.2. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanması**

Kalibrasyon eğrisini elde etmek amacıyla 15 adet tüp alındı ve bunlara %1-15 mg ürik asit içerecek şekilde stok ürik asit solusyonundan konularak deneyin diğer prosedürleri aynen uygulandı.

### **3.2.6. AST ve ALT tayinleri**

Kan alımını takiben, ayrılmış olan serumlarda bu iki enzimin tayini, bio CLINICA test kitleri kullanılarak yapıldı. Ölçümler S.Ü.Veteriner Fakültesi Merkez Laboratuvarında bulunan Shimadzu UV- Vis 2100 model spektrofotometrede gerçekleştirildi.

### **3.2.7. Sonuçların istatistikî yönden değerlendirilmesi**

Bütün parametreler, aşı ve aşısız gruplar arası, kan alımı dönemleri, grup içi ve gruplar arasında farklılık olup olmadığı yönünden değerlendirildi. Bu amaçla multi faktöriyel varyans analizi ve Duncan testi uygulandı. Aşı ve aşısız grupların kendi aralarındaki değerlendirmesinde ise t testi kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Denemelerde elde edilen sonuçlar tablo ve grafikler halinde aşağıda sunulmuştur.

Tablo 1 ve 2 de, aşıllı ve aşısız gruplarda vitamin A, E, total protein, albumin ve ürik asit değerleri ,

Tablo 3 ve 4 de, aşıllı ve aşısız gruplarda akyuvar sayıları,

Tablo 5 de, aşıllı ve aşısız gruplarda dönem (hafta) lere göre AST ve ALT enzim değişimleri,

Tablo 6 da ise, aşıllı grupta Ig G değerleri ile aşıllı ve aşısız gruplarda T lenfosit sayıları verilmiştir.

Bütün parametrelerin dönemlere, vitamin gruplarına , aşıllı ve aşısız gruplara göre değişimlerinin istatistiki karşılaştırmaları Tablo 7, 8, 9, 10, 11, 12 de belirtilmiştir. Ayrıca bu veriler grafik 1- 11 arasında da özetlenmiştir.

Tablo 1. Aşılı ve aşısız gruplarda vitamin A ve E değerleri

	AŞI (+)	AŞI (-)	AŞI (+)	AŞI (-)
1.Dönem	Vitamin A (mcg/dl)	Vitamin A (mcg/dl)	Vitamin E (mg/dl)	Vitamin E (mg/dl)
1.Grup (Kont)	37.18 ± 4.22	35.74 ± 3.85	1.20 ± 0.23	0.74 ± 0.51
2.Grup	35.74 ± 3.85	34.42 ± 2.29	0.74 ± 0.51	0.40 ± 0.16
3.Grup	34.37 ± 3.79	42.57 ± 5.46	0.40 ± 0.16	0.26 ± 0.09
4.Grup	42.57 ± 5.46	37.18 ± 4.22	0.26 ± 0.09	0.67 ± 0.00
5.Grup	34.42 ± 2.29	33.40 ± 2.20	0.67 ± 0.05	1.20 ± 0.23
6.Grup	72.83 ± 3.75	72.83 ± 3.75	0.75 ± 0.16	0.75 ± 0.16
<b>2.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	18.32 ± 4.17	12.19 ± 1.53	0.47 ± 0.19	0.95 ± 0.30
2.Grup	17.77 ± 4.13	22.97 ± 1.69	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.02
3.Grup	58.59 ± 4.95	32.89 ± 2.24	1.95 ± 0.38	0.13 ± 0.09
4.Grup	59.68 ± 4.07	45.84 ± 2.48	0.13 ± 0.10	0.63 ± 0.22
5.Grup	41.43 ± 1.75	54.94 ± 5.39	2.96 ± 0.49	3.15 ± 0.15
6.Grup	73.35 ± 4.07	77.46 ± 6.23	6.72 ± 0.52	5.93 ± 0.56
<b>3.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	10.38 ± 1.18	11.59 ± 0.97	0.21 ± 0.08	0.24 ± 0.05
2.Grup	28.32 ± 2.97	25.41 ± 2.48	0.22 ± 0.07	0.59 ± 0.24
3.Grup	40.61 ± 8.53	41.09 ± 4.29	0.16 ± 0.08	0.92 ± 0.34
4.Grup	66.97 ± 6.73	63.50 ± 9.60	0.00 ± 0.00	3.01 ± 0.74
5.Grup	102.0 ± 10.77	47.00 ± 3.61	6.72 ± 0.66	1.11 ± 0.66
6.Grup	69.24 ± 8.83	54.99 ± 4.46	10.00 ± 1.16	7.70 ± 0.75
<b>4.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	11.20 ± 0.80	14.54 ± 2.35	0.54 ± 0.28	0.00 ± 0.00
2.Grup	29.75 ± 1.25	34.65 ± 2.98	0.02 ± 0.01	0.00 ± 0.00
3.Grup	40.10 ± 3.30	46.70 ± 1.11	0.56 ± 0.33	0.00 ± 0.00
4.Grup	59.05 ± 3.81	62.01 ± 2.74	0.55 ± 0.23	0.76 ± 0.17
5.Grup	65.63 ± 6.86	75.64 ± 3.34	9.39 ± 0.92	8.89 ± 0.76
6.Grup	64.15 ± 4.80	88.11 ± 9.17	9.93 ± 1.19	8.84 ± 0.82
<b>5.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	26.55 ± 12.81	11.67 ± 0.78	0.12 ± 0.04	0.18 ± 0.06
2.Grup	26.74 ± 1.55	34.50 ± 1.86	0.11 ± 0.05	0.03 ± 0.01
3.Grup	40.26 ± 1.32	35.10 ± 0.46	0.33 ± 0.13	0.00 ± 0.00
4.Grup	68.34 ± 1.71	67.69 ± 4.57	0.13 ± 0.09	0.00 ± 0.00
5.Grup	72.75 ± 3.76	74.94 ± 1.90	8.59 ± 0.53	6.98 ± 0.64
6.Grup	78.58 ± 7.59	75.50 ± 5.63	8.58 ± 0.34	8.17 ± 4.48
<b>6.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	11.99 ± 1.99	12.81 ± 1.88	0.70 ± 0.18	0.87 ± 0.20
2.Grup	33.37 ± 2.20	32.33 ± 2.81	0.57 ± 0.24	0.83 ± 0.25
3.Grup	43.52 ± 1.37	40.47 ± 1.80	1.57 ± 0.21	1.05 ± 0.29
4.Grup	70.17 ± 3.66	71.88 ± 3.17	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
5.Grup	48.30 ± 3.79	48.01 ± 4.98	8.46 ± 0.52	8.35 ± 0.65
6.Grup	59.75 ± 3.33	52.85 ± 5.64	8.61 ± 0.55	8.73 ± 0.60

Tablo 2. Aşılı ve aşısız gruplarda ürik asit, total protein ve albumin değerleri

	AŞI (+)	AŞI (-)	AŞI (+)	AŞI (-)	AŞI (+)	AŞI (-)
	Ürik Asit mg/dl	Ürik Asit mg/dl	Albumin g/dl	Albumin g/dl	Tot . Prot g/dl	Tot . Prot g/dl
<b>1.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	4.37 ± 0.47	4.37 ± 0.47	1.32 ± 0.06	1.42 ± 0.05	3.64 ± 0.06	2.76 ± 0.16
2.Grup	4.62 ± 0.41	4.62 ± 0.41	1.42 ± 0.05	1.82 ± 0.05	2.76 ± 0.16	3.01 ± 0.14
3.Grup	4.77 ± 0.19	4.77 ± 0.19	1.47 ± 0.06	1.47 ± 0.06	2.93 ± 0.14	3.13 ± 0.13
4.Grup	6.20 ± 0.35	3.73 ± 0.19	1.56 ± 0.09	1.32 ± 0.06	3.13 ± 0.13	3.64 ± 0.06
5.Grup	3.73 ± 0.19	6.20 ± 0.35	1.82 ± 0.05	1.20 ± 0.09	2.94 ± 0.18	2.94 ± 0.18
6.Grup	6.70 ± 0.17	6.70 ± 0.17	1.20 ± 0.09	1.56 ± 0.09	3.01 ± 0.14	2.93 ± 0.14
<b>2.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	7.33 ± 0.17	7.05 ± 0.26	1.85 ± 0.04	1.51 ± 0.09	4.24 ± 0.35	3.74 ± 0.50
2.Grup	4.42 ± 0.17	4.42 ± 0.21	1.44 ± 0.08	1.45 ± 0.10	2.79 ± 0.06	2.71 ± 0.09
3.Grup	5.43 ± 0.19	3.73 ± 0.18	1.66 ± 0.09	1.37 ± 0.05	2.91 ± 0.11	2.45 ± 0.07
4.Grup	4.17 ± 0.20	4.55 ± 0.59	0.90 ± 0.07	1.22 ± 0.14	2.61 ± 0.16	3.07 ± 0.31
5.Grup	5.73 ± 0.22	5.43 ± 0.25	1.37 ± 0.09	1.20 ± 0.07	2.72 ± 0.15	2.64 ± 0.14
6.Grup	5.88 ± 0.20	5.72 ± 0.38	1.47 ± 0.04	1.21 ± 0.04	3.11 ± 0.14	2.73 ± 0.15
<b>3.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	11.28 ± 0.67	10.18 ± 0.31	2.06 ± 0.11	2.08 ± 0.12	4.77 ± 0.25	4.63 ± 0.24
2.Grup	6.18 ± 0.14	7.62 ± 0.37	1.60 ± 0.05	1.49 ± 0.13	2.66 ± 0.14	3.21 ± 0.06
3.Grup	5.47 ± 0.21	5.45 ± 0.33	1.93 ± 0.10	1.41 ± 0.09	2.85 ± 0.15	3.35 ± 0.17
4.Grup	5.15 ± 0.08	3.62 ± 0.24	1.81 ± 0.13	1.48 ± 0.10	2.81 ± 0.12	3.36 ± 0.06
5.Grup	5.43 ± 0.10	4.57 ± 0.24	1.83 ± 0.08	1.48 ± 0.09	3.10 ± 0.14	3.33 ± 0.14
6.Grup	4.99 ± 0.12	4.47 ± 0.32	1.64 ± 0.09	1.42 ± 0.08	3.12 ± 0.14	3.24 ± 0.08
<b>4.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	12.72 ± 0.42	11.77 ± 0.75	1.83 ± 0.14	1.66 ± 0.16	5.38 ± 0.16	4.99 ± 0.18
2.Grup	8.47 ± 0.38	5.87 ± 0.31	1.78 ± 0.13	1.32 ± 0.12	3.27 ± 0.41	4.54 ± 0.44
3.Grup	5.72 ± 0.29	5.05 ± 0.27	1.35 ± 0.06	1.29 ± 0.04	3.07 ± 0.13	3.68 ± 0.37
4.Grup	4.90 ± 0.18	5.88 ± 0.26	1.45 ± 0.17	1.12 ± 0.07	2.84 ± 0.06	3.11 ± 0.13
5.Grup	5.83 ± 0.13	5.77 ± 0.15	1.70 ± 0.21	1.33 ± 0.12	2.89 ± 0.12	3.44 ± 0.15
6.Grup	5.70 ± 0.18	5.62 ± 0.28	1.44 ± 0.16	1.58 ± 0.17	3.47 ± 0.20	3.14 ± 0.14
<b>5.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	13.17 ± 0.58	11.43 ± 0.45	1.87 ± 0.06	1.79 ± 0.09	5.60 ± 0.18	6.60 ± 0.09
2.Grup	8.47 ± 0.38	8.95 ± 0.22	1.70 ± 0.08	1.80 ± 0.15	4.79 ± 0.41	5.22 ± 0.29
3.Grup	5.72 ± 0.29	6.05 ± 0.09	1.68 ± 0.06	1.81 ± 0.12	4.04 ± 0.42	4.00 ± 0.09
4.Grup	4.90 ± 0.18	4.68 ± 0.33	1.45 ± 0.07	1.81 ± 0.13	4.79 ± 0.37	3.59 ± 0.15
5.Grup	5.83 ± 0.13	4.60 ± 0.31	0.88 ± 0.06	1.94 ± 0.08	4.53 ± 0.26	2.55 ± 0.15
6.Grup	5.70 ± 0.18	4.65 ± 0.40	1.36 ± 0.07	1.69 ± 0.07	4.29 ± 0.18	3.80 ± 0.14
<b>6.Dönem</b>						
1.Grup (Kont)	14.23 ± 1.21	14.82 ± 0.83	1.54 ± 0.10	1.76 ± 0.10	5.46 ± 0.26	5.12 ± 0.28
2.Grup	9.40 ± 0.18	10.07 ± 0.41	2.02 ± 0.08	2.06 ± 0.09	4.57 ± 0.32	5.36 ± 0.39
3.Grup	5.48 ± 0.16	5.95 ± 0.12	1.81 ± 0.07	1.99 ± 0.06	4.08 ± 0.13	4.46 ± 0.36
4.Grup	5.88 ± 0.22	5.90 ± 0.20	1.64 ± 0.08	1.76 ± 0.06	3.68 ± 0.20	3.71 ± 0.11
5.Grup	5.70 ± 0.28	5.63 ± 0.23	1.68 ± 0.08	1.82 ± 0.09	3.84 ± 0.09	3.87 ± 0.20
6.Grup	5.73 ± 0.20	5.17 ± 0.12	1.73 ± 0.08	1.57 ± 0.12	3.52 ± 0.23	4.51 ± 0.33

Tablo 3 . Aşılı gruplarda akyuvar sayıları

	Monosit (%)	Eozinofil (%)	Bazofil (%)	Nötrofil (%)	Lenfosit (%)
<b>1.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	2.00 ± 0.37	0.67 ± 0.33	0.33 ± 0.21	18.67 ± 1.67	76.17 ± 1.70
2.Grup	1.00 ± 0.37	0.33 ± 0.21	1.50 ± 0.56	73.83 ± 1.28	23.33 ± 1.33
3.Grup	1.50 ± 0.43	1.50 ± 0.22	1.00 ± 0.26	73.33 ± 2.59	22.67 ± 2.81
4.Grup	2.17 ± 0.54	0.67 ± 0.33	1.00 ± 0.37	70.83 ± 2.17	25.33 ± 2.16
<b>2.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	1.33 ± 0.33	0.83 ± 0.31	0.83 ± 0.31	27.00 ± 1.75	70.00 ± 1.75
2.Grup	1.33 ± 0.33	1.00 ± 0.52	1.33 ± 0.56	27.00 ± 1.75	70.00 ± 1.75
3.Grup	2.00 ± 0.26	0.83 ± 0.40	0.83 ± 0.40	20.00 ± 1.63	76.00 ± 1.84
4.Grup	1.67 ± 0.42	0.38 ± 0.21	0.67 ± 0.33	19.17 ± 1.30	78.67 ± 1.45
<b>3.dönem</b>					
1.Grup (Kont)	3.00 ± 0.68	2.83 ± 0.70	1.50 ± 0.43	19.17 ± 2.26	72.67 ± 1.99
2.Grup	2.20 ± 0.80	1.40 ± 0.40	0.40 ± 0.24	15.60 ± 0.98	80.20 ± 1.36
3.Grup	3.00 ± 0.45	2.17 ± 0.48	0.33 ± 0.21	23.50 ± 1.80	68.17 ± 1.94
4.Grup	1.67 ± 0.61	1.83 ± 0.60	0.33 ± 0.21	30.00 ± 0.86	66.17 ± 1.85
<b>4.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	1.50 ± 0.22	1.00 ± 0.26	1.17 ± 0.31	41.50 ± 1.59	55.00 ± 1.75
2.Grup	0.67 ± 0.49	0.50 ± 0.50	1.17 ± 0.31	28.83 ± 1.87	68.83 ± 1.89
3.Grup	2.00 ± 0.37	0.33 ± 0.21	0.50 ± 0.22	26.83 ± 1.08	70.50 ± 1.61
4.Grup	0.50 ± 0.34	0.83 ± 0.40	1.00 ± 0.26	26.17 ± 1.47	71.33 ± 2.03
<b>5.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	0.50 ± 0.22	1.17 ± 0.60	0.67 ± 0.33	73.67 ± 1.54	23.33 ± 1.36
2.Grup	2.83 ± 0.40	0.50 ± 0.22	0.33 ± 0.21	38.67 ± 5.68	59.33 ± 5.53
3.Grup	0.83 ± 0.48	1.83 ± 0.40	0.83 ± 0.40	29.50 ± 4.39	66.17 ± 3.78
4.Grup	1.83 ± 0.40	0.50 ± 0.22	0.67 ± 0.33	20.33 ± 3.23	76.17 ± 2.85
<b>6.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	1.17 ± 0.48	1.17 ± 0.31	0.67 ± 0.33	73.67 ± 1.54	23.33 ± 1.36
2.Grup	1.17 ± 0.48	0.50 ± 0.50	0.33 ± 0.21	38.67 ± 5.68	59.33 ± 5.53
3.Grup	2.33 ± 0.76	0.50 ± 0.50	0.83 ± 0.40	29.50 ± 4.39	66.17 ± 3.78
4.Grup	2.83 ± 0.75	1.00 ± 0.63	0.67 ± 0.33	20.33 ± 3.23	76.17 ± 2.85

Tablo 4 . Aşısız gruplarda akyuvar sayıları

	Monosit (%)	Eozinofil (%)	Bazofil (%)	Nötrofil (%)	Lenfosit (%)
<b>1.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	2.17 ± 0.54	1.50 ± 0.22	1.00 ± 0.37	18.67 ± 1.67	76.17 ± 1.70
2.Grup	1.50 ± 0.43	0.33 ± 0.21	1.00 ± 0.26	70.83 ± 2.17	25.33 ± 2.16
3.Grup	2.00 ± 0.37	0.67 ± 0.33	0.33 ± 0.21	73.83 ± 2.59	23.33 ± 1.33
4.Grup	1.00 ± 0.37	0.67 ± 0.33	1.50 ± 0.56	73.33 ± 2.59	22.67 ± 2.81
<b>2.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	0.83 ± 0.48	0.83 ± 0.31	1.33 ± 0.56	27.83 ± 1.85	69.00 ± 2.19
2.Grup	0.83 ± 0.48	0.83 ± 0.31	0.50 ± 0.34	27.83 ± 1.85	69.00 ± 2.19
3.Grup	2.17 ± 0.40	1.17 ± 0.54	0.67 ± 0.21	26.83 ± 1.76	69.33 ± 1.38
4.Grup	0.67 ± 0.49	0.67 ± 0.33	0.67 ± 0.33	21.17 ± 1.51	76.67 ± 1.63
<b>3.dönem</b>					
1.Grup (Kont)	2.67 ± 0.33	0.33 ± 0.21	0.67 ± 0.21	38.00 ± 2.08	63.67 ± 0.95
2.Grup	2.60 ± 0.51	1.00 ± 0.32	0.40 ± 0.24	46.80 ± 0.80	49.20 ± 0.97
3.Grup	1.67 ± 0.33	0.67 ± 0.33	0.50 ± 0.22	37.83 ± 2.39	59.83 ± 2.74
4.Grup	1.33 ± 0.21	1.33 ± 0.21	0.50 ± 0.22	30.67 ± 3.18	66.17 ± 3.29
<b>4.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	1.17 ± 0.17	1.00 ± 0.37	0.67 ± 0.33	56.83 ± 2.32	40.33 ± 2.06
2.Grup	2.00 ± 0.63	1.33 ± 0.33	1.33 ± 0.21	40.00 ± 3.37	56.67 ± 3.25
3.Grup	0.33 ± 0.21	1.00 ± 0.37	0.33 ± 0.21	34.00 ± 1.71	64.50 ± 1.65
4.Grup	0.67 ± 0.33	1.33 ± 0.21	0.83 ± 0.31	28.17 ± 2.81	69.17 ± 2.94
<b>5.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	2.17 ± 0.31	0.33 ± 0.21	1.17 ± 0.17	73.50 ± 0.72	21.83 ± 0.70
2.Grup	2.83 ± 0.70	0.83 ± 0.31	1.00 ± 0.37	53.83 ± 5.39	46.67 ± 3.18
3.Grup	1.67 ± 0.33	1.50 ± 0.22	0.33 ± 0.21	19.17 ± 3.63	79.00 ± 3.06
4.Grup	0.50 ± 0.34	1.00 ± 0.63	0.67 ± 0.33	25.50 ± 3.58	71.33 ± 3.24
<b>6.Dönem</b>					
1.Grup (Kont)	2.83 ± 0.70	0.67 ± 0.33	1.17 ± 0.17	73.50 ± 0.72	21.83 ± 0.70
2.Grup	1.83 ± 0.60	1.00 ± 0.37	1.00 ± 0.37	53.83 ± 5.39	46.67 ± 3.18
3.Grup	1.17 ± 0.40	0.33 ± 0.21	0.33 ± 0.21	19.17 ± 3.63	79.00 ± 3.06
4.Grup	1.50 ± 0.22	1.00 ± 0.63	0.67 ± 0.33	25.50 ± 3.58	71.33 ± 3.24

Tablo 5 . Aşılı ve aşısız gruplarda AST ve ALT enzimlerinin değişimleri

	AŞI (+)	AŞI (-)	AŞI (+)	AŞI (-)
	AST (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALT (U/L)
<b>1.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	227.22 ± 16.91	266.05 ± 9.40	26.47 ± 3.18	26.45 ± 3.17
3.Grup	266.07 ± 9.44	265.80 ± 11.00	35.31 ± 6.46	34.98 ± 6.46
5.Grup	265.81 ± 11.99	228.50 ± 15.90	19.68 ± 2.72	21.57 ± 1.66
6.Grup	264.46 ± 20.12	264.40 ± 20.98	21.56 ± 1.65	19.68 ± 2.72
<b>3.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	263.92 ± 32.35	259.65 ± 18.33	23.45 ± 3.54	25.00 ± 2.76
3.Grup	276.34 ± 18.68	379.25 ± 16.09	21.59 ± 3.22	28.84 ± 4.64
5.Grup	338.89 ± 11.21	339.60 ± 7.26	30.57 ± 3.16	19.41 ± 2.33
6.Grup	324.32 ± 15.77	329.68 ± 12.46	29.38 ± 3.29	26.78 ± 2.28
<b>6.Dönem</b>				
1.Grup (Kont)	199.22 ± 6.26	171.45 ± 15.07	12.67 ± 1.06	15.36 ± 1.09
3.Grup	295.36 ± 24.85	259.57 ± 9.64	9.90 ± 1.00	14.01 ± 2.03
5.Grup	385.34 ± 30.08	343.92 ± 10.20	13.48 ± 1.81	13.21 ± 0.65
6.Grup	364.12 ± 13.31	363.30 ± 7.06	18.11 ± 1.40	11.32 ± 0.72



**Tablo 6 . Aşılı gruplarda Ig G değerleri ile aşılı ve aşısız gruplarda T lenfosit değerleri**

	AŞI (-)	AŞI (+)	
	T Lenfosit (%)	T Lenfosit (%)	Ig G (Log 10 )
<b>1.Dönem</b>			
1.Grup (Kont)	25.67 ± 1.41	22.00 ± 1.51	
2.Grup	24.17 ± 1.14	31.33 ± 1.26	
3.Grup	27.50 ± 1.45	22.50 ± 1.18	
4.Grup	31.33 ± 1.26	24.17 ± 1.14	
5.Grup	22.00 ± 1.51	25.67 ± 1.41	
6.Grup	22.50 ± 1.18	27.50 ± 1.45	
<b>2.Dönem</b>			
1.Grup (Kont)	17.17 ± 1.40	19.67 ± 1.28	
2.Grup	23.17 ± 1.22	22.00 ± 1.06	
3.Grup	29.50 ± 1.50	30.50 ± 0.76	
4.Grup	32.83 ± 1.33	32.50 ± 0.99	
5.Grup	30.00 ± 1.44	25.83 ± 2.10	
6.Grup	20.33 ± 0.84	24.33 ± 1.63	
<b>3.dönem</b>			
1.Grup (Kont)	22.50 ± 1.65	20.50 ± 1.52	4.50 ± 0.43
2.Grup	25.83 ± 1.40	25.00 ± 1.29	8.33 ± 2.06
3.Grup	28.33 ± 2.28	25.50 ± 0.92	
4.Grup	32.17 ± 1.19	29.17 ± 1.89	16.83 ± 0.48
5.Grup	26.00 ± 1.32	25.50 ± 1.23	
6.Grup	19.83 ± 1.72	21.67 ± 1.23	
<b>4.Dönem</b>			
1.Grup (Kont)	23.83 ± 1.35	20.83 ± 0.87	
2.Grup	24.00 ± 1.29	23.67 ± 1.71	
3.Grup	28.83 ± 0.83	29.33 ± 1.17	
4.Grup	32.83 ± 1.08	31.83 ± 0.95	
5.Grup	29.33 ± 2.01	30.00 ± 1.03	
6.Grup	22.67 ± 2.06	23.33 ± 1.80	
<b>5.Dönem</b>			
1.Grup (Kont)	17.83 ± 0.95	19.17 ± 1.70	
2.Grup	20.33 ± 1.48	23.00 ± 1.03	
3.Grup	28.83 ± 1.80	30.17 ± 0.91	
4.Grup	32.00 ± 1.79	33.67 ± 1.54	
5.Grup	27.00 ± 1.37	27.67 ± 1.15	
6.Grup	27.17 ± 1.40	27.00 ± 1.39	
<b>6.Dönem</b>			
1.Grup (Kont)	16.83 ± 1.05	15.00 ± 0.97	5.50 ± 1.06
2.Grup	21.17 ± 1.30	24.17 ± 1.62	14.67 ± 1.09
3.Grup	29.83 ± 2.02	32.67 ± 1.43	
4.Grup	30.17 ± 1.49	31.67 ± 0.84	14.00 ± 0.73
5.Grup	27.83 ± 1.87	26.67 ± 0.76	
6.Grup	30.00 ± 1.26	26.67 ± 1.36	

**Tablo 7 .Kan değerlerinin dönemlere göre istatistiki karşılaştırması**

DEĞER	1.Dönem	2.Dönem	3.Dönem	4.Dönem	5.Dönem	6.Dönem	F
Vit A	42.85±1.99 <sup>b</sup>	42.95±3.12 <sup>b</sup>	46.76±3.45 <sup>ab</sup>	49.29±2.94 <sup>a</sup>	51.05±3.04 <sup>a</sup>	43.78±2.36 <sup>b</sup>	5.52 <sup>***</sup>
Vit E	0.67±0.08 <sup>d</sup>	1.93±0.28 <sup>c</sup>	2.88±0.43 <sup>b</sup>	3.29±0.52 <sup>a</sup>	2.77±0.46 <sup>b</sup>	3.31±0.45 <sup>a</sup>	69.89 <sup>***</sup>
Ürik A.	5.06±0.15 <sup>d</sup>	5.32±0.14 <sup>d</sup>	6.48±0.28 <sup>c</sup>	6.79±0.31 <sup>b</sup>	7.01±0.34 <sup>b</sup>	7.83±0.42 <sup>a</sup>	112.869 <sup>***</sup>
T.Prot	3.07±0.05 <sup>d</sup>	2.98±0.08 <sup>d</sup>	3.37±0.09 <sup>c</sup>	3.65±0.12 <sup>b</sup>	4.47±0.13 <sup>a</sup>	4.35±0.10 <sup>a</sup>	102.157 <sup>***</sup>
Albumin	1.88±0.02 <sup>d</sup>	1.39±0.04 <sup>d</sup>	1.68±0.04 <sup>b</sup>	1.49±0.04 <sup>c</sup>	1.65±0.04 <sup>b</sup>	1.78±0.03 <sup>a</sup>	36.579 <sup>***</sup>
T Lenfosit	25.53±0.52	25.65±0.70	25.17±0.58	26.71±0.59	26.15±0.68	26.06±0.75	1.81 <sup>*</sup>
Monosit	1.67±0.16 <sup>bc</sup>	1.35±0.15 <sup>cd</sup>	2.26±0.19 <sup>a</sup>	1.10±0.15 <sup>d</sup>	1.65±0.19 <sup>bc</sup>	1.85±0.21 <sup>ab</sup>	6.017 <sup>***</sup>
Eozinofil	0.79±0.11 <sup>b</sup>	0.81±0.13 <sup>b</sup>	1.46±0.19 <sup>a</sup>	0.92±0.12 <sup>b</sup>	0.96±0.15 <sup>b</sup>	0.77±0.16 <sup>b</sup>	3.471 <sup>*</sup>
Bazofil	0.96±0.14 <sup>ab</sup>	0.85±0.14 <sup>abc</sup>	0.59±0.10 <sup>c</sup>	0.88±0.10 <sup>abc</sup>	1.10±0.16 <sup>a</sup>	0.71±0.11 <sup>bc</sup>	2.291 <sup>**</sup>
Nötrofil	59.17±3.48 <sup>a</sup>	24.60±0.75 <sup>e</sup>	30.15±1.60 <sup>d</sup>	35.29±1.60 <sup>c</sup>	40.40±2.53 <sup>b</sup>	41.77±3.33 <sup>b</sup>	161.746 <sup>***</sup>
Lenfosit	36.88±3.38 <sup>e</sup>	72.33±0.80 <sup>a</sup>	65.80±1.38 <sup>b</sup>	62.04±1.64 <sup>c</sup>	54.62±2.75 <sup>d</sup>	55.48±3.27 <sup>d</sup>	69.88 <sup>***</sup>

\* P>0.05 , \*\* P<0.05 , \*\*\* P<0.01

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur.

**Tablo 8 .İncelenen kan değerlerinin aşılı ve aşısız gruplara göre istatistiki karşılaştırması**

	Vit .A	Vit. E	Ürik Asit	T.Protein	Albumin	AST	ALT
Aşı(+)	47.06±1.75	2.57±0.25	6.58±0.18	3.68±0.07	1.58±0.02	289.25±8.05	21.85±1.20
Aşı(-)	45.18±1.56	2.38±0.22	6.25±0.18	3.62±0.07	1.55±0.07	289.17±7.88	21.41±1.15
F	2.40 <sup>*</sup>	3.32 <sup>*</sup>	16.21 <sup>***</sup>	1.42 <sup>*</sup>	1.70 <sup>*</sup>	0.12 <sup>*</sup>	0.12 <sup>*</sup>

\* P>0.05 , \*\*\* P<0.01

**Tablo 9 .Kan hücrelerinin aşılı ve aşısız gruplara göre istatistiki karşılaştırması**

	T Lenfosit	Monosit	Eozinofil	Bazofil	Nötrofil	Lenfosit
Aşı (+)	25.87±0.38	1.71±0.11	1.01±0.09	0.81±0.07	35.90±1.70	60.06±1.71
Aşı (-)	25.88±0.36	1.58±0.10	0.89±0.07	0.89±0.08	41.34±1.61	55.56±1.62
F	0.002 <sup>*</sup>	0.90 <sup>*</sup>	1.13 <sup>*</sup>	0.62 <sup>*</sup>	50.12 <sup>***</sup>	26.40 <sup>***</sup>

\* P>0.05 , \*\*\* P<0.01

**Tablo 10. İncelenen parametrelerin gruplara göre istatistiki karşılaştırması**

Değerler	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	F
Vit. A	17.97±1.64 <sup>e</sup>	29.77±0.98 <sup>d</sup>	40.67±1.67 <sup>c</sup>	60.02±2.06 <sup>b</sup>	58.29±2.64 <sup>b</sup>	69.97±2.01 <sup>a</sup>	181.02 ***
Vit .E	0.56±0.07 <sup>c</sup>	0.33±0.08 <sup>c</sup>	0.62±0.09 <sup>c</sup>	0.48±0.12 <sup>c</sup>	5.81±0.40 <sup>b</sup>	7.06±0.40 <sup>a</sup>	645.24 ***
Ürik Asit	10.23±0.44 <sup>a</sup>	6.91±0.26 <sup>b</sup>	5.40±0.10 <sup>c</sup>	4.84±0.12 <sup>d</sup>	5.50±0.09 <sup>c</sup>	5.62±0.10 <sup>c</sup>	404.59 ***
Tot.Prot.	4.65±0.14 <sup>a</sup>	3.76±0.14 <sup>b</sup>	3.43±0.09 <sup>c</sup>	3.40±0.08 <sup>cd</sup>	3.23±0.08 <sup>d</sup>	3.40±0.08 <sup>cd</sup>	69.161 ***
Albumin	1.71±0.04 <sup>a</sup>	1.62±0.04 <sup>b</sup>	1.60±0.03 <sup>b</sup>	1.48±0.04 <sup>c</sup>	1.49±0.04 <sup>c</sup>	1.46±0.03 <sup>c</sup>	13.519 ***
T Lenfosit	20.39±0.53 <sup>e</sup>	23.39±0.39 <sup>d</sup>	29.04±0.44 <sup>b</sup>	31.79±0.38 <sup>a</sup>	26.65 ±0.50 <sup>c</sup>	24.00±0.52 <sup>d</sup>	104.796 ***

\* P>0.05 , \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.01,

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur.

**Tablo 11. AST ve ALT enzimleri ile Ig G değerlerinin dönemlere göre istatistiki karşılaştırması**

Değerler	1.Dönem	3.Dönem	6.Dönem	F
AST	255.89 ± 5.51 <sup>b</sup>	313.96 ± 8.26 <sup>a</sup>	297.78 ± 12.28 <sup>a</sup>	26.00 ***
ALT	25.75 ± 1.56 <sup>a</sup>	25.63 ± 1.18 <sup>a</sup>	13.51 ± 0.54 <sup>b</sup>	42.99 ***
Ig G		9.89 ± 1.42 <sup>b</sup>	11.39 ± 1.14 <sup>a</sup>	2.27 ***

\*\*\*, P<0.01

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur.

**Tablo 12. Akyuvar sayılarının gruplara göre istatistiki karşılaştırması**

Değerler	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	F
Monosit	1.76 ± 0.14	1.67 ± 0.17	1.58 ± 0.14	1.46 ± 0.15	0.96 *
Eozinofil	0.96 ± 0.13	0.79 ± 0.11	1.12 ± 0.12	0.93 ± 0.12	1.41 *
Bazofil	0.96 ± 0.11 <sup>ab</sup>	1.04 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.75 ± 0.09 <sup>ab</sup>	3.39 **
Nötrofil	43.04 ± 2.47 <sup>a</sup>	42.21 ± 2.28 <sup>a</sup>	36.74 ± 2.31 <sup>b</sup>	32.60 ± 2.17 <sup>c</sup>	40.88 ***
Lenfosit	53.15 ± 2.42 <sup>c</sup>	54.73 ± 3.22 <sup>c</sup>	59.67 ± 2.31 <sup>b</sup>	63.58 ± 2.36 <sup>a</sup>	29.77 ***

\* P>0.05 , \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.01,

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur.

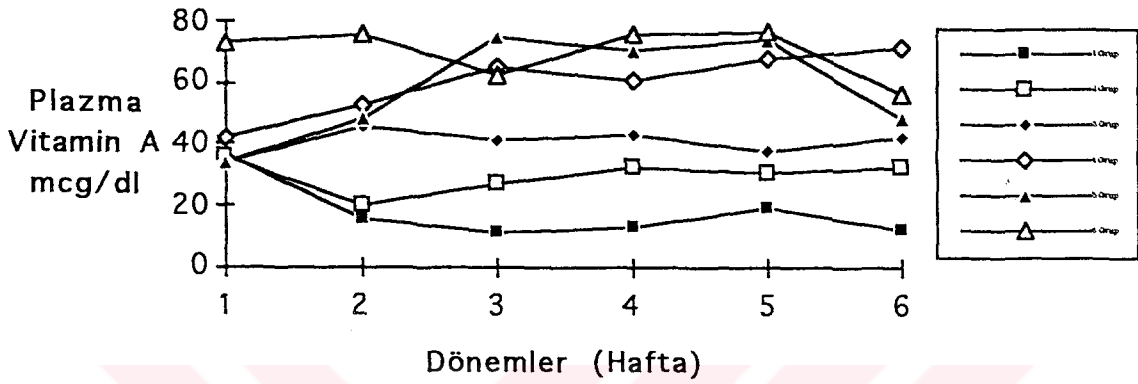
**Tablo 13. AST, ALT ve Ig G değerlerinin gruplara göre istatistiki yönden karşılaştırması**

Değerler	1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup	5.Grup	6.Grup	F
AST	224.78±9.09 <sup>c</sup>		290.44±9.19 <sup>b</sup>		323.24±9.45 <sup>a</sup>	318.39±9.07 <sup>a</sup>	44.598 <sup>***</sup>
ALT	21.57±1.37		24.16±2.38		19.34±1.32	21.45±1.24	2.541 *
Ig G	5.00±0.56 <sup>c</sup>	11.50±1.46 <sup>b</sup>		15.42±0.60 <sup>a</sup>			44.390 <sup>***</sup>

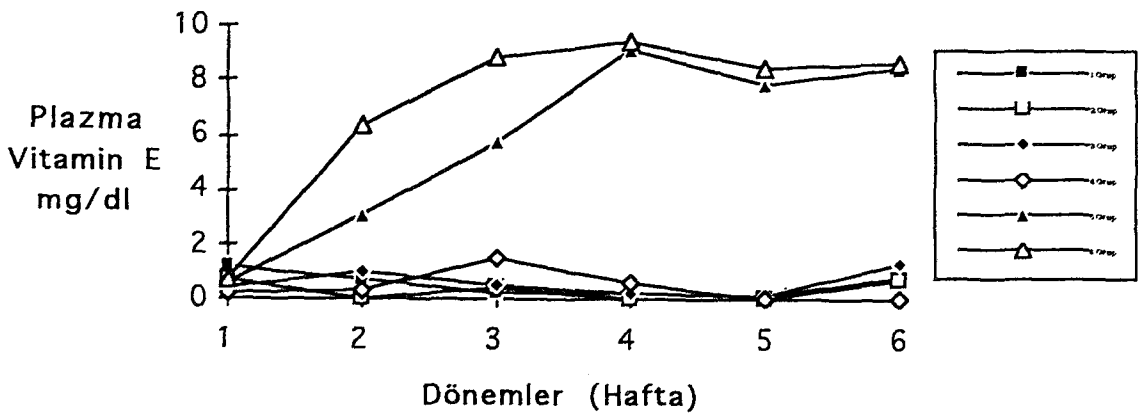
\* P>0.05 , \*\* P<0.05, \*\*\* P<0.01

Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirlerinden farklı bulunmuştur.

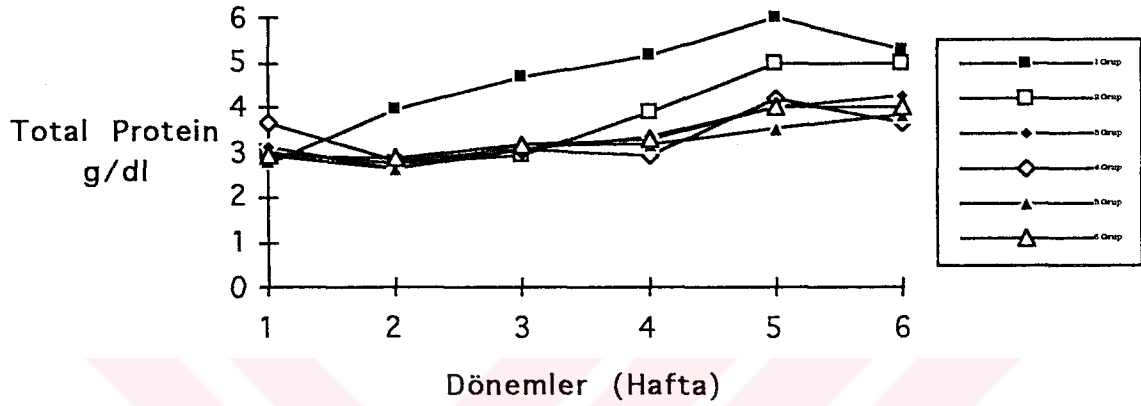
Grafik 1. Gruplara göre plazma vitamin A düzeyleri



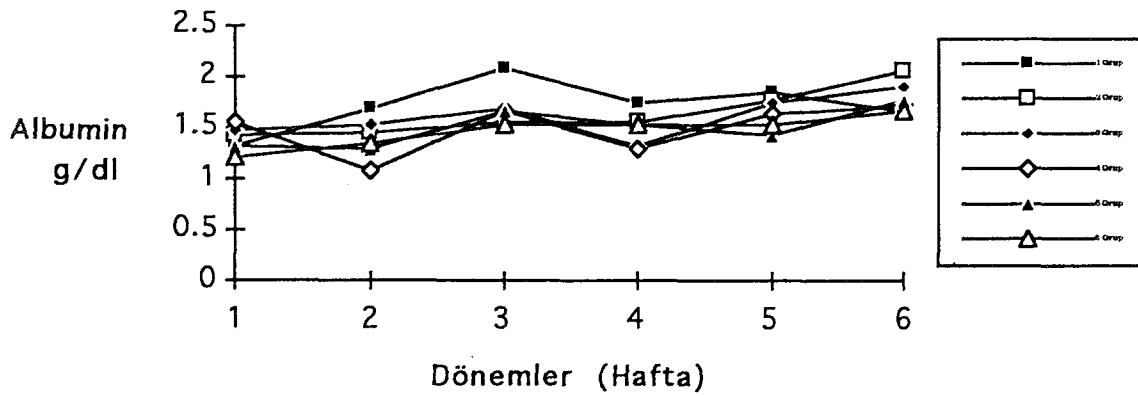
Grafik 2. Gruplara göre plazma vitamin E düzeyleri



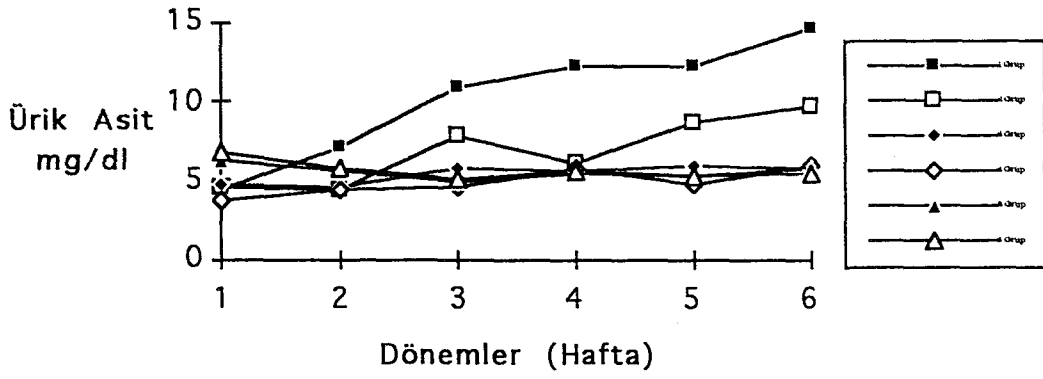
Grafik 3. Gruplara göre serum total protein değerleri



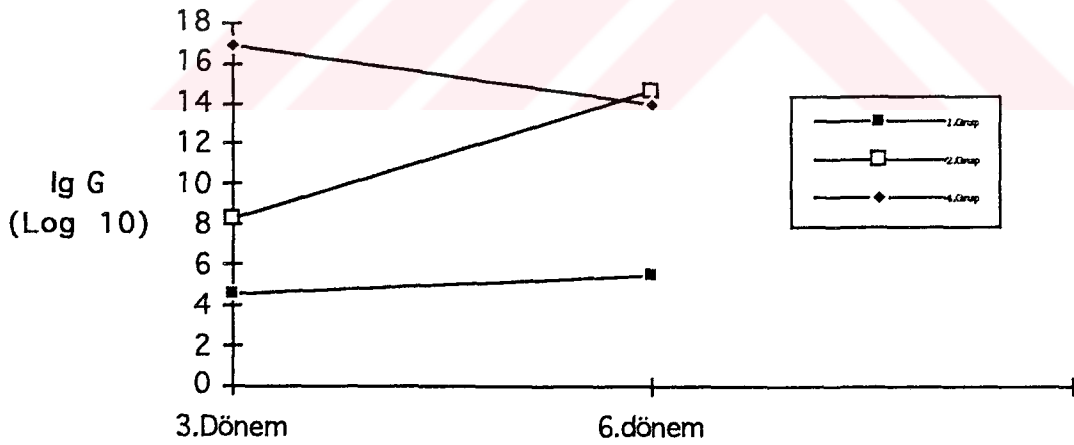
Grafik 4. Gruplara göre serum albumin değerleri



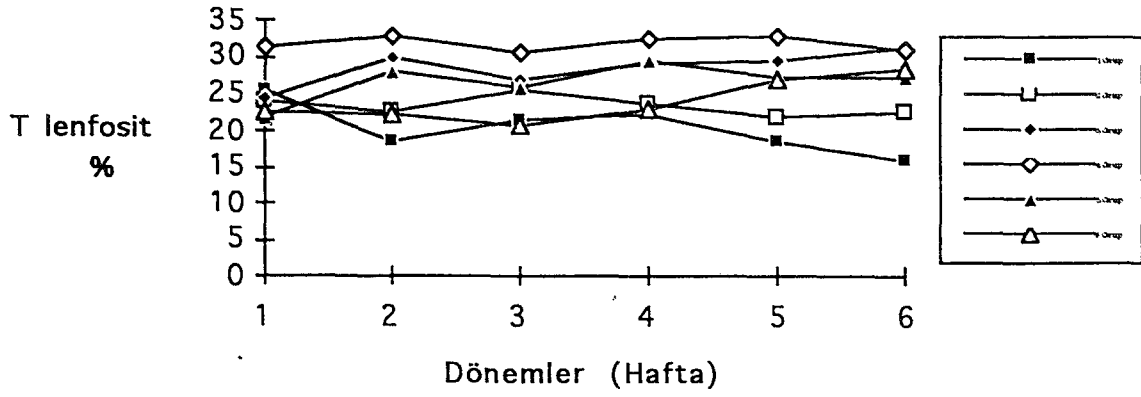
Grafik 5. Gruplara göre plazma ürik asit değerleri



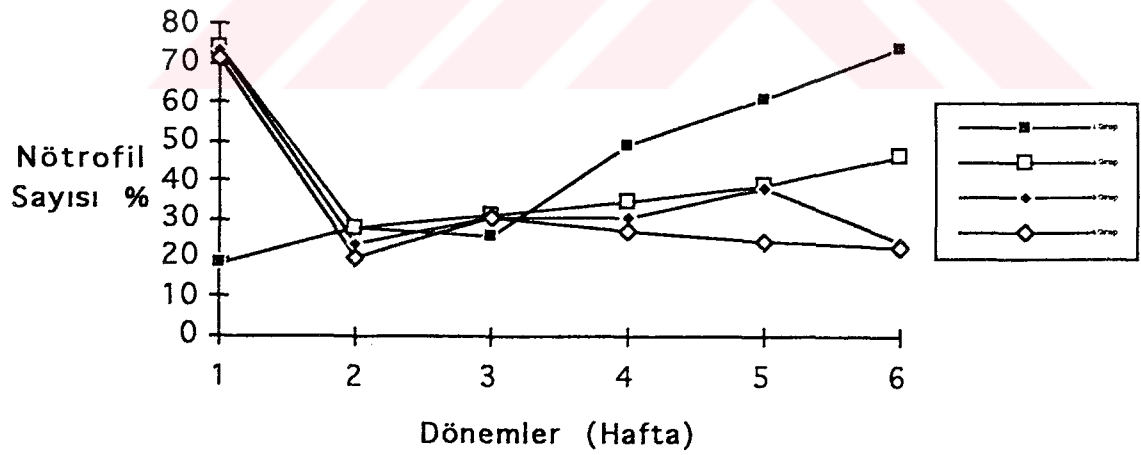
Grafik 6. Gruplara göre serum Ig G değerleri



Grafik 7. Gruplara göre % T lenfosit değerleri

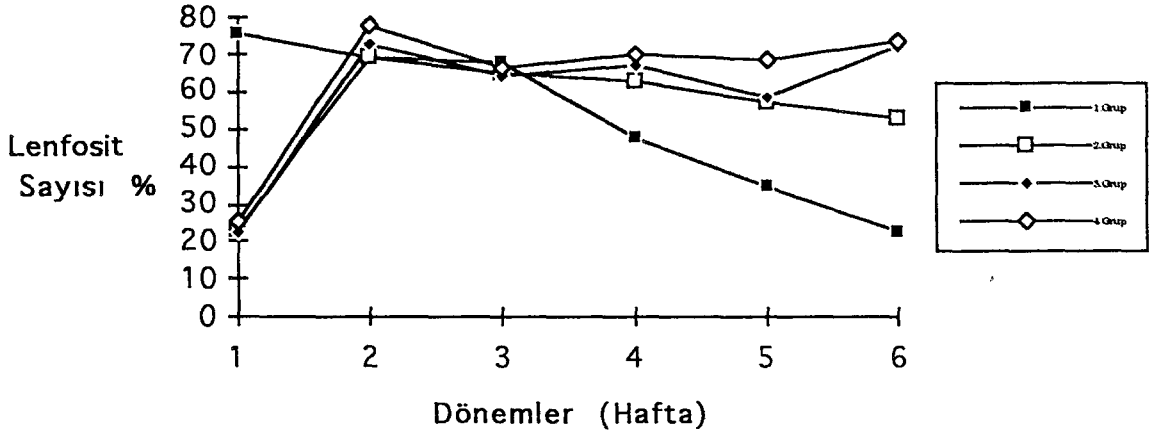


Grafik 8. Gruplara göre nötrofil sayıları

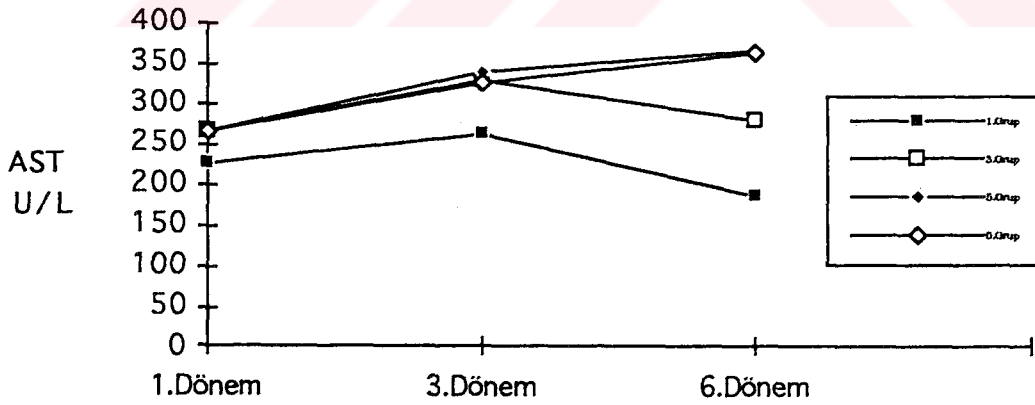




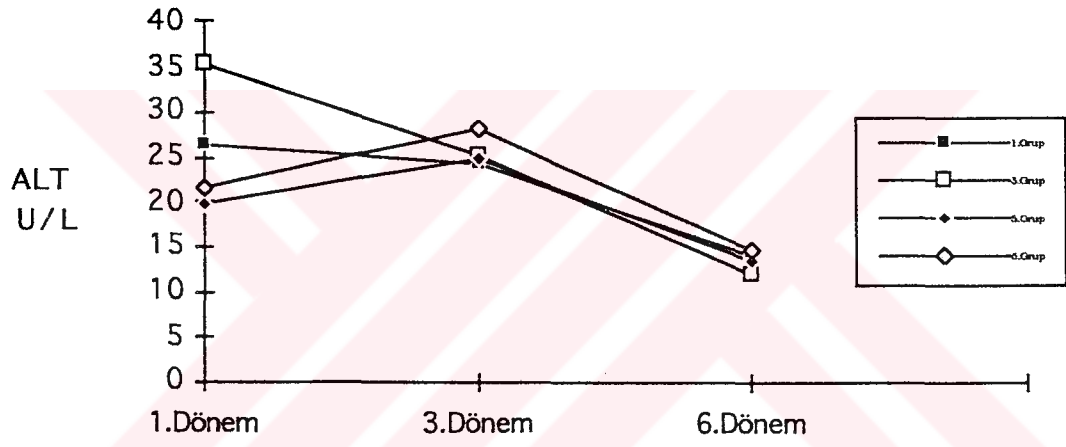
Grafik 9. Gruplara göre lenfosit sayıları



Grafik 10. Gruplarda AST enzim değişimleri



Grafik 11. Graplarda ALT enzim değişimleri



## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, rasyona farklı düzeylerde katılan vitamin A'nın hücrenel bağışıklık, antikor titreleri ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi ile normal A vitamini dozuna (18.000 IU/kg yem) ilave edilen 2 farklı dozdaki (70 IU/kg yem, 700 IU/kg yem) E vitamininin hücrenel bağışıklık üzerine ve enzim seviyelerine etkisi incelenmiştir.

### 5.1. Vitamin A

Hayvanlara verilen rasyonda Tablo VIII 'de belirtilen yem maddeleri kullanılmış ve vitamin A kaynağı olacağı düşüncesi ile mısıra yer verilmemiş ,bunun yerini %66.2 oranında buğday almış ve enerji dengesi de bitkisel yağlardan karşılanmıştır. Bu oranlar dahilinde yem maddelerinden kaynaklanacak olan vitamin A düzeyi mümkün olduğunca minimuma indirilmiş ve sadece ilave edilen vitamin A farklı miktarlarda (0, 18.000, 40.000, 80.000 IU/kg yem) gruplara uygulanmıştır. NRC (1984) 'de verilen verilere göre ihtiyaç miktarı olarak gösterilen 4.000 IU/kg vitamin A miktarının , rasyonda belirli oranda mısır kullanılması sonucunda fazlası ile karşılanacağı belirtilmektedir.

Çalışmada oluşturulan 4 ayrı vitamin A grubunun plazma vitamin A düzeyleri Tablo 1 de gösterilmiştir. 1.Grup olarak tanımlanan ve rasyonlarına hiç vitamin A katılmayan kontrol grubu ile, maximum düzeyi (80.000 IU/kg yem ) içeren 4.grup arasında plazma vitamin A düzeyleri istatistiki açıdan önemli ( $P<0.01$ ) bulunmuştur (Tablo 10).

Bu konuda Charles ( 30 ), yem maddelerinin, kapsadığı vitamin A düzeyi yönünden değişkenlikler gösterdiğini, mevcut düzeye güvenerek vitamin takviyesi yapılmaması sonucunda yetersizliklerin ortaya çıkabileceğini, olumsuz sonuçları önlemek amacı ile rasyona NRC (1984)' de önerilen miktarın premiks halinde katılması gerektiğini, bunun yanısıra oksidasyon kayıplarını, yem tüketimindeki hayvana bağlı farklılıkları, çeşitli çevresel faktörlerden ve hastalıklardan kaynaklanan stres durumlarında vitamin ihtiyacında meydana gelecek değişimleri karşılayabilmek için daha fazla oranlarda vitamin A kullanılabileceğini bildirmektedir. Bunun yanında organizma, karaciğerde mevcut vitamin A depoları ile bu tür ihtiyaç değişikliklerini tolere edebilmektedir. Ayrıca aşırı miktarlarda vitamin A verilmesinin olumsuz etkilerinden de söz edilmekte ve özellikle yumurta tavukları için maksimum tolere edilebilecek dozun 40.000 IU/kg olduğu bildirilmektedir (89).

West ve ark. (128)' nin belirttiklerine göre tavuklarda farklı vitamin A dozları ile yapılan çalışmalarda, 12. haftada marjinal vitamin A seviyesine inilmekte, yani yaklaşık 3 ay süreyle karaciğer vitamin A depoları kullanılabilmektedir. Çalışmamızda plazma vitamin A seviyelerinin 6 hafta (dönem) süresince önemli ( $P < 0.01$ ) oranda değişiklik gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 7).

Tavuklarda vitamin A' nın yeterli olup olmadığı hakkında en güvenilir kriterin karaciğer vitamin A düzeyi olduğu (88), bunun yanında plazma vitamin A seviyelerinin belirlenmesiyle de hayvanların vitamin A durumu hakkında bilgi edinilebileceği belirtilmektedir (128). Nitekim çalışmamızda elde ettiğimiz plazma vitamin A seviyeleri, gruplar ve rasyondaki vitamin A oranları ile uygun bir paralellik göstermektedir ( Grafik 1 ).

Vitamin A'nın fizyolojik ve immunolojik fonksiyonlar üzerine etkilerini araştırmak için yapılan çalışmalarda (25,30), pürifiye edilmiş rasyonlar kullanılmıştır. Pürifiye rasyon ile çalışmak uygulama zorluğu ve maliyeti artırmasıyla birlikte fazla sayıda hayvan ile çalışmaya başlamayı imkansız hale getirmektedir. Bu tür rasyonları kullanırken belirli şartlar altında aniden vitaminsiz rasyonlara geçilmesi durumunda yem tüketiminin azalmasına bağlı olarak enerji ve protein dengesizlikleri ile bunlara ilişkin semptomlar ortaya çıkabilmektedir (128).

### 5.1.1.Vitamin A' nın immun parametrelerle ilişkisi

Tablo 11 ve Grafik 6' da görüldüğü gibi antikor titreleri ve vitamin A verilen gruplar arasındaki ilişkiler istatistiki yönden önemli ( $P<0.01$ ) bulunmuştur. Yine hücreSEL immunitiyi tanımlayan T lenfosit (%) oranları da vitamin gruplarına göre istatistiksel yönden farklı ( $P<0.01$ ) bir seyir izlemiştir (Tablo 10). Bu bulgular, yapılan diğer çalışmalarla da (23,24,25,36,43,85) benzerlik göstermektedir. Buna rağmen birtakım çalışmalar (27,34,88,102) ise, vitamin A oranları ile T lenfosit, plazma hücresi ve bu hücrelerce sentezlenen Ig G oranlarında bir artma olmadığını göstermektedir. Vitamin A'nın özellikle T lenfosit sayısını artırmaktan çok, bu hücrelerin aktivitesi üzerinde etkili olduğu ileri sürülmektedir (31,44).

Carman ve ark. (27) 'nın belirttiklerine göre vitamin A noksanlığı, antijenle uyarılan T lenfositlerde fonksiyonel bir defekte neden olmakta, bunun sonucunda da antijene özğü Ig G<sub>1</sub> sentezi için B hücreleri yeterince uyarılamamaktadır. Aynı çalışmada, vitamin A noksanlığı oluşturulan hayvanlara retinil asetat verilmesi bir yandan yardımcı T lenfosit sayısını

kontrol grubundaki orana yaklaştırırken, diğer yandan bu hücrelerin fonksiyonel blokajını engellemiştir.

Sunulan alışmada Gumboro (IBD) aşısına karşı oluşan spesifik Ig G'ler her aşılama dönemini takiben piklerin maksimum düzeye ulaştığı 3. ve 6. haftada sadece aşılı grupta 1. (Kontrol), 2.(18.000 IU vit.A/kg yem) ve 4. (80.000 IU vit.A/kg yem) gruptaki hayvanlarda ölçülmüş, hem dönemlere göre ( $P<0.01$ ) , hem de vitamin gruplarına göre ( $P<0.01$ ) farklılıklar gözlenmiştir (Tablo 11 ve 13).

Grafik 6 'da da görüldüğü gibi aşırı (80.000 IU/kg yem) vitamin A dozunun uygulandığı grupta IBD'ye karşı oluşan titrelerde belirgin bir düşme görülmektedir. Bu durum aşırı vitamin A'nın bilinmeyen bir mekanizma ile immun sistemi baskılayabileceği (43) fikrini doğrulamaktadır. Bu veriler, Wang ve ark. (126) tarafından yapılan çalışma ile titrelerin vitamin A dozlarına göre değişmesi bakımından farklılık arz ederken, Simith ve ark. (115) tarafından yapılan çalışmada Hemosiyanine karşı spesifik Ig M'lerin 6. haftada vit A (+) ve vit A (-) gruplarında değişmezken, 6.haftadan sonra paralel bir artış göstermesi bakımından benzerlik taşımaktadır.

Vitamin A'nın Ig ler üzerindeki etkisi farklı Ig lere göre değiştiği için çalışmalarda yapılan antijen ve aşı uygulamaları ile bunlara karşı oluşan spesifik Ig lerin artışındaki değişikliklerin farklılık arzetmesi beklenen bir sonuç olarak düşünülmektedir.

## 5.1.2. Vitamin A'nın diğer bazı kan parametreleri ile ilişkisi

### 5.1.2.1. Total protein ile ilişkisi

Çalışmada , rasyondaki vitamin A miktarları ile serum total protein değerleri arasında önemli farklılıkların ( $P<0.01$ ) olduğu görülmüş ( Tablo 10), aşıllı ve aşısız gruplar arasında ise istatistiki yönden farklılığın olmadığı ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir (Tablo 8). Gruplara göre serum total protein değerleri sırayla  $4.4 \pm 0.14$ ,  $3.36 \pm 0.14$ ,  $3.43 \pm 0.09$  ve  $3.40 \pm 0.08$  g/dl olarak tespit edilmiştir. Bu değerlerden anlaşıldığı gibi vitamin A yetersizliğinde total protein değerinin yükseldiği vitamin A ilave edilen gruplarda ise ilave miktara uygun olarak düştüğü gözlenmiştir (Grafik 3 ).

Yapılan birtakım çalışmalar ( 18, 73, 116 ) da , total protein değerlerinin kanatlılarda ırk, yaş, cinsiyet ve birtakım çevresel faktörlere göre değişkenlikler gösterebileceğini belirtmektedirler.

Nitekim Bowes ve ark.(18)'nın yaptıkları çalışmada, erkek broilerlerin total protein değerlerinde dişilere göre önemli ( $P<0.01$ ) düşme olduğu gözlenmiştir.

Lumeij ( 73 ), tavuklarda ırklara göre total protein değerlerini 21, 35, 51, 52, 43, 36, 45 g/l olarak verirken, Sreemannarayana ve ark .(116 ), erkek kanatlı hayvanlarda 10 ve 33. günlük yaşta total protein değerlerinin 26.7 ve 28.3 g/l , dişilerde ise 2 ve 8 haftalık yaş dönemlerinde 31.3 - 38.2 g/l arasında olduğunu belirtmektedirler.

Sjitsma ve ark .(109 )' nın yaptıkları bir çalışmada, vitamin A miktarları ve NDV enfeksiyonu arasındaki ilişkinin yanısıra total protein değerlerine de bakılmış ve enfekte olmayan A vitaminsiz ( $A^- I^-$  ) grupta,

ortalama total protein değerini  $5.0 \pm 0.4$  g/dl bulunurken, A vitamini verilmiş enfeksiyonlu (A + I+) grupta  $5.1 \pm 0.2$  g/dl gibi yine ilk gruba yakın bir değer elde edilmiştir ( $P>0.05$ ).

Diğer bir çalışmada (14) ise ,vitamin A yetersizliği oluşturulan beyaz Leghornlarda total protein değeri  $2.7 \pm 0.6$  mg/dl olarak bulunurken vitamin A ilavesi yapılan grupta ortalama  $2.0 \pm 0.4$  mg/dl olarak tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ).

Pasatiempo ve ark.(92), IBD ile enfekte ve normal tavuklarda protein değerlerini 3.0 mg/dl olarak tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmadaki değerler literatür verileri ile uygunluk göstermektedir.

#### **5.1.2.2. Albumin ile ilişkisi**

Sunulan çalışmada, vitamin A değerlerine göre albumin miktarı , total proteinde olduğu gibi  $P<0.01$  önem derecesinde farklılık taşımaktadır. Ortalama değerler ;  $1.71 \pm 0.04$ ,  $1.62 \pm 0.04$ ,  $1.60 \pm 0.03$ ,  $1.48 \pm 0.04$  g/l arasında değişmiştir. Yapılan bir çalışmada (127 ), plazma albumin seviyeleri nonenfeksiyöz, IBV ve RV ile enfekte, vitamin A<sup>-</sup> ve vitamin A<sup>+</sup> gruplarda sırası ile ; 541 (vit A<sup>-</sup>) -548 (vit A<sup>+</sup>) , 542- 553, 542-546  $\mu\text{mol/l}$  olarak belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Sreemanarayana ve ark .(116 ) ise, 2 ve 8 haftalık yaştaki dişilerde albumin miktarını 12.3 ve 13.9 g/l olarak tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada bulunan albumin değerleri tavuklar için bildirilen sınırlar içerisinde değişmiştir.



### 5.1.2.3. Ürik asit ile ilişkisi

Tablo 10 ' da da izlendiği gibi vitamin A miktarları ile serum ürik asit değerleri arasında oldukça önemli ( $P<0.01$ ) fark görülmüş, vitamin A yetersizliği bulunan hayvanlarda serum ürik asit miktarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu değerler gruplarda sırayla  $10.23 \pm 0.44$ ,  $6.9 \pm 0.26$ ,  $5.40 \pm 0.10$ ,  $4.84 \pm 0.12$  mg/dl olarak bulunmuştur.

Özellikle ilk üç gruptaki değerler tavuklardaki ürik asit için bildirilen (5, 73,116 ) değerlerden yüksektir. Bu durumun böbeklerde epitel düzeyde meydana gelen tahribatlardan kaynaklandığı, aynı zamanda vitamin A yetersizliği bulunan hayvanların mikroskopik incelemelerinde böbrekler, gözler ve kılcal kanallarda urat birikimlerine rastlandığı bildirilmektedir (30,126).

### 5.1.2.4.Kan hücre sayıları ile ilişkisi

Sunulan çalışmada, rasyondaki değişen vitamin A miktarları ile perifer kan hücre sayıları arasındaki ilişki incelenmiş (Tablo 3 ve 4), nötrofil ve lenfosit yüzdelerinde vitamin gruplarına göre önemli ( $P<0.01$ ) farklılıklar bulunurken, bazofil yüzdesinde  $P<0.05$  önem düzeyinde fark ortaya çıkmış, monosit ve eozinofil oranlarındaki değişmeler ise önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 12). Bulunan değerler Sijtsma ve ark. (109 )'nın belirttikleri değerler ile benzerlik gösterirken, Bermudez ve ark. (14)'nın vitamin A yetersizliği bulunan grupta lenfositleri yüksek, heterofilleri (Nötrofilleri) düşük sayıda bulmaları nedeniyle farklılık arz etmektedir. Aynı

çalışmada vitamin A yetersizliğinde düşük H/L oranı (Heterofil/Lenfosit) görüldüğü bildirilirken, Chandra ve ark. (29)'nın , vitamin A yetersizliğinde elde ettikleri yüksek H/L miktarı , sunulan çalışmada tespit edilen değerlerle uygunluk arz etmektedir.

## 5.2. Vitamin E

Çalışmada sadece 5. ve 6. gruplarda 18.000 IU/kg vitamin A' ya ilave olarak , 5.grupta 70 IU/kg 6.grupta ise 700 IU/kg vitamin E (  $\alpha$ -tokoferol asetat ) rasyona katılmıştır. Tablo 10 'da da belirtildiği gibi gruplara göre rasyonla alınan vitamin E ile plazma vitamin E miktarları arasında pozitif bir ilişkinin varlığı, gruplardaki vitamin E miktarlarının sırasıyla ; $0.56 \pm 0.07$ ,  $0.33 \pm 0.08$ ,  $0.62 \pm 0.09$ ,  $0.48 \pm 0.12$ ,  $5.81 \pm 0.40$  ve  $7.06 \pm 0.40$  mg/dl olduğu bulunmuştur. İlk dört grupta premikse vitamin E ilave edilmemesine rağmen yem maddelerinden kaynaklanan vitamin E, plazmaların analizinde varlığını göstermiştir. Vitamin E ilavesi yapılmayan bu ilk gruplarda plazma vitamin E düzeyleri normal sınırlar içerisinde seyretmiştir. Söz konusu bu değerler yapılan bazı çalışmalarla ( 47,124 ) uyum içerisinde iken, Wang (125)' in serum vitamin E konsantrasyonlarından daha düşük bulunmuştur. Aşılı ve aşısız gruplarda vitamin E oranları yönünden herhangi bir fark görülmemiştir (Tablo 8).

### 5.2.1. Vitamin E'nin T lenfosit oranları ile ilişkisi

T lenfosit, A vitamini miktarına bağılı olarak belirgin şekilde yükselmiş , bu yükselme, vitamin A verilen ilk dört grupta daha yüksek olmasına rağmen vitamin E ilavesi yapılan 5. ve 6. gruplarda kısmi bir düşme göstermiştir. Bu oranlar (%) sırası ile,  $20.39 \pm 0.53$ ,  $23.39 \pm 0.39$ ,  $29.04 \pm 0.44$ ,  $31.79 \pm 0.38$ ,  $26.65 \pm 0.50$ ,  $24.00 \pm 0.52$  arasında değişmiştir. Son iki grupta görülen düşme A ve E vitaminlerinin tek başlarına immun sistem üzerinde daha etkili olduğunu, ikisinin birlikte verildiği durumlarda ise immun değerlerde düşmelere sebep olduğunu göstermektedir. Bu durum birçok çalışma (87,118,132) tarafından da doğrulanmaktadır.

Coşkun ve ark. (32)' nin yaptıkları çalışmada, 70 IU/kg düzeyinde vitamin E verilen yumurtacı tavuklarda T lenfosit oranları ve plazma hücre sayısında belirgin bir artış görülmesine rağmen plazma vitamin E düzeylerinde yemdeki vitamin E miktarına bağılı bir değişikliğin görülmediği bildirilmektedir. Bunun yanısıra vitamin E'nin tek başına uygulandığı ve immun sistem üzerinde hem hücre sel hem de humoral bağışıklığı artırıcı bir etkisinin olduğu birçok çalışmada (10, 17, 33, 83, 132 ) kaydedilmektedir.

Rasyondaki E vitamini düzeyi ,rasyona uygulanan işlemler (ısı, ışık, saklama koşulları vb.), hayvanların verim düzeyi, ırkı ve sağlık durumlarındaki farklılıklardan ileri gelen dalgalanmaları karşılayabilecek düzeyde olmalıdır (94). NRC (88) 'de bu miktar 5 IU/kg yem olarak belirtilmektedir.

### 5.2.2. Vitamin E'nin farklı dozlarının AST ve ALT enzimleri üzerine etkisi

Vitamin E uygulanan 5. ve 6. gruplarda AST enziminde 3. haftaya kadar önemli ( $P<0.01$ ) bir yükselme gözlenmiş, ALT enziminde ise bu dönemlerde herhangi bir değişiklik olmamış, 3. haftadan itibaren her iki enzim seviyesinde belirgin bir düşme olduğu görülmüştür. Çeşitli araştırmacılar (8,48,125) da, aşırı dozdaki vitamin E'nin AST, ALT, CK ve  $\gamma$ -GT gibi enzimler üzerinde artırıcı etki yaptığını saptamışlardır.

Hassan ve ark. (48)'nin AST aktivitesi üzerine vitamin E + selenyumun etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, yeterli vitamin E ve Se alan hayvanlarda vitamin E'nin artan dozları ile ilişkili olarak AST aktivitesinde bir artma görülmezken, vitamin E ve selenyum bakımından yetersiz hayvanlarda enzim aktivitesi yükselmiş ( $P<0.05$ ), bu durumun vitamin E yetersizliğine bağlı olarak kaslarda şekillenen dejenerasyonla ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Yapılan diğer bir araştırmada (8) ise, vitamin E'nin SDH ve GDH üzerine etkisini araştırmak amacıyla kontrol grubuna 10 ppm, deneme gruplarına ise 37,5 , 50 ve 100 ppm şeklinde artan oranlarda vitamin E uygulanmış, gruplarda SDH ve GDH seviyelerine bakılmış, 4 hafta sonunda kontrol grubu ile deneme grupları arasında  $P<0.05$  önem düzeyinde farklılıklar kaydedilmiştir. AST ve ALT enzim seviyelerindeki değişimler, çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

### 5.2.3. A ve E vitaminleri arasındaki ilişkiler

Sunulan çalışmada, Tablo 1' de de görüldüğü gibi bütün dönemlerde en yüksek plazma A vitamini seviyesinin E vitamini ilavesi yapılan 5. ve 6. gruplarda olduğu görülmektedir. Bu durum, Wang (125) 'nın da bildirdiği gibi, yüksek düzeyde vitamin E takviyesinin karaciğerde A vitamini depolarını mobilize ettiği ve buna bağlı olarak kanda A vitamini miktarının geçici bir dönem boyunca yükseldiği görüşünü desteklemektedir. Çalışmada 5. ve 6. gruplardaki vitamin A seviyelerinde 5. haftayı takiben belirgin bir düşme gözlenmiştir (Grafik 1). Bu düşmenin karaciğer vitamin A rezervlerinin tükenmesinden ve plazma seviyesinin azalmaya başlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bu amaçla yapılan bir diğer çalışmada (124) da, oral yoldan hergün 150 mg vitamin E asetat verilen broilerlerde özofagus epitelinde hiperkeratozis oluşumu, fazla vitamin E' nin organizmada vitamin A üzerinde zıt etkisinin olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. E vitamininin bu etkisinin hücrelere A vitamini girişini engellemesiyle gerçekleştiği belirtilmektedir (125). Sunulan çalışmada 5 ve 6. gruplardaki hayvanlarda tüylerde düzensizlik, ibiklerde solgunluk ve kanibalismus gözlenmiştir.

Tengerdy ve ark. (119)'nın yaptığı çalışmada ise, aşılı ve aşısız hayvanlarda deneysel olarak oluşturulan E. coli enfeksiyonunda, A ve E vitaminlerinin birlikte verilmeleriyle, bu enfeksiyona karşı tespit edilen aglütinasyon titrelerinin vitaminlerin tek başlarına verilmeleri durumuna oranla daha düşük ( $P < 0.05$ ) olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada yüksek A vitamini E vitamini emilimini önlediği de bildirilmektedir.

Çalışmamızda ise bu tür bulgulara rastlanmamıştır. Başka bir çalışmada (126) ise, 40.000 IU/kg vitamin A verilmesiyle vitamin E tarafından geliştirilen immün cevapta azalma olabileceği ve bu iki vitaminin yüksek dozlarının ancak ayrı ayrı verilmesi ile immün sistem üzerinde olumlu etkisinin olabileceği vurgulanmaktadır

Sonuç olarak, bu çalışmada kanatlı rasyonlarına katılan vitamin A'nın büyüme ve gelişme ile hücre sel ve humoral immün değerlerde artışa sebep olduğu tespit edilmiş, yüksek miktardaki vitamin A'nın ise immün sistemi baskılayıcı etkisinin olduğu gözlenmiştir.

E vitamini yönünden yapılan incelemede ise, yüksek miktarda E vitamininin perifer kanda T lenfositlerin sayıca artışını sağlarken, bazı enzim miktarlarında yükselmeye neden olduğu tespit edilmiştir.

## 6. ÖZET

Bu çalışmada, vitamin A'nın antikor titresi ve bazı kan değerleri üzerine etkisi ile vitamin E'nin T lenfositleri ve bazı enzim değerlerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada materyal olarak, ticari bir işletmeden temin edilen 750 adet 0 günlük yumurta tipi Hy Line erkek civciv kullanılmış ve bu hayvanlar aşı ve aşısız olmak üzere iki gruba, herbir grup da kendi arasında yemlerine ilave edilen vitamin A ve E miktarlarına göre 6 ayrı alt gruba ayrılmıştır. Gruplar ; 1. grup (Kontrol) vitamin A' sız - 2.grup; 18.000 IU vitamin A/kg yem - 3.grup; 40.000 IU vit A/kg yem - 4. grup;80.000 IU vitamin A/kg yem - 5.grup; 18.000 IU vitamin A + 70 IU vitamin E/kg yem ve 6.grup; 18.000 IU vitamin A/kg yem + 700 IU vitamin E /kg yem şeklinde oluşturulmuşlardır.

Aşılı olarak ayrılan hayvanlara 14. ve 28. günlerde içme suyuna katılmak suretiyle GUMBORO aşısı yapılmış ve tüm gruptaki hayvanlardan 6 hafta boyunca haftada bir kez olmak üzere kan alınarak plazma ve serum örnekleri elde edilmiştir. Bu örneklerde A ve E vitaminleri, total protein, albumin, ürik asit, AST, ALT, Ig G analizleri yapılmış , ayrıca % T lenfosit oranlarının tespiti ile Akyuvar Formülü için sürme kan frotileri hazırlanmıştır.

Plazma vitamin A ve E değerleri HPLC cihazında tayin edilirken, total protein ve albumin miktarları Bio-Clinica test kitleri ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Plazma ürik asit ölçümleri Laudat prensibine göre yapılmıştır. Serum Ig G değerleri de aşılı grup hayvanlarda IDEXX marka test kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

T lenfosit (%) değerleri için hazırlanan sürme kan frotileri, ANAE (Alfa Naftil Asetat Esteraz ) enzim demonstrasyonu esasına göre hazırlanarak mikroskopik olarak incelenmiştir. Akyuvar formülü için hazırlanan frotiler ise May Grünwald - Giemsa yöntemi ile boyanarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmiştir. Sonuçların istatistiki değerlendirilmesinde multifaktöriyel varyans analizi, Duncan testi ve t testi kullanılmıştır.

Plazma vitamin A değerleri açısından gruplar arasında önemli ( $P<0.01$ ) fark tespit edilmiş ve bu değerler ilk dört vitamin grubunda  $17.97 \pm 1.64$ ,  $29.77 \pm 0.98$ ,  $40.67 \pm 1.67$ ,  $60.02 \pm 2.06$  mcg/dl olarak bulunmuştur.

Vitamin E değerleri bakımından da istatistiki yönden  $P<0.01$  fark görülmüş ve bu değerler rasyona vitamin E ilavesi yapılmayan ilk dört grup da dahil olmak üzere sırasıyla  $0.56 \pm 0.07$ ,  $0.33 \pm 0.08$ ,  $0.62 \pm 0.09$ ,  $0.48 \pm 0.12$ ,  $5.81 \pm 0.40$ ,  $7.06 \pm 0.40$  mg/dl olarak saptanmıştır.

Total protein ve albumin değerlerinde gruplar arasında önemli ( $P<0.01$ ) farklılıklar tespit edilmiştir.

Ürik asit değerlerinde ise, 1. grupta (Kontrol) önemli  $P<0.01$  oranda yükselme görülürken diğer gruplarda farklılık görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Ig G değerleri aşılı grup hayvanlardan 1. (Kontrol) 2. ve 4. gruplarda ölçülmüş; sonuçlar  $\log_{10}$  tabanına göre değerlendirilerek sırasıyla  $5.00 \pm 0.56$ ,  $11.50 \pm 1.46$  ve  $15.42 \pm 0.60$  olarak bulunmuştur. Sonuçların istatistiki yönden önemli ( $P<0.01$ ) olduğu tespit edilmiştir. Vitamin A'nın artan miktarlarına



paralel olarak titrenin de arttığı, fakat aşırı (80.000 IU /kg yem) vitamin A verilen grupta düştüğü belirlenmiştir. Bu durumun aşırı vitaminin immun sistemi baskılamasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

T lenfosit oranları % olarak gruplarda sırası ile;  $20.39 \pm 0.53$ ,  $23.39 \pm 0.39$ ,  $29.04 \pm 0.44$ ,  $31.79 \pm 0.38$ ,  $26.65 \pm 0.50$  ve  $24.00 \pm 0.52$  olarak tespit edilmiş, son iki grupta görülen düşmenin A ve E vitaminlerinin birlikte verilmesinden kaynaklandığı kanaatine varılmıştır.



## 7. SUMMARY

### **Investigation of the Effect Vitamin A and E on the Immun System and Some Blood Parameters of the Vaccinated Chicken with IBD**

In this study, the effect of vitamin A on the antibody titers, some blood parameters and the effect of vitamin E on some enzyme activities and T lymphocyte percentages were investigated.

As materials, a total of 750 Hyline male egg type chicken in 0 day of age supplied from the commercial breeders were used and this animals divided in two compartments as vaccinated and not vaccinated.

Each compartment divided into six sub groups according to supplemented vitamin A and E into their feeds.

This groups as to form; 1.group (Control); vitamin A deficient, 2.group; 18.000 IUvit A/kg feed, 3.group; 40.000 IUvit A/kg feed, 4.group; 80.000 IU vit A/kg feed, 5.group; 18.000 IU vitA/kg feed + 70 IU vit E/kg feed, 6.group; 18.000 IU vit A/kg feed + 700 IU vit E/kg feed.

Gumboro vaccination proces was performed into their drinking water at the day of experiment 14. and 28.

Blood samples were taken from all of the animals once a week during the experiment and obtained serum and plasma. In these samples, vitamin A, vitamin E, total protein, albumin, uric acid, AST, ALT, Ig G values were determined. For the blood smears of T lymphocytes and leucocytes counts were prepared from blood samples.

The analysis of plasma vitamin A and E levels in plasma were executed by using HPLC. Total serum protein and albumin values were determined spectrophotometrically. Uric acid was measured in plasma by Laudat methods. Determination of serum Ig G was executed by IDEXX test kits in vaccinated animals.

The blood smears which for determination of T lymphocytes percentages were prepared by cytochemical demonstration of alpha-naphthyl acetate esterase. Leucocyte counts were determined in which coloured blood smears by May Grünwald - Giemsa using light microscopy.

The results were statistically evaluated by analysis of multifactoriel, Duncan's and t test.

The difference between plasma vitamin A and groups was found to be statistically significant ( $P < 0.01$ ), and this values measured as  $17.97 \pm 1.64$ ,  $29.77 \pm 0.98$ ,  $40.67 \pm 1.67$ ,  $60.02 \pm 2.06$  mcg/dl in first 4 groups.

Plasma vitamin E values were found to be statistically significant ( $P < 0.01$ ), and this values measured as; including that also not supplemented vitamin E in feed, respectively;  $0.56 \pm 0.07$ ,  $0.33 \pm 0.08$ ,  $0.62 \pm 0.09$ ,  $0.48 \pm 0.12$ ,  $5.81 \pm 0.40$ ,  $7.06 \pm 0.40$  mg/dl .

Total protein and albumin levels found to be statistically significant ( $P < 0.01$ ), in vitamin A groups.

The uric acid values increased significantly ( $P < 0.01$ ) in control group but were not found to be in other groups ( $P > 0.05$ ). Ig G levels measured in 1. (control), 2. and 4. group in which vaccinated animals, the results have found according to  $5.00 \pm 0.56$ ,  $11.50 \pm 1.46$ ,  $15.42 \pm 0.60$  by logarithmic. These results found to be statistically important ( $P < 0.01$ ).

The relationship between vitamin A and antibody titers have present but titers were suppressed by excess (80.000 IU /kg feed) vitamin A resulted in this study.

The thinking about that reduced percentage of T lymphocytes have due to combination A and E vitamins in animal feeds in 5. and 6. groups.



## 8. LİTERATÜR LİSTESİ

1-Abawi.F.G. and Sullivan,T.W.(1989) Interactions of Vitamins A, D<sub>3</sub>, and K in the Diet of Broiler Chicks. Poult. Science. 68 ,1490-1498.

2-Abrams,L.(1990) Immunisation Against Infectious Bursal Disease. Vet. Record .126(17), 441.

3-Adair,B.M., McNulty ,M.S., Todd,D. and Cannor,T. (1989) Quantitative Estimation of New Castle Disease virus Antibody Levels in Chickens and Turkeys by ELISA. Avian Pathology .18 (1), 175-192.

4-Alberts,B., Bray,D., Lewis,J., Roff,M., Roberts,K. and Watson,J.D. (1988) "Moleculer Biology of The Cell" Second Edition. Chapter 18 1001-1054. Gerland Publishing Inc. New York δ London.

5- Altıntaş,A. ve Fidancı,U.R. (1993) Evcil Hayvanlarda ve İnsanda Kanın Biyokimyasal Normal Değerleri. A.Ü.Vet Fak. Derg.40 (2),173-186.

6- Anonim. Roche "Vitaminler" .Roche Mustahzarları sanayi Limited Şirketi İstanbul.

7-Aras.K. ve Ersen,G.(1991) Klinik Biyokimya. Hacettepe Taş Kitapçılık Ankara.

8-Ayed,I.A and Dafaala,R.(1989) Effect of various levels of dietary vit. E on broiler chicks. Vet. Hum. Tox. 31 (1) , 50-53.

9-Bagavandoss,P. and Midgyley,A.R.(1987) Lack of difference between retinoic acid and retinol in stimulating progesteron production by luteilizing granulosa cells in vitro. Endocrinology.121, 420-428.

**10-Bains,B.S.(1991)** Role of Vitamins In Enhancing Immune Response In Chicken. (A review) Recent Advances in Animal Nutrition (Edited by Haresign,W. Cole,D.J.A.) 37-43.

**11-Bardos,L.and Mezes,M.(1980)** The effect of Triiodothyronine on Lipid Metabolism- Including Fat-Soluble Vitamins of Chickens. Adv. Physiol.Sci. 33., 301-304.

**12-Bartov, I. and Frigg.M. (1992)** Effect of High Concentrations of Dietary Vitamin E During Various Age Periods on Performance Plasma Vitamin E and Meat Stability of Broiler Chicks at 7 Weeks of Age. British Poult. Science. 33, 393-402.

**13-Bell,G.H.,Emslie-Smith,D. and Paterson,C.R.(1976)** Textbook of Physiology and Biochemistry. Ninth Edition, ELBS Edition, Churchill Livingstone, Edinburg London.

**14-Bermudez,A.J.,Swayne,D.E.,Squires,M.W. and Radin,M.J.(1993)** Effects of Vitamin A Deficiency on the Reproductive System of Mature White Leghorn Hens. Avian Diseases.37 274-283.

**15-Beynen,A.C., Sijtma, S.R., Kiepuski,A.K., West, C.E., Baumans, V.,Herck,H., Stafleu,F.R. and Tintelen,G. (1989)** Objective Clinical Examination of Poultry as Illustrated by the Comparison of Chickens with Different Vitamin A Status. Laboratory Animals. 23, 307-312.

**16-Bingöl,G.(1981)** Biyokimya. 2. Baskı. Ankara 264-265.

**17-Bonnette,E.D., Kornegay,E.T., Lindeman,M.D. and Hammerberg,C. (1990)** Humoral and Cell-Mediated Immune Response and Performance of Weaned Pigs Fed Four Supplemental Vitamin E Levels and Housed At Two Nursery Temperatures. J.Anim.Sci.68 ,1337-1345.

**18-Bowes,V.A.,Julian,R.J. and Stirtzinger,T. (1989) Comparison of Serum Biochemical Profiles of Male Broilers with Female Broilers and White Leghorn Chickens. Can.J.Vet.Res. 53 ,7-11.**

**19-Brander,G.C.,Pugh,D.M. and Bywater,R.J. (1987) The Vitamins. Veterinary Applied Pharmacology Therapeutics 4 th Edition. Bailliere Tindall , London,Philadelphia Toronto Mexico City Rio de Janeiro Sydney Tokyo Hong Kong .**

**20-Briggs,D.J., Whitfill,C.E., Skeeles,J.K., Story,J.D. and Reed,K.D. (1986) Application of the Positive/Negative Ratio Method of Analysis Qantitate Antibody Responses to Infectius Bursal Disease Virus Using a Commerically Available ELISA. Avian Disease. 30 (1), 216-218.**

**21-Brown,J., Resurreecian,R.S. and Dickson,T.G. (1990) The Relationship Between the Hemaglütination İnhibition Test and the Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay for the Detection of Antibody New-castle Disease. Avian Disease, 34 (3), 585-587.**

**22-Brubacher,G.B. and Weiser,H.(1985) The vitamin A Activity of  $\beta$ -Carotene.Internat.J.Vit.Nutr.Res. 55 (1), 5-15.**

**23-Bruns,N.J.(1989) Humoral and cell-mediated immunity in Vitamin A-deficient lambs. Dissertation Abstracts International. 49 (9), 3517.**

**24-Bruns,N.J. and Webb,K.E.(1990) Vitamin A Deficiency: Serum Cortisol and Humoral Immunity in Lambs.J.Anim.Sci.68,454-459.**

**25-Butera,S.T. and Krakowka,S.(1986) Assessment of Lymphocyte Function During Vitamin A Deficiency. Am.J. Vet. Res. 47 (4), 850-855.**

**26-Buttriss, J.L. and Diplock, A.T. (1984)** High Performance Liquid Chromatography Methods for Vitamin E in Tissues. *Methods in Enzymology*. 35, 131-139.

**27-Carman, J.A., Smith, S.M. and Hayes, C.E. (1989)** Characterization of a Helper T Lymphocyte Defect in Vitamin A-Deficient Mice. *J. of Immunology*. 142 (2), 388-393.

**28-Chan, V. T. and Wolf, G. (1987)** The role of Vitamin A in the glycosylation reaction of glycoprotein synthesis in an "in vitro" system. *Biochem. Journal*. 247, 53-62.

**29-Chandra, M., Singh, B., Singh, N. and Ahuja, S.P. (1984)** Hematological Changes in Nephritis in Poultry Induced by Diets High in Protein, High in Calcium, Containing Urea, or Deficient in Vitamin A. *Poult. Science*. 63, 710-716.

**30-Charles, Mc Ginnis Jr. (1988)** Vitamin A Plays Important Role in Poultry Nutrition. *Feedstuffs*. January 18, 55-57.

**31-Chew, B.P. (1987)** Immune Function (Symposium) *J. of Dairy Science*. 70 (12), 2733-2740.

**32-Cloud, S.S. and Rosenberger, J.K. (1992)** Immun dysfunction following infection with chicken anemia agent and Infectious Bursal Disease Virus. II. Alterations of in vitro lymphoproliferation and in vivo immune response. *Vet. Immunology. Immunopathology*. 34 (3-4), 353-356.

**33-Colnago, G.L., Jensen, L.S. and Long, P.L. (1984)** Effect of Selenium and Vitamin E on the Development of Immunity to Coccidiosis in Chickens. *Poult. Science*. 63, 1136-1143.



**34-**Coşkun.B., Erganiş.O., Çelik.İ., İnal,F., Tiftik,A.M.,Kuyucuoğlu,Y., Ok,Ü. ve Kurtoğlu,F . (1995) Bazı vitaminlerin Immunité Üzerine Etkileri ve Türkiye'de Kullanılan Çeşitli İnaktif Newcastle Aşılarının İmmunojenitelerinin Karşılaştırmalı Araştırması Proje No: VHAG-921/DPT.

**35-**Craig,J.C., Parkinson,D. and Knowles N. (1989) The suitability of diferent microtitre plates for detection of antibody to virus antigens by indirect ELISA. Journal of Biological Standardization . 17, 125-135.

**36-**Davis,C.Y. and Sell,J.L.(1989) Immunoglobulin Concentrations in Serum and Tissues of Vitamin A Deficient Broiler Chicks After New-Castle Disease Virus Vaccination. Poult. Science. 68 , 136-144.

**37-**Donoghue,S., Donawick,W.J. and Kronfeld,D.S.(1983) Transfer of Vitamin A from Intestine to Plasma in Lambs Fed Low and High Intakes of Vitamin A. J.Nutr. 113, 2197-2204.

**38-**Franchini,A.,Canti,M.,Manfreda,G.and Bertuzzi,S.(1991) Vitamin E as Adjuvant in Emulsified Vaccine for Chicks. Poult. Science. 70,1709-1715.

**39-**Franchini,A., Bertuzzi,S., Manfreda,G., Meluzzi,A. and Franciosi,C. (1990) The Influence of High Doses of Dietary Vitamin E on the Immune Response of Turkeys. Zootecnica International. 40-46.

**40-**Franchini,A.,Bertuzzi,S.,Manfreda,G. and Meluzzi,A. (1990) High Dose of Vitamin E on Production of Interferons in Broilers.Arch.Geflügelk. 54 (4), 143-146.

**41-**Franchini,A., Bertuzzi,S. and Meluzzi,A. (1986) The Influence of High Doses of Vitamin E on Immune Response of Chicks to Inactivated Oil Adjuvant Vaccine. La Clinica Veterinaria. 109, 117-127.

**42-Franchini,A.,Canti,M., Sperati,L., Franciosi,C. and Bertuzzi,S.** (1988) The Use of Vitamin E in Preparing Inactivated oil Adjuvant Vaccine and Its Influence on Broiler Immune Response.La Veterinaria Clinica, 111, 121-133.

**43-Friedman., A. Meidowsky, A., Leitner, G. and Sklan. D.** (1991) Decrease Resistance and Immune Responce to E. coli Infection in Chicks With Low or High Intakes of Vitamin A. J.Nutr. 121, 395-400.

**44-Friedman,A. and Sklan,D.**(1989) Impaired T Lymphocyte Immune Response in Vitamin A Depleted Rats and Chicks. British J. Nutr. 62, 439-449.

**45-Fusi,S., Kupper,T.S., Green,D.R. and Ariyan,S.**(1984) Reversal of Postburn Immunosuppression by the Administration of Vitamin A. Surgery.96(2), 330-335.

**46-Good,R.A., Fernandes,G., Yunis,E.J., Cooper,W.C., Jose,D.C., Kramer,T.R. and Hansen,M.A.** (1976) Nutrition and Immune Response. American Journal of Pathology .84 (3) , 599-614.

**47-Hassan,S. and Hakkarainen,J.** (1990) Response of Whole Blood, Erythrocyte and Plasma Vitamin E Content to Dietary Vitamin E Intake in the Chick. Acta Vet.Scand. 31, 399-408.

**48-Hassan,S., Hakkarainen,J., Jönsson,L. and Työppören,J.** (1990) Histopathological and Biochemical Changes Associated with Selenium and Vitamin E Deficiency in Chicks. J. Vet.Med.Ass. 37, 708-720.

**49-Hidiroglou,N.,Butler, G. and McDowell,L.R.**(1990) Plasma and Tissue Vitamin E Concentrations in Sheep After Administration of Single Intraperitoneal Dose of dl-alpha Tocopherol.J.Anim.Sci.68, 782-787.

**50-**Hogan,J.S., Smith,K.L. Weiss,W.P., Todhunter,D.A. and Schockey,W.L. (1990) Relationships Among Vitamin E, Selenium and Bovine Blood Neutrophils. *J.Dairy Sci.*73, 2372-2378.

**51-**Hogan,J.S., Weiss,W.P., Todhunter,D.A., Smith,K.L. and Schoenberger, P.S.(1992) Bovine Neutrophil Responses to Parenteral Vitamin E. *J.Dairy Sci.* 75, 399-405.

**52-**Horton,H.R., Moran,L.A., Ochs,R.S., Rawn,J.D. and Scrimgeour,K.G. (1992) Principles of Biochemistry. Neil Patterson Publishers, Prentice-Hall International Limited. London.

**53-**Hough,S., Avioli,L.V., Muir,H., Gelderblom,D., Jenkins,G., Kurasi,H., Slatopolsky,E., Bergfeld,M.A. and Teitelbaum,S.L. (1988) Effects of Hypervitaminosis A on the Bone and Mineral Metabolism of the rat. *Endocrinology.* 122 (6), 2933-2939.

**54-**Israel,H.,Odziemiec,C. and Ballow,M.(1991) The Effects of Retinoic Acid on Immunoglobulin Synthesis by Human Cord Blood Mononuclear Cells. *Clinical Immunology and Immunopathology.* 59, 417-425.

**55-**Jones, F.T. (1986) Effect of Pelleting on Vitamin A Assay Levels of Poultry Feed. *Poult.Science* 65, 1421-1426.

**56-**Judson,G.J.,Babidge,P.J. and Babidge,W,J.(1991) Plasma, Liver and Fat alpha-tocopherol Concentrations in Sheep Given Various Oral and Subcutaneous Doses of Vitamin E. *Australian Journal of Experimental Agriculture.* 31, 45-50.

**57-**Kato,K.,Kato,M., and Goodman, D. S. (1984) Immunocytochemical studies on the localization of plasma and cellular retinol-binding proteins transthyretin (Prealbumin) in rat liver and kidney. *Journal of Cell Biology.* 98,1696,1704.

**58-Kato, K., Kato, M., and Goodman, D.S. (1985)** Immunochemical studies on the localization and on the concentration of cellular retinol-binding protein in rat liver during perinatal development. *Laboratory Investigation*. 52, 475-484.

**59-Kenneth, N.M. and Chung, S.Y. (1983)** An isocratic High Performance Liquid Chromatography Method For the Simultaneous Analysis of Plasma Retinol, Alpha-tocopherol and Various Carotenoids. *Analytical Biochemistry*. 145, 21-26.

**60-Kidao, S., Sanders, B.G. and Kline, K. (1993)** RRR-Alpha-Tocopheryl Succinate Induced Interleukin-2 Production By Avian Splenic T Lymphoma Cells. *Biotechnology Therapeutics*. 4 (1,2), 117-132.

**61-Klasing, K.C. (1991)** Avian Inflammatory Response: Mediation by Macrophages. *Poult. Science*. 70, 1176-1186.

**62-Kline, K. (1991)** Vitamin E Effects on Avian Retrovirus-Induced Immune Dysfunctions. (Vitamins and Minerals in the Prevention and Treatment of Cancer. Edit by Maryce M. Jacobs) Boca Raton Ann Arbor Boston London.

**63-Kline, K. and Sanders, B.G. (1991)** RRR-Alpha-Tocopheryl Succinate Enhances T Cell Mitogen- Induced Proliferation and Reduces Suppressor Activity in Spleen Cells Derived From AEV-Infected Chickens. *Nutr. Cancer*. 15, 73-85.

**64-Kline, K. and Sanders, B.G. (1993)** RRR-alpha-Tocopheryl Succinate Inhibition of Lectin-Induced T Cell Proliferation. *Nutr. Cancer*. 19, 241-252.

**65-Konuk, T. (1981)** *Pratik Fizyoloji II. Baskı*, A.Ü. Basımevi Ankara.

**66-Kumar,A. and Rao,A.T.(1991)** Double Antibody Sandwich ELISA for Detection IBD Virus. *British Veterinary Journal.* 147 (3), 251-255.

**67-Kumar.A., Rao.A.T.,and Parhi,N.K.(1991)** An Indirect ELISA for Detection of Antibodies in Chicks Infected with IBD Virus. *Indian Veterinary Journal.* 68 (12), 1109-1112.

**68-La Vecchia,C., Francheschi,S., Decarli,A., Gentile,A., Fasoli,M., Pampallona,S.,and Tognoni,G.(1984)** Dietary vitamin A and the risk of invasive cervical cancer. *Int.J.Cancer.* 34, 319-322.

**69-Latshaw,J.D.(1991)** Nutrition mechanism of immunosuppression. *Vet.Immunology and Immunopathology.* 30, 111-120.

**70-Lee,L.H. and Lin,Y.D. (1992)** A Monoclonal Antibody Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay For Detecting Antibodies To Infectious Bursal Disease Virus.*Journal of Virological Methods.*36 (1),13-23.

**71-Lehninger.A.L (1982)** Lehninger. Principles of Biochemistry. Second Printing. Ed.By. Sally. Adverson, Jun. Fax.Worth Publishers. Inc 444 Park Avenue South New York , NY 10016 USA.

**72-Ley,D.H., Yamamoto,R. and Bickford,A.H.(1983)** The pathogenesis of IBD; Serologic,Histopathologic and Clinical Chemical Observations.*Avian Disease.* 27 (4) , 1060-1085.

**73-Lumeij,J.T. (1987)** The Diagnostic Value of Plasma Proteins and Non-Protein Nitrogen Substances in Birds. *The Vet. Quarterly.* 9, 262-268.

**74-Maiti.N.K., Saini,S.S. and Sharma,S.N. (1990)** Histochemical Studies on Chicken Peripheral Blood Lymphocytes. *Vet. Res. Communications.* 14, 207-210.

**75-**Marubini,E.,Decarli,A.,Costa,A.,Andreoli,C., Barbieri,A., Capitelli, E.,Carlucci, M., Cavallo,F., Monferroni,N., Pastorino, and Salvini, S. (1988) Relationship of Dietary Intake and Serum Levels of Retinol and  $\beta$  Carotene With Breast Cancer. *Cancer*. 61, 173-180.

**76-**Mariguchi,S., Kabayashi,N. and Kishino,Y. (1990) High Dietary Intakes of Vit E and Cellular Immune Function in Rats. *J.Nutr.* 120,1096-1102.

**77-**Meydani,S.N., Barklund,M.P., Liu,S., Meydani,M.,Miller,R.A., Cannon,J.G., Morrow,F.D.,Rocklin,R., and Blumberg,J.B. (1989) Vitamin E Supplementation Enhances Cell-Mediated Immunity in Healthy Elderly Subjects. *American J.Clin Nutrition*. 52, 557-563.

**78-**Meydani,S.N.,Meydani,M.,Verdon,C.P.,Shapiro,A.A. Blumberg,J.B. and Hayes,K.C. (1986) Vitamin E Supplementation Suppress Prostaglandin E<sub>2</sub> Synthesis and Enhances the Immune Response of Age Mice. *Mech. Ageing. Development*. 34,191-201.

**79-**Miller,K.W., Lorr,N.A. and Yung, C.S. (1984) Simultaneous determination of plasma retinol,  $\alpha$ -tocopherol, lycopene,  $\alpha$ -caroten and  $\beta$ -caroten by High Performance Liquid Chromatography. *Analytical Biochemistry*. 138, 340-345.

**80-**Morales,C. and Griswold,M.D. (1987) Retinol Induced stage Synchronization in seminiferous tubules of the rat.*Endocrinology*.121,432-434.

**81-**Morrill,J.L. and Reddy,P.G.(1987) Effects of Vitamin E on Immune Responses and Performance of Dairy Calves. Technical Symposium,Daytona Beach Florida USA.

**82-Mueller, J., Brundel, V.G., Buerki, H., Keller, H.U., Hess, M.W. and Lottier, H. (1975) Nonspecific Acid Esterase Activity: A Criterion for Differentiation of T and B Lymphocytes in Mouse Lymph Nodes. Eur. J. Immun. 5, 274-281.**

**83-Müller, H., Schnitzler, D. and Bernstein, F. (1992) Infectious Bursal Disease of Poultry; antigenic structure of the virus and control. Vet Microbiology. 33 (1-4), 175-183.**

**84-Nakamura, T., Otaki, Y., and Nonoya, T. (1992) Immunosuppressive effect of a highly virulent infectious bursal disease virus isolated in Japan. Avian Disease. 36 (4), 891-896.**

**85-Nauss, K.M., Phua, C.C., and Ambragi, L. (1985) Immunological changes during the progressive stages of vitamin A deficiency in the rat. J. Nutr. 115, 909-918.**

**86-Nemec, M., Hidiroglou, M., Nielsen, K., and Proulx, J. (1990) Effect of Vitamin E and Selenium Supplementation on some Immune Parameters Following Vaccination Against Brucellosis In Cattle. J. Anim Sci. 68, 4303-4309.**

**87-Nockels, C.F. (1987) Nutrient Modulation of the Immune System in "Recent Advances in Animal Nutrition" Ed: Haresign W., Cole D.J.A., Butterworths, London.**

**88-NRC. (1984) National Academy of Sciences Nutrient Requirements of Domestic Animals, No : 1 Nutrients of Poultry, Washington, D.C.**

**89-NRC. (1987) Vitamin Tolerance of Animals National Academy Press, Washington, D.C.**

**90-** Ohno,Y., Yoshida,O., Oishi,K., Okado,K., Yamabe,H. and Schroeder, F.H. (1988) Dietary  $\beta$  karotene and cancer of prostate:case control studying Kyoto Japan. *Cancer Research*. 48, 1331-1336.

**91-**Panigrahy,B., Rowe,L.D. and Corrier.D.E.( 1986) Haematological Values and Changes in Blood Chemistry in Chickens With Infectious Bursal Disease Virus.*Research in Veterinary Science* .1 (40), 86-88.

**92-**Pasatiempo, A ,M ,G., Taylor,C.E.and Ross,A.C.(1991) Vitamin A Status and the Immune Response to Pneumococcal Polysaccharide: Effects of Age and Early Stages of Retinol Deficiency in Rats. *J. Nutr.*121 , 556-562.

**93-**Philips,R.W.(1982) Fat Soluble Vitamins. in "Veterinary Pharmacology and Therapeutics." Fifth Edition. Ed by. Nicholas H. Booth,Leslie,E.McDonald. 624-627. The Iowa State Univ. Press. Ames.

**94-**Putnam,M.E. and Comben,N.(1987) Vitamin E.*Vet.Record*.121.541-545.

**95-**Ramm,H.C.,Wilson,T.J.,Boyd,R.L. and Ward,H.A.(1991) The effect of infectious bursal disease virus on B lymphocytes and bursal stromal components in specific pathogen free White Leghorn chickens. *Dev.Comp.Immunology*. 15 (4), 369-381.

**96-**Reddy,P.G., Morrill,J.L.,and Minocha,H.C.(1987) Vitamin E is Immunostimulatory in Calves.*J.of Dairy Science*.70 (5), 993-999.

**97-**Rodenberg,J.,Sharma,J.M. and Belzer,S.W (1994) Flow cytometric analysis of B cell and T cell subpopulations in specific patogen-free chickens infected with Infectious Bursal Disease virus. *Avian Disease*. 38 (1) ,16-21.



**98-Romach,E.H.,Kidao,S.,Sanders,B.G.and Kline,K.(1993) Effects of RRR-Alpha-Tocopheryl Succinate on IL-1 and PGE<sub>2</sub> Production by Macrophages. Nutr Cancer. 20, 205-214.**

**99-Romach,E.H., Rao,A., Sanders,B.G. and Kline,K. (1992) Vitamin E Modulation of Retrovirus-Induced Chicken Macrophage Chemotactic Dysfunction.J.of Nutritional Immunology .1 (2) ,023-41.**

**100-Romach,E.H.,Sanders,B.G. and Kline,K.(1993) Alpha Tocopheryl Succinate Amelioration of Retrovirus-Induced Inhibition of Macrophage Chemotaxis.J.of Nutritional Immunology .2 (1) ,23-41.**

**101-Rombout,J.H.W.M. Van Rens B.T.T.M.,Sijtsma,S.R.,Van der Weide.M.C. and West C.E.(1992) Effects of Vitamin A Deficiency and Newcastle Disease Virus Infection on Lymphocyte Subpopulations in Chicken Blood.Vet.Immunology and Immunopathology. 31 , 155-166.**

**102-Rombout, H.W.M., Sijtsma, S.R., West, C.E., Karabinis, Y., Sijtsma, O.K.W.and Zijpp, J.V.A. (1992) Effect of Vitamin A Deficiency and Newcastle Disease Virus Infection on Ig A and Ig M Secretion in Chickens. Br.J. Nutrition. 68, 753-763.**

**103-Rutter,J.M.(1990) Vitamin A. Vet. Record . 41, 433.**

**104-Saif,Y.M.(1991) Immunosuppression induced by infectious bursal disease virus.Vet. Immun. Immunopathology. 30 (1), 45-50.**

**105-Seyisoğlu,M.(1988) Infectious Bursal Disease (Gumboro) and its Effect On Humoral Immunity. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi.6 (3), 217-227.**

**106-Sharma,J.M. (1991) Overview of the avian immune system. Vet. Immunology and Immunopathology .30, 13-17.**

**107-Sharma,J.M.,Dohms,J. and Walser,M. (1993) Precence of lesions without virus replication in the thymus of chickens exposed to Infectious Bursal Disease. Avian Disease . 37 (3), 741-748.**

**108-Sheehy,P.J.A., Morrissey,P.A. and Flynn,A.(1991) Influence of Dietary Alpha-Tocopherol on Tocopherol Concentrations Chick Tissues. British Poult. Science. 32, 391-397.**

**109-Sijtsma,R.S., Rambout,Jan H.W.M., Kiepurski,A., West,C.E. and Zijpp J.V.A.(1991) Changes in Lymphoid Organs and Blood Lymphocytes Induced by Vitamin A Deficiency and Newcastle Disease Virus Infection in Chickens. Developmental and Comparative Immunology. 15, 349-356.**

**110-Sijtsma,S.R.,Rombout,J.H.W.M.,Dohmen,M.J.W., West,C.E.,and Zijpp,J.V.A. (1991) Effect of Vitamin A Deficiency on the Activity of Macrophages in Newcastle Disease Virus-Infected Chickens. Vet. Immunology and Immunopathology .27, 17-27.**

**111-Sijtsma, R.S.,West,C.E.,Rombout, Jan H W.M., and Zijpp ,J.V.A. (1989)Effect of Newcastle Disease Virus Infection on Vitamin A Metabolism in Chickens.J.Nutr.119 (6), 940-947.**

**112-Sijtsma, R.S., West,C.E., Rombout,Jan H.V.M.,and Zijpp, J.V.A. (1989) The Interaction Between Vitamin A Status and Newcastle Disease Virus Infection in Chickens.J.Nutr. 119 (6), 932-939.**

**113-Sijtsma.S.R., Rombout,J.H.W.M., West,C.E. and Zijpp,J.V.A. (1990) Vitamin A Deficiency Impairs Cytotoxic T Lymphocyte Activity in Newcastle Disease Virus-Infected Chickens. Vet. Immunology and Immunpathology. 26, 191-201.**

**114-Sklan,D., Yosefov,T. and Friedman,A. (1989) The Effects of Vitamin A, Beta-Carotene and Canthaxanthin on Vitamin A Metabolism and Immune Responses in the Chick. Internat.J.Vit.Nutr. Res.59, 245-250.**

**115-Smith,S.M., Levy,N.S. and Hayes,C.E.(1987)** Impaired Immunity in Vitamin A Deficient Mice. J. Nutr. 117 ( 5 ), 857-865.

**116-Sreemannarayana,O., Marquart,R.R., Frehlich,A.A and Guenther,W. (1989)** Enzyme Activities, Protein, Metabolites and Electrolyte Concentrations in the Serum of Comb White Leghorn Chickens. Indian Vet. J. 66 , 435-440.

**117-Tengerdy,R.P.(1989)** Immunity and Disease Resistance in Farm Animals Fed Vitamin E Supplement. Department of Microbiology Colorado,State Universty Fort Collins,CO 80523.

**118-Tengerdy,R.P., Mathias,M.M.,and Nockels,C.F. (1981)** Vitamin E, Immunity and Disease Resistance. From: DIET AND RESISTANCE TO DISEASE .Edited by Marshall Phillips and Albert Baetz (Plenum Publishing Corproation).

**119-Tengerdy,R.P.,Lacetera,N.G. and Nockels C.F.(1990)** Effect of Beta Carotene on Disease Protection and Humoral Immunity in Chickens. Avian Diseases. 34, 848-854.

**120-Tiftik,A.M.(1992)** Karotinlerin Vitamin A'ya Dönüşümleri ve Vitamin A Metabolizması. S.Ü.Veteriner Fak.Derg. 8 (2), 3-5.

**121-Tiftik,A.M.(1992)** Neonatal Enfeksiyonlu Buzagalarda Plazma VitaminA ve  $\beta$ -karotin Düzeyleri. Doğa-Tr.J of Veterinary and Animal Science.16,457-464.

**122-Tiftik,A.M. ve Nizamlıoğlu,M.(1992)** İneklerde plazma retinol,  $\beta$ -karotin düzeyleri ve bu düzeylerle çeşitli postpartum hastalıklar arasındaki ilişkiler. Doğa-tr. J of Veterinary and Animal Science. 16, 177-186.

**123-**Veltman,J.R.,Jensen,L.S. and Rowland,G.N. (1986) Excess dietary vitamin A in the growing chick: Effect on fat source and Vit D. *Poult.Science*. 65, 153-163.

**124-**Wang,C.H.(1978) Pathological and Biochemical Analysis of the Antagonistic Effect of Excessive Vitamin E on Vitamin A Suspected in Chickens.Memoirs of College of Agriculture, National Taiwan University 53, 37-44.

**125-**Wang,C.H. (1993) Cornification of Esophagus Induced by Excessive Vitamin E. *Nutrition*. 9, 225-228.

**126-**Wang,C.H.,Wu,Y.S.,Chen,S.J.,and Chen,B.J.(1989) Effect of Vitamin A on the Production of Antibody in Chickens Immunized with Newcastle Disease Virus and Sheep Red Blood Cell.Memoirs of the College of Agriculture .National Taiwan University .29 (2),137-144.

**127-**West,C.E.,Sijtsma,S.R.,Kouvenhowen, B.,Rambout, Jan H.W.M. and Zijpp,J.V.A. (1992) Epithelia Damaging Virus Infections Affect Vitamin A Status in Chickens. *J.Nutr*. 122, 333-339.

**128-**West,C.E., Sijtsma,S.R., Peters,H.P.F., Rombout, H.W.M. and Zijpp, J.V.A. ( 1992) Production of Chickens with Marginal Vitamin A Deficiency. *British.J of Nutr*. 68, 283-291.

**129-**Wills,E.D.(1988) *Biochemical Basis of Medicine* .Published by Jhon Write and Sons LTD Bristol,England; 159-165.

**130-**Wyeth P.J.,Chettle,N.J. and Mohepat.A.R.(1992) Use of an inactivated infectious bursal disease oil emulsion vaccine in commercial layer chicks. *Vet.Record*. 13 (2), 30-32.

**131-**Yenson,M.(1984) Vitaminler ve Fonksiyonları. "İnsan Biyokimyası" 605-612. Sermet Matbaası, Kırklareli.

**132-Yılmaz,H. ve Gün,H.(1995)** E Vitamini ve Selenyumun Biyolojik ve Immunolojik Önemi. "Bültendif" Sayı 5 ,Doğu İlaç Fabrikası A.Ş. Şişli İstanbul.

**133-Zubay,G.(1983)** Many Vitamins are Lipid Soluble. in "Biochemistry" Second Edition. Chapter 5 MacMilan Publishing Company New York.



## 9. ÖZGEÇMİŞ

1968 yılında Konya da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi aynı şehirde tamamladım. 1985 yılında S.Ü.Veteriner Fakültesi' ne girdim ve 1990 yılında mezun oldum. Şubat 1991 de S.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen bu görevimi sürdürmekteyim.



## 10. TEŞEKKÜR

Çalışmalarım esnasında büyük destek ve yardımlarını gördüğüm danışman hocam Prof.Dr.Mehmet NİZAMLIOĞLU'na, Anabilim Dalı başkanımız Prof.Dr. Leyla KALAYCIOĞLU'na, Prof.Dr.Behiç SERPEK'e ve diğer mesai arkadaşlarıma, araştırma sırasında yardımlarını esirgemeyen sayın Prof.Dr.Behiç COŞKUN, Doç.Dr. Şeref İNAL ve Araş.Gör. Varol KURTOĞLU ile Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

T.C. YÜCEKÖMÜRÜN YERELİ  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ