

**T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**25OHD<sub>3</sub>, FİTAZ VE KALSİYUM VE FOSFOR SEVİYELERİNİN  
BROYLERLERİN PERFORMANS VE MİNERAL EMİLİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**MURAT EMRE YARDİBİ  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
TEKİRDAĞ ZİRAAT FAKÜLTESİ  
ZOOTEKNİ BÖLÜMÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
YEMLER VE HAYVAN BESLEME ANABİLİMDALI**

**PROF. DR. NİZAMETTİN ŞENKÖYLÜ**

**2005  
TEKİRDAĞ**

T.C.  
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**25-OH-D3, FİTAZ VE KALSİYUM VE FOSFOR SEVİYELERİNİN  
BROYLERLERİN PERFORMANS VE MİNERAL EMİLİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**HAZIRLAYAN: Murat Emre YARDİBİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

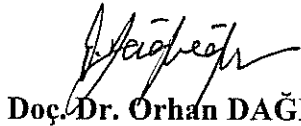
**DANIŞMAN: Prof. Dr. NİZAMETTİN ŞENKÖYLÜ**

**Bu Tez 30 /09 / 2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.**



**Prof. Dr. Nizamettin ŞENKÖYLÜ**

**Danışman**



**Doç. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU**



**Yrd. Doç. Dr. H. Ersin ŞAMLI**

## ÖZET

Vitamin D<sub>3</sub>, iskelet formasyonu, kemik gelişimi, Ca/P optimizasyonu ve büyümede görevli bir vitamindir. Kanatlı diyetlerine yeterli miktarda vitamin D<sub>3</sub> katılıyor olmakla beraber saha şartlarında raşitizm veya TD gibi iskelet sorunları gözlemlenebilmektedir. Bu sorunların üstesinden gelmek ve büyüme ve yemden yararlanımı iyileştirmek için Vitamin D<sub>3</sub>'ün ticari bir metaboliti olan HyD ve mikrobiyal bir fitaz (Ronozyme P) tanıtılmakta ve hem yumurtacı hem de broiler üretiminde önerilmektedir.

Bununla beraber HyD ve fitazın ayrı ayrı ve birlikte, farklı Ca ve kullanılabilir P seviyelerindeki etkinliğini inceleyen çok sayıda bilimsel araştırma yoktur. Bu sebeple bu çalışmada farklı Ca, P ve D<sub>3</sub> vitamini seviyelerinde HyD ve fitazın broiler performansı ve mineral emilindeki etkileri incelenmiştir.

Ross 308 ırkı erkek cinsiyetli 560 adet bir günlük civciv kullanılmıştır ve deneme 42 gün sürmüştür. Çalışmada her muamele 8 tekrar olacak şekilde 7 muamele uygulanmıştır. Hayvanlar Trakya Üniversitesi Zootečni bölümünün deneme ünitelerinde 0-21 günler arasında başlatma (% 23 HP ve 3050 kcal/kg ME, % 1.1 Ca ve % 0.50 hazmolabilir P) ve 21-42 günler arasında da bitirme (% 20 HP ve 3200 Kcal/kg ME, % 0.90 Ca, % 0.45 hazmolabilir P) yemleri ile beslenmiştir. Deneme yemleri soya ve mısır temelli olarak Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü deneme ünitesindeki yem ünitesinde hazırlanmıştır.

Bir günlük civcivler bireysel olarak tartılarak rastgele her kafese 10 adet gelecek şekilde 56 kafese dağıtılmışlardır. Deneme kafesleri tel ızgara zeminli, damla tipi suluk içermektedir. Yemleme ve sulama ad libitum uygulanmıştır ve 24 saat ışık uygulaması yapılmıştır. Isıtma için radyan ısıtıcı kullanılmış ve deneme ünitesi sıcaklığı 30<sup>0</sup>C'den 25<sup>0</sup>C'ye kadar her hafta 2,5<sup>0</sup>C düşecek şekilde uygulanmıştır.

Civcivler haftalık olarak tartılmış ve her hafta yemliklerde artan yem tartılarak haftalık yem tüketimi saptanmıştır. Plazma Ca ve P seviyelerini gözlemleyebilmek için 21. gün her tekrar grubundan 2 ve her muameleden 16 hayvandan olacak şekilde kan örnekleri alınmıştır. Kemik mineralizasyonun bir göstergesi olarak tibiotarsus kırılma direnci ve elastikiyeti üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla 27.günde her muamele grubundan 21 adet hayvan kesilerek sağ tibiaları diseksiyonla ayrılmıştır.

Çalışmanın neticesinde düşük Ca ve P seviyesine rağmen normal vitamin D<sub>3</sub> ve fitaz uygulanan gruptaki YDO 42. günde en düşük bulunmuştur. Kemik mineralizasyonun bir göstergesi olarak kırılma direnci normal Ca ve P seviyesi ile düşük vitamin D<sub>3</sub>+ HyD grubunda en yüksek bulunurken bunu düşük Ca ve P seviyelerinde ve normal vitamin D<sub>3</sub>+fitaz grubu izlemiştir.

ANAHTAR KELİMELER: HyD, fitaz, Ca, P, broyler

## SUMMARY

Vitamin D<sub>3</sub> is responsible for skeletal formation, bone development, calcium mineralisation, Ca/P optimisation and for growth. In spite of the sufficient amount of vitamin D<sub>3</sub> supplementation into growing bird diets, skeletal problems such as rickets or TD might possibly be observed under field conditions. To overcome the skeletal problems and improve growth and food utilization, HyD (1.25 % 25OHD<sub>3</sub>), a commercial metabolite of vitamin D<sub>3</sub> and a microbial phytase (Ronozyme P) have been promoted and recommended for both layer and broiler productions.

However, there are not many research results in the scientific literature using HyD and phytase separately and in combination tested at different levels of calcium and available phosphorus. Therefore, the purpose of this study is to examine the effects of HyD and phytase at different levels of calcium and phosphorus on broiler performance and mineral absorption.

Ross 308 breed 560 day old chicks have been used and trial took 42 days. There were 8 treatment group and 7 replications in each treatment. Birds were fed with a starter diets (23 % CP and 3050 kcal/kg ME, 1.1 % Ca and 0.50 % available P) from day 0 to 21, and with grower diets (20 % CP and 3200 Kcal/kg ME, 0.90 % Ca, % 0.45 available P) from day 21 to 42 in broiler experimental units of Department of Animal Science of Trakya University in Tekirdağ-Turkey. Experimental diets were soya and corn based diets and were prepared in the feed mill of the Department of Animal Science in Tekirdağ.

One day old chicks of Ross breed were individually weighed and randomly placed into 56 broiler battery cage experimental units of 10 birds in each. Experimental battery cages have net floor and nipple watering system. Feed and water were given to birds ad libitum and experimental room was illuminated 24 hours. For heating radian heaters were used and room temperature has been decreased 2,5 °C every week from 30°C to 25°C gradually.

Chicks were weighed weekly and feed consumption has been calculated by collecting the remaining feed. To observe the plasma Ca and P levels, blood samples have been taken from 16 birds from each treatment at day 21. As an indication of bone mineralization to measure tibiotarsus breaking strength and elasticity at day 27, 21 birds have been slaughtered from each treatment group and right tibias have been dissected.

As a result of the trial in spite of lower Ca and P levels, FCR has found the lowest at day 42 in the treatment 7 which has standart vitamin D<sub>3</sub> and phtyase was added on top. As an indication of bone mineralization, bone breaking strength has been found the best in the treatment 3 which has standart Ca and P level but lower vitamin D<sub>3</sub>+HyD.

KEY WORDS: HyD, phytase, Ca, P, broiler

## ÖNSÖZ

İnsan sağlığı ve beslenmesi açısından önemi kaçınılmaz olan beyaz et üretiminin gerçekleştiği kanatlı endüstrisinde her geçen gün daha verimli ırklar geliştirilerek üretim miktarları arttırılırken maliyetin de düşürülmesi için çabalar sarfedilmektedir. Bunun sağlanabilmesindeki önemli unsurlardan biri ırkların verimlilik parametreleri yönünden geliştirilmeleri iken bir diğer unsur ise bu verimli ırkların daha uygun koşullarda yetiştirilmesi ve beslenmesidir.

Hayvanların yüksek verim kapasitelerine ulaşabilmesi için hazırlanan yemlerin hayvanların ihtiyaçlarını karşılayabilmesi yönünden daha hassas formule edilmesi gerekliliği artarken, yemler içerisinde hayvanların yararlanamadığı bir takım besinsel ögelerin kullanılabilmesi için çeşitli yem katkıları da geliştirilmektedir. Bunlardan fitaz enzimi, yem hammaddelerinde bulunan ve kanatlılar tarafından değerlendirilemeyen fitat formundaki fosforu hayvanın yararlanımına sunar ve yem maliyetini düşürürken azot atımını da azalttığı için çevresel fayda sağlar.

Gelişmiş ve hızlı büyüyen ırkların bir sorunu olarak ortaya çıkan iskelet sistemi ve yumurta kabuğu ile ilgili sorunların çözümü olarak da vitamin D<sub>3</sub> metabolitleri mit vaatmektedir. Bir ticari vitamin D<sub>3</sub> metaboliti olan HyD (% 1.25 25OHD<sub>3</sub>) ile bu konuda yapılmış çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmada ticari kanatlı yetiştiriciliğinde kullanıma sunulan ve temel olarak Ca ve P metabolizması ile ilintili olan bu iki yem katkısının normal ve düşük Ca, P ve vitamin D<sub>3</sub> seviyelerindeki birlikte veya ayrı ayrı etkinlikleri incelenmiştir.

Çalışmam süresince bilimsel desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Nizamettin şenköylü'ye, desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. H. Ersin şamlı ve Arş. Gör. Aylin Ağma ile bölüm başkanımız Prof. Dr. M. İhsan Soysal'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmam süresince hem bilimsel ve teknik hemde manevi yönlü destek olan sevgili eşim Hasret'e de teşekkürü borç bilirim.

## İçindekiler

	Sayfa No
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. LİTERATÜR BİLGİSİ</b>	2
<b>2.1. Vitamin D ve D Vitamini Metabolitleri</b>	2
<b>2.2. Vitamin D Metabolizması</b>	2
2.2.1. Genel bakış	2
2.2.2. 25-Hidroksilaz	5
2.2.3. 1 $\alpha$ -Hidroksilaz	7
2.2.4. 24-Hidroksilaz	10
2.2.5. 24-Hidroksilazın fizyolojik rolü	13
2.2.6. Vitamin D ve 25OHD <sub>3</sub> arasındaki emilim farklılıkları	15
2.2.6.1. Broiler civcivlerdeki emilim	16
2.2.6.2. Misele bağlı absorpsiyon	18
2.2.6.3. Karşılaştırmalı absorpsiyon araştırmaları	19
2.2.6.4. Safra tuzları, 25OHD <sub>3</sub> absorpsiyonu	20
2.2.6.5. Yağ absorpsiyonu	22
2.2.6.6. Yaşamın erken dönemindeki iskelet değişiklikleri	23
2.2.6.7. Malabsorpsiyon	24
2.2.7. Broiler diyetlerinde vitamin D kaynakları olarak kolekalsiferol ve 25-Hidroksikalsiferolun karşılaştırılması	25
<b>2.3. Kanatlı Beslenmesinde Ca ve P Metabolizması</b>	30
2.3.1. Ca:P Oranı	36
2.3.2. Vitamin D <sub>3</sub> 'ün Ca ve P metabolizmasındaki rolü	37
2.3.3. Fosfor takviyesinde yeni stratejiler	38
2.3.3.1. Bitkisel fosfor ve kalsiyumun sindirilebilirliği ve fitaz	38
2.3.3.2. Fitaz ve amino asitlerin sindirilebilirliği	39
2.3.3.3. Fitaz aktivitesi ile Ca:P oranı arasındaki ilişki	40
2.3.3.4. Kanatlılarda sindirim araştırmaları	40
2.3.3.5. 25OHD <sub>3</sub> ve fitat fosfor yararlanımı	42

<b>2.4. Kümes Hayvanlarında Diskondroplazi İle İlgili Beslenme ve Metabolizma Faktörleri</b>	44
2.4.1. Kanatlılarda iskelet sistemi deformasyonları	44
2.4.2. Tibia diskondroplazisinin karakteristik özellikleri	45
2.4.3. Beslenme ve TD	49
2.4.3.1. Kalsiyum ve fosfor	50
2.4.3.2. İyon dengesi	50
2.4.3.3. Protein ve amino asitler	51
2.4.3.4. Tiokarbonatlar	51
2.4.3.5. Mikotoksinler	52
2.4.3.6. Yem rejimleri	52
2.4.3.7. Vitamin D metabolitleri	52
2.4.3.8. Askorbik asit	55
2.4.4. TD Etiyolojisi	55
<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	58
3.1. Muameleler	58
3.2. Deneme Ünitesi ve Cıvciv Büyütme	59
3.3. Kan Analizleri	61
3.4. Kemik Kırılganlık Analizleri	61
3.5. İstatistik Analiz	62
<b>4. SONUÇLAR</b>	63
4.1. 1-21 Günlük Performans Sonuçları	63
4.2. 1-42 Günlük Performans Sonuçları	64
4.3. 21.Günde Kan Plazmasındaki Ca ve P değerleri	65
4.4. Kemik Kırılganlık ve Elastikiyet Testi Sonuçları	66
<b>5. TARTIŞMA</b>	70
<b>6. KAYNAKLAR</b>	74

## Çizelge Dizini

Çizelge 2.1.	Diyetsel vitamin D kaynağı ve düzeyinin ve fosfor düzeyinin 49 günlük broilerlerde tibia diskondroplazinin (TD) insidansı ve şiddeti üzerindeki etkileri.	29
Çizelge 2.2.	Ca, P ve Na kaynakları	35
Çizelge 2.3.	Değişik fosfor kaynakları ve sindirilebilme oranları	35
Çizelge 2.4.	Kanatlılarda sindirim çalışmaları	41
Çizelge 2.5.	Farklı vitamin D <sub>3</sub> metabolitlerinin fitat-fosfor ve fosfor yararlanımı üzerine etkileri.	43
Çizelge 2.6.	Yeme farklı düzeylerde eklenen kalsiyum ve 1,25-dihidroksivitamin D <sub>3</sub> 'ün 3 haftalık kanatlılardaki vücut ağırlığı, TD insidansı ve plazma iyonize Ca üzerindeki etkileri	54
Çizelge 2.7.	Yemdeki vitamin D ve 25-hidroksivitamin D'nin 3 haftalık broiler piliçlerdeki vücut ağırlığı ve tibia diskondroplazisi insidansı ve şiddeti üzerindeki etkileri	55
Çizelge 3.1.	Muameleler	59
Çizelge 3.2.	DeneySEL bazal diyetler	60
Çizelge 4.1.	21 Günlük performans sonuçları	63
Çizelge 4.2.	1-42 Günlük YDO değerleri	65
Çizelge 4.3.	21. gün alınan kan örneklerindeki ortalama Ca ve P seviyeleri	66
Çizelge 4.4.	Sağ tibiaların kırılma ve esneklik verileri	68



## Şekil Dizini

Şekil 2.1.	Kanatlılarda vitamin D <sub>3</sub> 'ün metabolizması	3
Şekil 2.2.	Vitamin D <sub>2</sub> metabolizma yolları	5
Şekil 2.3.	Civcivlerdeki kümülatif intestinal vitamin D <sub>3</sub> ve 25OHD <sub>3</sub> absorpsiyonu	17
Şekil 2.4.	Civcivlerdeki kümülatif intestinal vitamin D <sub>3</sub> ve 25OHD <sub>3</sub> salgılanması	17
Şekil 2.5.	Kuluçkadan çıktıktan sonraki yaşlarına göre, palazların farklı barsak segmentlerindeki net yağ absorpsiyonu	23
Şekil 2.6.	MAS bulunan broiler civcivlerdeki (sekiz günlük) plazma 25OHD <sub>3</sub>	25
Şekil 2.7.	49 günlük broilerlerde vitamin D düzeyi ve fosfor verme düzeyinin TD insidansı üzerindeki etkisi	28
Şekil 2.8.	Fitik asit (Myo-inositol hegzakisfosfat) molekülü	32
Şekil 2.9.	Karışık tip fitat	33
Şekil 2.10.	Farklı fitaz kaynaklarının fitat molekülü üzerine etkime noktaları	34
Şekil 2.11.	Peniophora ve Aspergillus fitazlarının etki mekanizmaları	34
Şekil 2.12.	Valgus Varus deviasyonu	45
Şekil 2.13.	Tibial diskondroplazi	46
Şekil 2.14.	Hipokalsemik raşitizm	47
Şekil 2.15.	Hipofosfatemik raşitizm	47
Şekil 2.16.	Radyografik TD görüntüsü	48
Şekil 2.17.	Tibial plato açısındaki farklılık	49
Şekil 3.1.	Universal MTS Alliance RT/5 cihazı	61
Şekil 4.1.	21 Günlük YDO sonuçları	64
Şekil 4.2.	1-42 Günlük YDO değerleri	65
Şekil 4.3.	1-21 ve 1-42 Günlük YDO değerleri	66
Şekil 4.4.	21. günde kan Ca seviyeleri	67
Şekil 4.5.	21. günde kan P seviyeleri	67
Şekil 4.6.	Tibia kırılma direnci verileri	69
Şekil 4.6.	Tibia esneklik verileri	69
Şekil 4.8.	21. gündeki canlı ağırlık	71

## Kısaltmalar Dizini

1 $\alpha$ -OH D <sub>3</sub>	1 $\alpha$ -hidroksikolekalsiferol
1,24(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	1,24-dihidroksivitamin D <sub>2</sub>
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1,25-dihidroksivitamin D <sub>3</sub>
24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	24,25-dihidroksivitamin D <sub>3</sub>
24,26(OH) <sub>2</sub> D <sub>2</sub>	24,26-dihidroksivitamin D <sub>2</sub>
24OHD <sub>2</sub>	24-hidroksivitamin D <sub>2</sub>
25OHD <sub>3</sub>	25-hidroksivitamin D <sub>3</sub>
Ca	Kalsiyum
CAA	Canlı ağırlık artışı
CA	Canlı ağırlık
cAMP	Siklik adenzin mono fosfat
Cl	Klor
CT	Kalsitonin
CYP2C11	25-hidroksilaz
DCP	Dikalsiyumfosfat
FAWC	Çiftlik Hayvanları Sağlığı Konseyi
H. P	Hazmolabilir fosfor
HyD	% 1.25 25-hidroksikolekalsiferol
IRTA	Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries
NRC	National Research Council
MAS	Malabsorpsiyon sendromu
MCP	Monokalsiyumfosfat
M	Muamele
P <sub>i</sub>	Fosfat iyonları
P	Fosfor
PTH	Paratiroid hormon
TD	Tibial diskondroplazi / Tibia diskondroplazisi
TPX	Paratiroidektomi
TPTX	Tiroparatiroidektomi
vitamin D <sub>3</sub>	Kolekalsiferol
VDR	Vitamin D reseptörü

YDO

Yem Dönüşüm Oranı

YT

Yem tüketimi

## 1. GİRİŞ

İnsan sağlığı ve beslenmesi açısından hayvansal protein tüketi mi yaşamsal bir öneme sahiptir. Hayvansal protein ihtiyacı ise ticari hayvan yetiştiriciliğinden elde edilen ürünlerle karşılanmaktadır. Ancak ülkemizde son 25 yılda hayvancılık gereken ölçüde gelişmemiş hatta bazı yetiştiricilik tiplerinde gerileme bile olmuştur. Örneğin büyük ve küçükbaş yetiştiriciliği arzu edilen gelişmeyi yakalayamamış buna mukabil kanatlı endüstrisi son 10 yılda belirgin derecede gelişme göstermiştir.

Ağırlıklı olarak tavukçuluk diye adlandırılan kanatlı endüstrisi 1970'li yıllarda aile işletmeciliği şeklinde, pahalı ve sınırlı üretim kapasitesi ile faaliyette bulunmaktaydı. 1980'li yıllarda ise piliç eti entegre tesislerin çoğalması ve sözleşmeli üretim modelinin uygulanması ile önemli bir yapısal değişim göstermiştir. Kanatlı endüstrisi 1990'lı yıllarda büyük yatırımlar yapılarak dünya standartları yakalanmış ve üretim sürekli arttırmıştır. 1990–2000 dönemi içinde tavuk eti üretiminin yıllık ortalama büyüme hızı %14,4'tür. Sektörün büyüme trendi sadece 1994 ve 2001 kriz yıllarında düşüş göstermiştir.

2002 yılı üretimine göre Türkiye 612.000 ton üretimle dünyada 25. sırayı almıştır. 2004 yılı üretimine göre sıralamada ilk 20'nin içine girmektedir. Kanatlı eti üretimi ülkemiz insanların dengeli beslenmeleri için stratejik öneme sahiptir. Türkiye'de kırmızı et üretiminin giderek gerilemesi sonucu ortaya çıkan hayvansal protein açığı, tavuk ve hindi eti üretiminin artışı ile dengelenebilmiştir. Fert başına kanatlı eti tüketimi 1994 yılından 2000'e kadar % 126 artarak 11.1 kg'a ulaşmıştır. 2001 ve 2002 yıllarında fert başına tüketim ne yazık ki 9,5-10 kg'lara düşmüştür. 2004 yılında tüketim 13 kg'ı bulmuştur (Besd-bir 2005).

Üretim maliyetinin % 70'ini yem bedeli oluşturmaktadır. Yeterli miktarda üretilmeyen yem hammadde si mısırın % 25-35'i, soyanın % 90'ı ithalattan karşılanmaktadır. Beyaz etin insan sağlığı beslenmesi için önemi ortada iken, bu üretim modelinde üretimin artırılması ve maliyetlerin azaltılmasında % 70 gibi büyük bir paya sahip olan yemden yararlanmanın artırılmasının da önemi büyüktür.

Yem maliyetlerinin azaltılmasında hammadde fiyatları önemli bir unsur olarak ortaya çıkarken muhtelif yem katkıları ile kullanılan bu hammaddelerin hayvanlar tarafından daha fazla yararlanılabilmesini ve hatta birtakım metabolik hastalıkların önlenmesi de üzerinde durulan ve ticari olarak kullanılan unsurlardan birisidir. Bu çalışmanın amacı, ülkemiz kanatlı endüstrisinde yemden yararlanımı artıran fitaz enzimi ile gelişen ırk ve yetiştirme özelliklerine bağlı olarak ortaya çıkan iskelet sistemi ve kabuk problemlerinde bir çözüm olarak umut vaadeden ve bir vitamin D<sub>3</sub> metaboliti olan 25OHD<sub>3</sub>'ün farklı Ca, P ve vitamin D<sub>3</sub> seviyelerinde birlikte veya ayrı ayrı etkisinin araştırılmasıdır.

## **2. LİTERATÜR BİLGİSİ**

### **2.1. Vitamin D ve D Vitamini Metabolitleri**

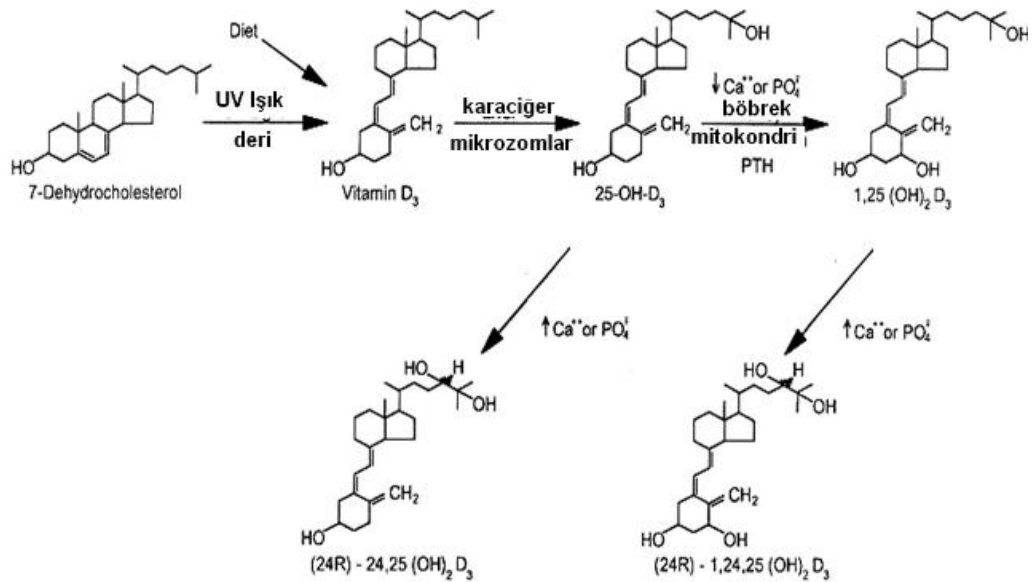
Deneysel beslenme alanının hala emekleme çağında olduğu 1919 yılında, Sir Edward Mellanby, çeşitli büyüme hızlandırıcı yağların ilavesi ile raşitizmin önlenmesi arasında ilk kez bağıntı kuran klasik bir deney gerçekleştirmiştir. Sir Mellanby, bu hastalığın iyileşmesini vitamin A adı verilen yağda çözünen bir maddenin varlığına bağlamıştır. Ancak, daha sonra McCollum ve ark. (1922), raşitizmin iyileşmesinden sorumlu olan faktörün vitamin A'dan farklı olduğunu keşfetmiştir. McCollum bu yeni maddeyi vitamin D olarak adlandırmıştır (Horst ve Reinhardt 1997). Bilim adamlarının belirgin olarak farklı yapılara sahip iki antiraşitik faktörün bulunduğunu fark etmesi de bu döneme rastlamaktadır (Norman 1980). Norman tarafından tartışıldığı gibi, saptanan ilk faktör vitamin D<sub>2</sub> (ergokalsiferol olarak da bilinmektedir) olarak adlandırılırken, vitamin D<sub>3</sub>'ün (kolekalsiferol) yapısı 4-5 yıl kadar sonra açıklık kazanmıştır. Vitamin D<sub>3</sub> ve D<sub>2</sub> Amerika Birleşik Devletleri'nde hayvan ve insan diyetlerinin takviye edilmesinde kullanılmaktadır. Vitamin D<sub>3</sub>, vitamin D'nin omurgalılar tarafından sentezlenen formudur; öte yandan vitamin D<sub>2</sub>, bu vitaminin bitkilerde doğal olarak bulunan majör formudur. Bu nedenle, amfibiler, sürüngenler ve kanatlılar gibi güneşte ısınan hayvanlar günlük gereksinimlerini karşılamak için yeterli endojen vitamin D<sub>3</sub>'ü sentezlemektedirler. Ancak, otobur hayvanlar temel kaynakları olarak vitamin D<sub>2</sub>'yi kullanmak üzere evrim geçirmiş olabilirler.

### **2.2. Vitamin D Metabolizması**

#### **2.2.1. Genel bakış**

Çağdaş bakış açısına göre vitamin D<sub>3</sub> bir vitamin olarak değil, bir prosteroid hormon olarak kategorize edilmektedir. Bu kavram, memelilerde vitamin D<sub>3</sub>'ün deride bulunan bir kolesterol benzeri ön maddeden (prekursör) türediği gerçeği tarafından desteklenmektedir. Güneş ışığının bu ön madde (7-dehidrokolesterol) üzerindeki direkt etkisi, steroid yapısının B halkasının bölünmesine yol açmakta ve bu da

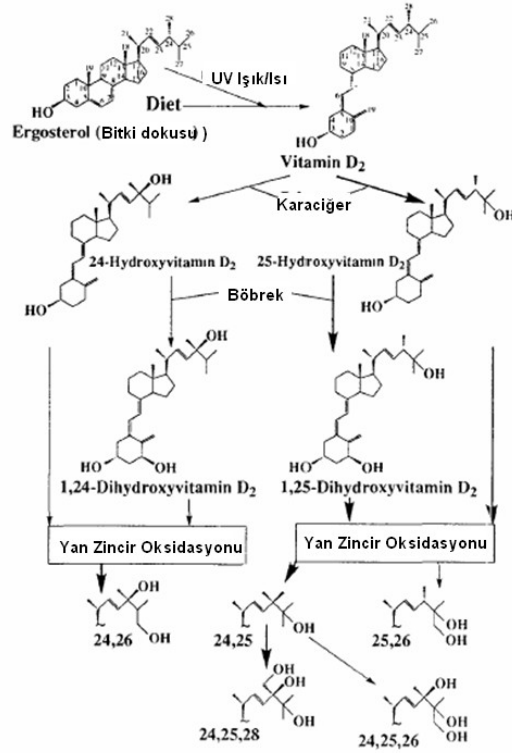
termoizomerizasyonda karakteristik sekosteroidi ortaya çıkarmaktadır. Vitamin D'nin bir pro-steroid hormon olarak önemi, Morii ve arkadaşlarının sıçanlardan yeni bir vitamin D<sub>3</sub> metabolitini izole ettiği 1967 yılında netlik kazanmıştır; bu metabolit raşitizmi iyileştirmede, kan kalsiyum düzeyini yükseltmede ve bağırsak kalsiyum transportunu arttırmada vitamin D<sub>3</sub> kadar etkili bulunmuştur (Horst ve Reinhardt 1997). Bu bileşik vitamin D<sub>3</sub>'den daha hızlı etki göstermiş, yanıtının başlaması için oral uygulamadan sonra yalnızca 8 ila 10 saat gerekmiştir. Bu metabolit 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub> (25OHD<sub>3</sub>) olarak tanımlanmıştır (Blunt 1967). Vitamin D<sub>3</sub>'ün 20-50 ng/ml oranı ile dolaşımında en fazla miktarda bulunan bu formunun üretiminde karaciğerin önemli olduğu kanıtlanmıştır (Napoli ve Horst 1984). 25OHD<sub>3</sub>'ün keşfinden kısa bir süre sonra, birçok laboratuvar bu metabolitin spesifik olarak böbrekte 1 $\alpha$ -pozisyonunda hidroksile edilerek 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>'ü [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] oluşturduğunu göstermiştir (Holick vd. 1971, Norman vd. 1971). Günümüzde, bu son metabolitin vitamin D<sub>3</sub>'ün hormonal olarak aktif formu olduğu genel kabul görmektedir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dolaşımında 25OHD<sub>3</sub>'e kıyasla yaklaşık 1000 kat daha düşük konsantrasyonlarda ve normal insan plazmasında genellikle 20-65 pg/ml oranında bulunmaktadır (Horst ve Reinhardt 1997).



Şekil 2.1. Kanatlılarda Vitamin D<sub>3</sub>'ün Metabolizması (Soares ve ark. 1995).

Vitamin D<sub>3</sub>'ün oksidatif olarak çeşitli ürünlere metabolize olabildiği gerçeği, vitamin D<sub>3</sub> aktivasyonu için çizilen bu basite indirgenmiş tabloyu karmaşıktır. Çok sayıdaki metabolitin çoğu, saptanabilir biyolojik fonksiyona sahip değildir ve gerçekte birçoğu anormal olarak yüksek miktarlarda vitamin D<sub>3</sub> verilmiş hayvanlardan izole edilmiştir. Bununla birlikte, bugüne değin elde edilen kanıtlar 25-hidroksile vitamin D<sub>3</sub> metabolitlerinin tercihli olarak yan zincirde metabolize edildiğini belirtmektedir. Özellikle, karbon merkezleri C-23, C-24 ve C-26 daha fazla oksidasyona kolaylıkla duyarlıdır. Şekil 2.1., bu oksidatif yolların ürünlerini göstermektedir. Gösterildiği gibi, bu yollar hem 25OHD<sub>3</sub> hem de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tarafından paylaşılmaktadır ve önemleri hala tartışma konusudur. Örneğin, 24,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>'ün [24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] kemik mineralizasyonunu uyarma (Ornoy vd. 1978, Bordier vd. 1978), paratiroid hormon (PTH) sekresyonunu baskılama (Canterbury vd. 1977) ve embriyon gelişimini sürdürme (Henry ve Norman 1978) fonksiyonu görebileceği yönünde kanıtlar bulunmaktadır. Ancak büyük ölçüde, bu yan zincir modifikasyonlarının genellikle katabolik nitelikte olduğu kabul edilmektedir.

Her ne kadar bu yan zincir oksidatif yolları “non-fonksiyonel” olduğu kabul edilen metabolitler ortaya çıkarıyor olsalar da, bu bileşiklerin dolaşımında bulunması 25OHD<sub>3</sub> ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> analizinde ciddi sorunlara yol açabilmektedir (Horst vd. 1981). Vitamin D<sub>3</sub> aktivasyonunu, katabolizmayı anlamayı ve metabolit analizini daha da güçleştiren bir sorun da vitamin D<sub>2</sub> varlığıdır. Vitamin D<sub>2</sub>'nin, vitamin D<sub>2</sub> takviyesi alan insanlarda ve diğer memelilerde genel vitamin D durumuna anlamlı ölçüde katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Hartwell vd. 1987, Reinhardt vd. 1984). Vitamin D<sub>2</sub> aynı zamanda, benzer bir biçimde metabolize edilerek, vitamin D<sub>3</sub> endokrin sisteme analog olan, vitamin D<sub>2</sub>'nin hormonal olarak aktif formu, 1,25-dihidroksivitamin D<sub>2</sub> [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>] gibi bir dizi metaboliti de oluşturabilmektedir (Jones vd. 1975). Ancak, bu yan zincirin basit olarak incelenmesi, vitamin D<sub>2</sub> ve vitamin D<sub>3</sub> metabolizması arasında farklılıkların olabileceğini düşündürmektedir. Karbon merkezleri C-22/C23'de doymamışlığın bulunması, C-24'deki ek metil grubuyla birlikte, bu iki vitamin için aynı metabolik yolların varlığını engellediği olası düşündürmektedir. Şekil 2.2., bugüne değin gösterilmiş olan bilinen vitamin D<sub>2</sub> metabolizması yollarını göstermektedir.



Şekil 2.2. Vitamin D<sub>2</sub> metabolizma yolları

### 2.2.2. 25-Hidroksilaz

Vitamin D'nin 25-hidroksilasyonu vitamin D aktivasyonundaki ilk aşamadır. Bu metabolitin üretilmesinden sorumlu olan enzim karaciğerde yer almaktadır. 25-hidroksilasyonun ekstrahepatik kaynakları tanımlanmıştır (Tucker vd. 1973); bununla birlikte, hepatektomi uygulanmış sıçanlarda yapılan deneyler, karaciğerin, vitamin D'nin yegane olmasa da en önemli fizyolojik olarak anlamlı 25-hidroksilasyon odağı olduğuna ilişkin kanıtlar sağlamıştır (Ponchon ve DeLuca 1969). Daha sonraki araştırmalar da hem karaciğer mitokondrilerinde hem de mikrozomlarında 25-hidroksilaz varlığını tanımlamıştır (Bhattacharyya ve DeLuca 1969, Madhok ve DeLuca 1979). İlk çalışmalarda, mikrozomal enzim, düşük kapasite ve yüksek afiniteye sahip bir enzim olarak ve dolayısıyla fizyolojik açıdan en büyük öneme sahip enzim olarak tanımlanmıştır (Madhok ve DeLuca 1979). Öte yandan, mitokondriyel enzim, yalnızca vitamin D toksisitesi gibi yüksek vitamin D konsantrasyonu koşulları altında anlamlı



olduğu düşünölen, yüksek kapasite, düşük afiniteli bir enzim olarak tanımlanmıştır (Bjorkhem vd. 1979). Mikrozomal enzimin fizyolojik olarak anlamlı enzim olduğuna ilişkin ilk bulgular, bu enzimin vitamin D durumuna göre düzenlenebileceğini ileri süren deneylerden gelmiştir (Madhok ve DeLuca 1979). Bugün, karaciğerin 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub> (25OHD<sub>3</sub>) üretimini anlamlı ölçüde düzenlenmediği net olarak bilinmektedir. 25OHD<sub>3</sub> üretimi esas olarak substrat konsantrasyonuna bağımlıdır. 25OHD<sub>3</sub>'ün fizyolojik düzenlenmesindeki bu eksikliğin önemli bir sonucu, kan 25OHD<sub>3</sub> ölçümünün, vitamin D durumunun mükemmel bir ölçütü olmasıdır.

Putatif karaciğer 25-hidroksilazların saflaştırılması ve klonlanması 1990'ların başlarında birçok kez incelenmiştir (Okuda 1992, Okuda vd. 1995). Literatürün incelenmesi, günümüzde ilginin büyük ölçüde, CYP27 olarak adlandırılan mitokondriyel 25-hidroksilaz üzerinde yoğunlaştığını göstermektedir. CYP27, safra asit sentezinde yer alan sterollerin C-26(27) hidroksilasyonu ve vitamin D<sub>3</sub>'ün 25-hidroksilasyonu yeteneğine sahip bir sitokrom P450'dir. Sıčan, tavşan ve insan enzimleri klonlanmıştır (Andersson vd. 1989). CYP27 klonu COS hücrelerinde eksprese edilmiştir (Usui vd. 1990) ve aktivitesi bu hücrelerin mitokondrilerinden izole edilmiştir. Eksprese edilen enzimin kolestanetriolün 27-hidroksilasyonu ve vitamin D<sub>3</sub>'ün 25-hidroksilasyonunu gerçekleştirdiği saptanmıştır. Ancak, CYP27 vitamin D<sub>2</sub>'nin 25-hidroksilasyonunu yapmamaktadır (Guo vd. 1993). CYP27'nin daha çok, vitamin D<sub>2</sub>'nin 24-hidroksilasyonu ve 26(27)-hidroksilasyonunu gerçekleştirdiği saptanmıştır. Bu aktiviteler, 24-hidroksivitamin D<sub>2</sub> (24OHD<sub>2</sub>), 1,24-dihidroksivitamin D<sub>2</sub> [1,24(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>] ve 24,26-dihidroksivitamin D<sub>2</sub>'nin [24,26(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>] sıčan ve ineklerin plazmasındaki varlığını açıklayabilmiştir (Jones 1980, Koszewski vd. 1988). Vitamin D içermeyen diyetlerle beslenen ve fizyolojik miktarlarda vitamin D<sub>2</sub> takviyesi verilen sıčanların plazmasında baskın monohidroksile vitamin D<sub>2</sub> metaboliti olarak 25OHD<sub>2</sub> bulunduğundan (Horst vd. 1990), bu veriler, CYP27'nin vitamin D'nin 25-hidroksilasyonundan sorumlu fizyolojik enzim olmadığını düşündürmektedir.

Sıčan karaciğer mikrozomal 25-hidroksilaz (CYP2C11) da araştırılmıştır, ancak bunun erkek cinsiyetine özgü olduğu gösterilmiştir (Hayashi vd. 1988). Ayrıca, insan mikrozomlarının 25-hidroksilaz aktivitesine sahip olmadığını gösteren veriler de

sunulmuştur (Saarem 1984). Dolayısıyla, CYP27 ve görünüşteki diğer mikrozomal 25-hidroksilazların önemi ile ilgili sonuçlara varmak için ek araştırmaların yapılması gerekmektedir.

Axen vd. (1994) tarafından sunulan veriler, mikrozomal kökeni olan üçüncü bir karaciğer 25-hidroksilazın bulunduğunu düşündürmektedir. Domuzlarda, bu enzim erkek ve dişilerde eşit olarak bulunmaktadır ve bir terminal amino asit sekansına dayanarak, CYP27 ve CYP2C11'den belirgin biçimde farklıdır. En önemli bulgu, bu domuz mikrozomal enzimin vitamin D<sub>2</sub> ve D<sub>3</sub>'ün 25-hidroksilasyonunu eşit olarak gerçekleştirmesidir. Vitamin D'nin 25-hidroksilasyonu henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Vitamin D'nin 25-hidroksilasyonunda bir dizi enzim bir rol oynayabilir. Bir enzimin fizyolojik açıdan diğerlerinden daha anlamlı olup olmadığı hala yanıtlanması gereken bir sorudur. Bununla birlikte, memelilerin vitamin D<sub>2</sub>'yi yegane vitamin D kaynağı olarak kullanabildikleri açıktır. Dolayısıyla, vitamin D'nin 25-hidroksilasyonunda anahtar enzim veya enzimler olarak açıklanan herhangi bir 25-hidroksilaz, hem vitamin D<sub>2</sub> hem de vitamin D<sub>3</sub>'ün 25-hidroksilasyonunu gerçekleştirme yeteneğine sahip olmalıdır.

### **2.2.3. 1 $\alpha$ -Hidroksilaz**

1960'ların sonlarında, 25OHD<sub>3</sub>'ün vitamin D'nin metabolik olarak aktif formu olduğuna inanılıyordu. Ancak, <sup>3</sup>H-işaretli vitamin D<sub>3</sub> uygulanan civcivlerin bağırsak mukozaya kromatininde biriken daha polar bir metabolitin varlığı, vitamin D aktif formu için yeni bir adayın olduğunu düşündürmüştür (Haussler vd. 1968). Daha sonra Lawson ve ark.(1969) tarafından yapılan çalışmalar, bu metabolitin oluşumu sırasında 1 $\alpha$ -<sup>3</sup>H işaretinin kaybolduğunu göstermiştir. Bu da araştırmacıların, bu yeni metabolitin C-25'deki hidroksil grubuna ek olarak C-1'de araya giren bir oksijen fonksiyonuna sahip olduğunu ileri sürmelerine yol açmıştır. Bu yeni metabolitin artmış biyolojik aktivitesi, daha yapısının belirlenmesinden önce açıkça görülmüştür (Kodicek vd. 1970). Fraser ve Kodicek (1970), nefrektominin bu yeni metabolitin üretimini ortadan kaldırdığını ve bu aktif vitamin D bileşiğinin böbrek mitokondrileri tarafından sentezlendiğini kanıtlamıştır. 1971 yılında, üç laboratuvar vitamin D'nin aktif formunu 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

olarak tanımlamıştır (Lawson vd. 1971, Norman vd. 1971, Holick vd. 1971). Daha sonra vitamin D<sub>2</sub> formu da izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Jones vd. 1975).

1 $\alpha$ -hidroksilaz böbreğin proksimal kıvrımlı tübül hücrelerinin iç mitokondriyel membranında yer almaktadır. Böbrek dışı 1 $\alpha$ -hidroksilasyon odakları kemik, karaciğer, plasenta, makrofajlar ve deride bildirilmiştir. Nefrektomi ve/veya ağır böbrek yetersizliği dolaşımında çok düşük ila saptanamaz 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeylerine yol açtığından, bu odakların sistemik kalsiyum metabolizması üzerindeki önemi kuşkuludur (Gray vd. 1974).

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretiminin düzenlenmesi 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile ilgili olarak iki yönlüdür (DeLuca 1974). Kalsiyumdan eksik diyetler, vitamin D eksikliği ya da patolojik faktörlerin neden olduğu hipokalsemi 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretiminin artmasına yol açmaktadır (DeLuca 1974, Henry vd. 1974). Hipokalsemiden kaynaklanan bu 1,25-hidroksivitamin D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] üretimi artışı PTH artışına sekonderdir. Hayvanlara PTH uygulanması 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretiminde artışa yol açmaktadır (Armbrecht vd. 1982). PTH tedavisi in vitro olarak böbrek dilimlerinde 57 ve kültür yapılmış böbrek hücrelerinde 1 $\alpha$ -hidroksilazı indüklemektedir ve cAMP'a bağımlıdır (Henry 1981). Tiroparatiroidektomi (TPTX) veya paratiroidektomi (TPX) 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sentezleme yeteneğinde kayba yol açmaktadır. İnsanlarda, akut PTH uygulaması veya primer hiperparatiroidizm 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretiminde, plazma 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> düzeylerindeki yükselmelerle kanıtlanan artışa yol açmaktadır (Broadus vd. 1980). Bununla birlikte, PTH'nin keçi ve buzağılara kronik olarak uygulandığı hayvan araştırmalarında, plazma 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'de geçici bir yükselmenin ardından neredeyse saptanamaz düzeylere hızlı bir düşüş gözlenmiştir (Hove vd. 1984). Bu sonuçlar renal 1 $\alpha$ -hidroksilaz üzerindeki hiperkalsemik geribildirim'e bağlanabilir. Bu hayvanlarda plazma kalsiyum 13 mg/dl'ye ulaştığında, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretiminin durduğu görülmüştür. Aynı araştırmacı grubu sıçanlarda benzer deneyler yürütmüş ve kronik PTH infüzyonunun plazma 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'de bir azalmadan çok, ılımlı bir artışa yol açtığını göstermiştir (Reinhardt ve Horst 1990). Renal 1 $\alpha$ -hidroksilaz üzerinde değişen derecelerde direkt kalsiyum kaynaklı geribildirim olduğu açıktır. Türlerin ve yaşın, plazma kalsiyumun 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>

üretimini bir direkt negatif regülatörü haline geldiği saptama noktalarını etkilemesi olasıdır.

Plazma kalsiyumun  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  üretimi indüklemedeki indirekt rolünün tersine, plazma fosfatın rolünün daha direkt olduğu düşünülmektedir. Plazma fosfat seviyesi düştüğünde, hayvanlar  $24,25(\text{OH})_2\text{D}$  üretiminden  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  üretimine geçiş yaparlar (Henry vd. 1974). Fosfat eksikliği olan hayvanlar hiperkalsemik olduğundan, serum PTH düşüktür ve dolayısıyla  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  üretimini arttırma sinyali sağlayamaz. Bunun yanı sıra, TPTX uygulanmış fosfat yetersizliği olan hayvanlar TPTX uygulanmamış fosfat yetersizliği olan hayvanlarla benzer biçimde  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  üretmektedir (Hughes vd. 1975). Gray ve ark.(1987), hipofizektominin, normal olarak diyetel fosfat yoksunluğuna eşlik eden plazma  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  konsantrasyonlarındaki artışı ortadan kaldırdığını kanıtlamıştır. Araştırmacılar, hipofizektomi yapılmış sıçanlara uygulanan büyüme hormonu ya da triiyodotironin replasmanının plazma  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'de düşük diyetel fosforla bağıntılı yükselmeleri düzelttiğini kanıtlamıştır ve bu da, bu hormonların fosfor yetersizliği sırasında renal  $1\alpha$ -hidroksilazın düzenlenmesinde bir rol oynadığını düşündürmektedir.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ 'nin kendi üretimi üzerinde direkt bir negatif etkisi bildirilmiştir.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün renal  $1\alpha$ -hidroksilaz aktivitesi üzerindeki inhibe edici etkisi hem in vivo hem de in vitro olarak görülmektedir (Armbrect vd. 1982). In vivo olarak, bu etki kısmen  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 'ün PTH sekresyonunu inhibe etme yeteneğinden kaynaklanıyor olabilir. Benzer biçimde, vitamin D toksisitesi renal  $1\alpha$ -hidroksilaz aktivitesini hafifçe inhibe etmektedir (Beckman MJ vd. 1995). Beckman ve ark. (1995) düşük kalsiyum diyetlerin anlamlı  $1\alpha$ -hidroksilaz artışına yol açtığını gözlemlenmiştir. Araştırmacılar ayrıca, kalsiyumdan eksik bir diyet verilen hayvanlara toksik vitamin D dozlarının uygulanmasının  $1\alpha$ -hidroksilaz aktivitesini % 90 oranında azalttığını da göstermiştir. Bu sonuç, bu hayvanların hipokalsemik olmaları ve kalsiyumdan eksik normal vitamin D diyetleri alan kontrol hayvanlarla eşit serum PTH düzeylerine sahip olmaları gerçeğine karşın elde edilmiştir. Bu veriler, vitamin D metabolitlerinin yüksek plazma konsantrasyonlarının direkt olarak  $1\alpha$ -hidroksilaz aktivitesini azaltmak üzere etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

Kalsitonin (CT), asidoz, cinsiyet steroidleri, prolaktin, büyüme hormonu, glukokortikoidler, tiroit hormonu ve gebelik gibi, potansiyel 1,25(OH)<sub>2</sub>D üretimi regülatörleri olan diğer pek çok faktör bulunmaktadır.

#### 2.2.4. 24 Hidroksilaz

25OHD<sub>3</sub> ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün 24-hidroksilasyonu, bu vitamin D metabolitlerinin inaktive ve degrade edilmesine yönelik metabolik yoldaki birinci aşama ve primer mekanizmadır. Suda ve ark.(1970), vitamin D ile tedavi edilen domuzlardan izole edilen ve 25OHD<sub>3</sub>'den daha polar olan bir vitamin D<sub>3</sub> metabolitini (Va) ilk olarak tanımlamışlardır. Bu metabolitin yalnızca böbrek mitokondrilerinde yapıldığını ve strontium veya kalsiyumdan zengin diyetler verilerek oluşumunun artırılabilceğini ileri sürmüşlerdir (Boyle vd. 1972, Omdahl vd. 1972). Holick ve ark. (1980) daha sonra pik Va'yı 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> olarak saptamıştır.

24-hidroksilazın her yerde görüldüğünü ve vitamin D reseptörü (VDR) içeren her hücre ve dokuda bulunabileceği bilinmektedir. Böbrekte, 24-hidroksilaz renal tübüllerin iç mitokondriyel membranı üzerinde bulunmaktadır. Renal 24-hidroksilaz aktivitesinin başlıca regülatörleri PTH ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'tür. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> enjeksiyon veya infüzyonları alan normal ve TPTX uygulanmış hayvanlar hem renal 24-hidroksilaz mRNA düzeylerinde hem de aktivitesinde belirgin artışlar göstermektedir. PTH uygulanması bu hayvanlarda 24-hidroksilaz mRNA ekspresyonu ve aktivitesini kısmen veya tamamen bloke etmektedir. PTH böbrek üzerinde adenilat siklaz ve cAMP aracılığı ile etki etmektedir ve in vivo cAMP infüzyonlarının renal 24-hidroksilazın 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kaynaklı indüksiyonlarını bloke ettiği gösterilmiştir. Kalsiyumdan eksik diyetler alan hayvanlar, azalmış VDR konsantrasyonlarının yanı sıra baskılanmış veya saptanamayan renal 24-hidroksilaz aktivitesinin eşlik ettiği yükselmiş plazma 1,25(OH)<sub>2</sub>D konsantrasyonları göstermektedir (Shinki vd. 1992, Goff vd. 1990).

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün in vivo olarak renal 24-hidroksilaz reseptörlerini arttıramama nedenleri açık değildir. Iada ve ark. (1995), kalsiyum yetersizliği sırasında renal VDR azalmasının, renal 24-hidroksilazın 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kaynaklı indüksiyonunun önlenmesinden sorumlu olabileceğini ileri sürmüştür. Bununla birlikte, Reinhardt ve Horst (1990) tarafından gerçekleştirilen in vivo araştırmalar, bu koşullar altında PTH'nin muhtemelen, VDR'nin azalmasından çok renal 24-hidroksilaz regülasyonunun daha önemli bir mediatörü olduğunu düşündürmektedir. Yaptıkları deneylerde Reinhardt ve Horst (1990), normal kalsiyum diyetleri alan hayvanların 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tedavisinin gerek renal 24-hidroksilaz gerekse VDR'nin anlamlı artışına yol açtığını göstermiştir. Ancak, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile eşzamanlı olarak PTH infüzyonu uygulandığında, VDR artışı (daha düşük derecede olsa da) hala gözlenmiş, buna karşın 24-hidroksilaz reseptörleri artışı tamamen bloke edilmiştir. PTH'nin 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kaynaklı renal 24-hidroksilaz reseptörleri artışının önlenmesindeki önemi yaşlı sıçanlarda yapılan gözlemlerde de açıkça görülmüştür. İlerleyen yaşla birlikte, renal PTH reseptörleri azalırken (Hanai vd. 1989), VDR değişmeden kalmaktadır. Renal PTH reseptörlerindeki bu azalma böbreği PTH'ye daha az duyarlı hale getirmektedir, bu da 24-hidroksilaz mRNA'daki anlamlı yükselmelerle bağlantılıdır. Bu veriler, VDR'deki bir düşüşün değil, böbreğin PTH'ye duyarlılığının renal 24-hidroksilazın başlıca fizyolojik regülatörü olduğunu düşündürmektedir (Johnson vd. 1995).

Bağırsakta, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> birincil 24-hidroksilaz regülatörüdür. In vivo 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> uygulaması bağırsak 24-hidroksilaz aktivitesini hızla başlatmaktadır (Goff vd. 1992). Bu aktivite enjeksiyondan 6 saat sonrasına kadar pik düzeye çıkmakta ve daha sonra hızla azalarak enjeksiyondan 24 saat sonra kontrol düzeylerine inmektedir. Zaman süreci deneyleri 24-hidroksilazın enjeksiyondan 4 ila 6 saat sonra pik düzeyine ulaştığını ve daha sonra hızla ortadan kalktığını göstermektedir (Matkovits ve Christakos 1995). Bu, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tedavisinden 12 ila 24 saat sonra pik düzeyine ulaşan ve çok daha yavaş olarak azalan renal 24-hidroksilaz mRNA ile zıtlık göstermektedir. Shinki ve ark. (1992), bağırsak 24-hidroksilazın 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> uyarılarına renal 24-hidroksilaza kıyasla 100 kat daha duyarlı olduğunu ileri sürmüştür. Ancak, araştırmacılar 24-hidroksilaz mRNA'yı bir 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dozundan yalnızca 3 saat sonra incelemişlerdir. Renal 24-hidroksilaz pik ekspresyona ulaşmak

için ayrıca 6 ila 12 saate gereksinim duyduğundan, araştırmacılar muhtemelen böbreğin bir  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  dozuna gerçek duyarlılığını olduğundan düşük değerlendirmişlerdir. Böbrekteki etkilerine karşın, TPTX, PTH uygulaması veya cAMP infüzyonu,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  tarafından başlatılan intestinal 24-hidroksilaz ekspresyonunu etkilememektedirler. Düşük kalsiyumlu diyetlerle beslenen, bağıntılı sekonder hiperparatiroidizm ve yüksek plazma  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  konsantrasyonları olan hayvanlar hem intestinal 24-hidroksilaz mRNA hem de aktivitesinde belirgin artışlar göstermektedir (Shinki vd. 1992). İntestinal ve renal 24-hidroksilaz ekspresyonu arasındaki bir diğer zıtlık yaşlanan sıçan modelinde görülmektedir. İntestinal 24-hidroksilaz mRNA ve aktivitesi yaşlı hayvanda çok az azalmakta veya değişmektedir. Bu, yaşlı hayvanda gözlenen büyük ölçüde artmış renal 24-hidroksilaz ekspresyonu ile zıtlık göstermektedir (Johnson vd. 1995).

Kalsitoninin (CT) güçlü bir intestinal 24-hidroksilaz ekspresyonu baskılayıcısı olduğu gösterilmiştir (Beckman vd. 1994). Bu deneylerde, Beckman ve ark.(1994), vitamin D toksisitesinin hem bağırsakta hem de böbrekte 24-hidroksilaz mRNA ve enzim ekspresyonunun güçlü bir indükleyicisi olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar ayrıca, hipervitaminoz  $\text{D}_3$  kaynaklı hiperkalseminin düşük kalsiyumlu diyetler verilerek önlenmesi halinde, intestinal 24-hidroksilaz ekspresyonunun aynı toksik vitamin D dozlarını alan ancak normal kalsiyumlu bir diyet tüketen hiperkalsemik hayvanlara kıyasla 4 kat arttığını da göstermişlerdir. Bu gözlemler, hiperkalsemiye yanıt olarak salıverilen CT'nin indüklenmiş intestinal 24-hidroksilaz ekspresyonunu baskılamış olabileceği olasılığının incelenmesine yol açmıştır. Beckman ve ark. (1994), CT'nin güçlü bir intestinal 24-hidroksilaz aktivitesi baskılayıcısı olduğunu açıkça göstermiştir. Akla yatkın olarak, 24-hidroksilaz aktivitesinin CT kaynaklı baskılanması, yarılanma ömrünü uzatarak  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  kaynaklı aktiviteleri arttırabilir. Bu, aktif vitamin D metabolitlerinin katabolizması ve 24-hidroksilasyonunu önleyerek, hipervitaminoz D gibi, hiperkalsemi manifestasyonları gösteren bozuklukları alevlendirebilir.

24-hidroksilaz saflaştırılmış ve klonlanmış ve klon eksprese edilmiştir (Chen ve DeLuca 1995). Sıçan ve insan 24-hidroksilazları amino asit sekansının analizi, bu sekansların % 90 oranında benzer olduğunu göstermiştir. 21-amino asit heme bağlanma

bölgesinin % 100 aynı olduğu saptanmıştır. Ohyama ve ark. (1993) sıçan 24-hidroksilazı kodlayan geni izole etmiştir. Bu tek kopya gen yaklaşık 15 kb olup, 12 eksondan oluşmuştur. Bir dizi putatif vitamin D yanıt elemanı saptanmıştır ve halen araştırılmaktadır.

### 2.2.5. 24-Hidroksilazın Fizyolojik Rolü

En önemli 24-hidroksilasyon odağının böbrek olduğu düşünülmektedir. Bu, nefrektominin plazma 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ü azalttığı ya da ortadan kaldırdığı gözlemine dayanmaktadır (Horst vd 1981). Ancak, nefrektomi aynı zamanda, primer 24-hidroksilaz stimülatörü olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretimini de ortadan kaldırmaktadır. Dolayısıyla, terapötik 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dozlarıyla tedavi edilen nefrektomi uygulanmış bireylerin plazmasında 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün tekrar görünme olasılığı devam etmektedir. İlk araştırmalar aynı zamanda, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün 24-hidroksilaz için primer substrat olduğunu düşündürmüştür. Ancak, daha sonraki araştırmalar, bu enzimin tüm vücutta bulunduğunu ve K<sub>m</sub>'sinin, etkisi için bir substrat olarak 25OHD<sub>3</sub>'e kıyasla 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> lehine olduğunu bildirmiştir (Shinki vd. 1992).

Napoli ve Horst (1983), diğer metabolik aşamalarla birlikte 24-hidroksilazın, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün selüler etkisinin sonlandırılması için gösterilen en olası mekanizmalar olduğunu ileri sürmüştür. Bir incelemede, Haussler (1986) 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün selüler etkisi için bir model önermiştir; Haussler burada, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün reseptör kaynaklı, kendiliğinden başlayan katabolizmasının 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün etkisini düzenlediğini ileri sürmüştür. Lohnes ve Jones (1987) ile Reddy ve Tserng'in (1989) çalışması, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> hedef dokularında 24-hidroksilaz tarafından başlatılan katabolik yolların her yerde bulunduğunu ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'in bu yollar tarafından tamamen tahrip edildiğini göstererek bu öneriye daha ileri destek sağlamıştır. Nitekim, 24-hidroksilazın yalnızca bu katabolik kaskadı başlatmaktan daha fazlasını yaptığı gösterilmiştir. Akiyoshi-Shibata ve ark.(1994), *Escherichia coli*'de sıçan 24-hidroksilaz cDNA'sını eksprese etmiştir. Araştırmacılar, bu enzimin 24-OH grubunun yalnızca 24-hidroksilasyonunu yapmayıp, aynı zamanda dehidrojenasyonunu da katalize ettiğini ve 24-oxo-1,23,25-trihidroksivitamin D<sub>3</sub> [24-oxo-1,23,25(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub>] ile sonuçlanan 23-



hidroksilasyonunu yaptığını saptamıştır. Yalnızca 24,25,26,27-tetranor-1OH,23COOHD<sub>3</sub>'e yol açan C-23/C-24'deki bölünme kanıtlanmamıştır. Benzer deneylerde, Beckman ve ark.(1995) *Spodoptera frugiperda* böcek hücrelerinde insan C-24 hidroksilazı eksprese etmiştir. Araştırmacılar, 24-hidroksilazın Akiyoshi-Shibata ve ark. (1994) tarafından bildirilen metabolik aşamaların tümünü katalize ettiğini saptamıştır. Ancak, Beckman ve ark. (1996), 24,25,26,27-tetranor-1OH,23COOHD<sub>3</sub> üretimini kanıtlamış ve dolayısıyla, 24-hidroksilazın C-23/C-24'de gerçekten bölünme meydana getirdiğine ilişkin ilk bulguları sağlamıştır. Araştırmacılar 24,25,26,27-tetranor-1OH,23COOHD<sub>3</sub> varlığını kanıtlayamamışlardır.

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün kendiliğinden başlayan metabolizmasının (24-hidroksilaz) 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün hedef hücreler üzerindeki etkisini baskıladığına ilişkin direkt bulgular Pols ve ark. (1998) ile Reinhardt ve Horst (1998) tarafından bildirilmiştir. Her iki laboratuvar da, ketokonazolun 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> kaynaklı metabolizmayı inhibe ettiğini göstermiştir. Bu inhibisyon 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'in hedef hücrelerdeki spesifik birikiminde artışa ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tarafından işgal edilen VDR'nin selüler yarılanma ömründe anlamlı bir artışa yol açmıştır (Reinhardt ve Horst 1989). Kendiliğinden başlayan 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> metabolizmasının bloke edilmesinin bir sonucu, VDR'nin artışı olmuştur. Reinhardt ve Horst (1989), hedef hücrelerde kendiliğinden başlayan 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> metabolizmasının, VDR'nin 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tarafından işgalini azaltarak ve VDR artışını önleme yoluyla hedef hücrelerin bir primer 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> uyarısına yanıtını sınırladığını kanıtlayarak bu araştırmaların kapsamını genişletmiştir. Buna ek olarak, araştırmacıların verileri, kapsamlı 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> metabolizmasından dolayı hücrelerin içine 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> girişinin kısıtlandığını da göstermiştir. Tam hücre VDR tahlillerinde, hormon, VDR bağlanmasını önleyecek kadar hızla degradasyona uğramaktadır. Reinhardt ve ark.(1988), ketokonazolun sıçan bağırsak ve kemiğinde VDR'nin 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> artışını kuvvetlendirdiğini göstererek, kendiliğinden başlayan 24-hidroksilaz induksiyonunun in vivo 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün selüler etkisi üzerindeki inhibe edici etkilerini doğrulamıştır. 24-hidroksilaz katabolik yolun başlıca rollerinden biri 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> etkilerini sonlandırmaktır. 24-hidroksilazın biyolojik olarak aktif bir bileşiğin [24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] üretiminden sorumlu bir enzim olarak rolü hala tartışmalıdır.

### 2.2.6. Vitamin D ve 25OHD<sub>3</sub> arasındaki emilim farklılıkları

Son yıllarda, kanatlı yemleri için vitamin D beslenmesindeki en önemli gelişme, 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>'ün (25OHD<sub>3</sub>) ticari hale gelmiş olmasıdır. ABD'de, bu ürün genel olarak broilerler, hindiler ve yumurtacı tavuklar için güvenli (GRAS) olarak kabul edilmiştir. Günümüzde, 25OHD<sub>3</sub> ticari kanatlı programlarında rutin olarak kullanılmaktadır.

Kan konsantrasyonuna ve kalsiyum absorpsiyonu üzerindeki etkilerine dayanarak vitamin D aktivitesinin % 70-90 gibi büyük bir bölümünün 25OHD<sub>3</sub>'e bağlı olduğu saptanmıştır (Ovesen vd. 2003, Barger-Lux vd. 1992). Bu hidroksile olmuş vitamin D<sub>3</sub> formu, broilerler ve hindiler için fitat fosfor retansiyonunu arttırabilmektedir (Angel vd. 2001, Applegate vd. 2003) ve spesifik doku gereksinimleri olabilir (Vieth 1999).

1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>'ün (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) daha yüksek olan molar potansi, metabolik önem ve nitelik açısından 25OHD<sub>3</sub>'e kıyasla üstün bulunmuştur. Yine de genel olarak 25OHD<sub>3</sub> ve kalsiyum absorpsiyonu arasında pozitif bir korelasyon bulunmaktadır (Heaney vd 1997, Reasner vd. 1990, Bell vd. 1998, Francis vd. 1983). Örneğin Wisconsin Üniversitesi araştırmacıları tarafından 25OHD<sub>3</sub> kan düzeyleri ve kalsiyum absorpsiyonu için anlamlı bir (P < 0.05) çift değişkenli korelasyon olduğu, buna karşılık 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile kalsiyum absorpsiyonu arasında neredeyse korelasyon bulunmadığı (P > 0.05) saptanmıştır (Barge-Lux vd. 1995).

Plazmada, 25OHD<sub>3</sub> için taşıyıcı proteinler mevcuttur. Edelstein ve ark. (1973), kanatlılarda iki vitamin D taşıyıcı protein olduğunu saptamışlardır; bunlardan biri temel olarak 25OHD<sub>3</sub>'e ve diğeri de vitamin D<sub>3</sub>'e bağlanmaktadır. 25OHD<sub>3</sub> için tercih gösteren bağlayıcı proteinler çeşitli kanatlı dokularında da bulunmaktadır (Haddad 1980). Kanatlı serumundaki bağlayıcı proteinlerin vitamin D<sub>3</sub> ve D<sub>2</sub> için rölatif afinitesi, vitamin D<sub>3</sub>'ün kanatlılardaki etkinliğinin daha yüksek olduğunu yansıtmaktadır. İnsanlarda, vitamin D taşıyıcı proteini belirli bazı D metabolitlerine bağlanmakta, ancak 25OHD<sub>3</sub>'ü tercih etmektedir (Combs 1998).

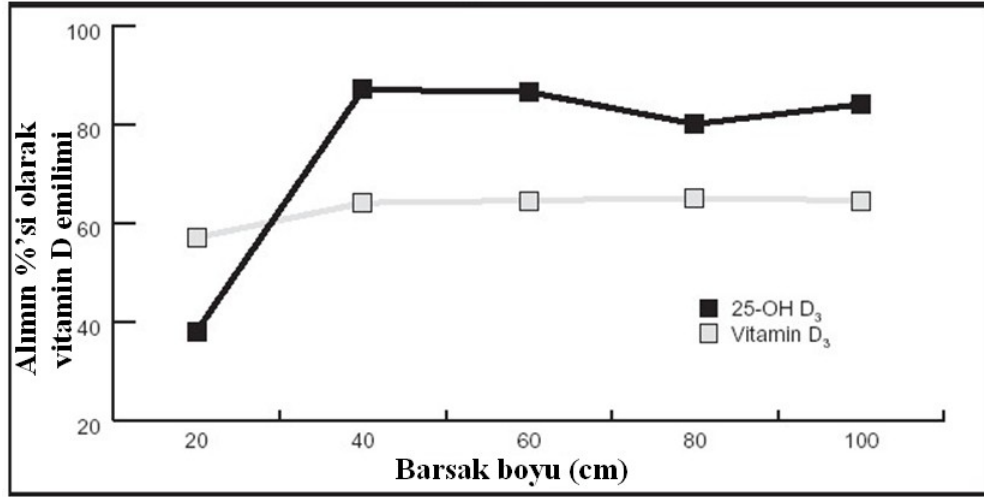
Diğer vitamin D metabolitleri ile ilgili olarak, 25OHD<sub>3</sub> afinitesi olan taşıyıcı proteinler barsak hücrelerinde de bulunmaktadır (Teergarden vd 1997, 2000). 25OHD<sub>3</sub> için bu ağırlıklı bağlanma, intestinal 25OHD<sub>3</sub> alınımının vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla üstün olduğunun saptandığı pek çok araştırma ile uyumludur.

Temelde, 25OHD<sub>3</sub> için absorpsiyon mekanizması safra asidi olmamasından ya da yağ malabsorpsiyonundan neredeyse etkilenmemektedir ve bu, küçük civcivler ve yarkaların vitamin D beslenmesinde önemli etkiler göstermektedir.

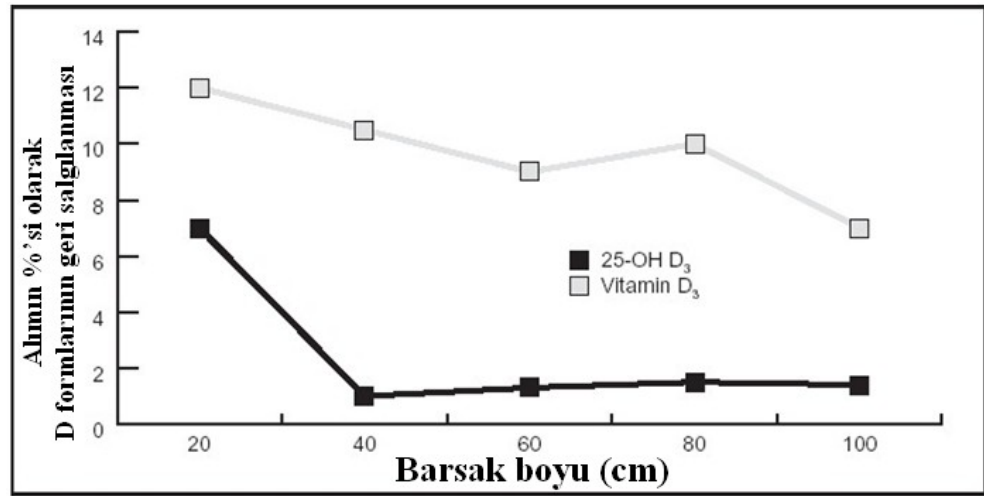
#### **2.2.6.1. Broiler civcivlerdeki emilim**

25OHD<sub>3</sub> ile vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonunu karşılaştırmak üzere broiler civcivlerle yapılan bir araştırmada, 25OHD<sub>3</sub>'ün etkililiğinin (% 83) vitamin D<sub>3</sub>'e (% 66) kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Benzer biçimde insanlarda yapılan araştırmalarda da bildirildiği gibi, bu absorpsiyon temel olarak üst jejunumda gerçekleşmektedir (Bar vd. 1980). Kümülatif 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonu yaklaşık % 90'da maksimuma ulaşmaktadır; karşıt olarak bu oran vitamin D<sub>3</sub> için yaklaşık % 65'dir (Şekil 2.3.).

İki vitamin D formunun salgılanmasında da anlamlı farklılıklar olduğu belirtilmiştir: vitamin D<sub>3</sub>'ün % 20'si ve 25OHD<sub>3</sub>'ün % 7'si gastrointestinal lümene geri salgılanmıştır (Şekil 2.4.). Dolayısıyla daha yüksek absorpsiyon hızının yanı sıra, 25OHD<sub>3</sub> vücutta kalış süresi ile de üstün bulunmuştur.



Şekil 2.3. Cıvcivlerdeki kümülatif intestinal vitamin D<sub>3</sub> ve 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonu



Şekil 2.4. Cıvcivlerdeki kümülatif intestinal vitamin D<sub>3</sub> ve 25OHD<sub>3</sub> salgılanması

25OHD<sub>3</sub>'ün alınımının daha hızlı olması, en azından kısmen barsaktaki bağlayıcı proteinlerden kaynaklanıyor olabilir. Teegarden ve arkadaşlarına göre (1997, 2000), bu protein 25OHD<sub>3</sub> için diğer D<sub>3</sub> metabolitlerine kıyasla en az 1.000 kat daha yüksek bir afiniteye sahiptir. Bunların varlığının, pek çok hayvan türünde bildirilmiş

olan daha yüksek 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonunda bir faktör olduğunun düşünülmesi mantıklıdır.

#### **2.2.6.2. Misele bağlı absorpsiyon**

Vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonu, göreceli olarak yaklaşık % 50 daha düşük bir verimle doyurulabilir olmayan pasif difüzyon yoluyla gerçekleşmektedir (Combs 1992). İntestinal vitamin D<sub>3</sub> alınımı safra asidine bağlı misel oluşumu yoluyla gerçekleşen yağ absorpsiyonuna paralellik göstermektedir (Combs 1992, McDowell 2000, Leeson ve Summers 1998). Dolayısıyla, vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonu için barsak lümeninde lipaz ve safra asitlerinin varlığı zorunludur.

Pankreatik lipaz, katı ve sıvı yağlardan yağ asitlerini hidrolize eder ve bu da serbest yağ asitleri ve karma gliseridlerle sonuçlanır. Lipid absorpsiyonu için safra asitlerinin barsak lümenine salgılanması gereklidir. Bu tuzlar, absorpsiyon için hazırlanırken emülsifikasyon ve yağ globülleri oluşturmak üzere deterjan olarak işlev görmektedir (Leeson ve Summers 2001). Hollander (1981), çoklu doymamış yağ asitlerinin yağda çözünebilen vitaminlerin absorpsiyonunu azaltabileceğini bildirmiş ve bunun nasıl gerçekleştiğine ilişkin bazı teoriler sunmuştur. Bu ilginçtir, çünkü doymamış yağ asitleri daha yüksek bir metabolize edilebilir enerjiye (ME) sahiptir ve yemde domuz yağı ya da don yağında bulunan doymuş yağ asitlerine kıyasla daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

En fazla göze çarpan, safra tuzlarının suda çözünebilen karma misellerin oluşumunu kolaylaştırmasıdır. Bu miseller, yağ asitleri ve monogliseridlerin yanı sıra, yağda çözünebilen vitaminler gibi yağda çözünebilen diğer bileşenlerin bir kombinasyonudur. Yağda çözünebilen maddeler miselin merkezinde toplanmakta ve safra tuzlarıyla çevrelenmektedir. Miseller absorpsiyon için intestinal villusların emilim yüzeyine yağ asitleri, yağda çözünebilen vitaminler gibi maddeleri sunmaktadır. Suda yeterli ölçüde çözünebilen sindirim bileşikleri misel oluşumundan bağımsız olarak absorbe edilmektedir.

Demir eksikliğine bağlı anemi bulunan bebeklerle yapılan bir araştırmada (Heidenberg vd. 1992), diyetle alınan vitamin D<sub>3</sub> miktarı yeterli olmasına karşın kandaki 25OHD<sub>3</sub> düzeylerinin normalin altında olduğu saptanmıştır. Demir uygulanması, 25OHD<sub>3</sub>'ün normal olarak kabul edilen düzeylere ulaşmasını sağlamıştır. Demir eksikliği, yağ ve vitamin A malabsorpsiyonuna neden olabilmektedir. Dolayısıyla, bu araştırmacılar demir eksikliğinin (daha belirgin olarak yağ malabsorpsiyonu) aynı zamanda yetersiz vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonuna da yol açtığını tahmin etmişlerdir.

### **2.2.6.3. Karřılařtırılmalđ absorpsiyon araştırmaları**

Oldukça uzun bir süredir, 25OHD<sub>3</sub>'ün vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla daha hızlı absorbe edildiği (Nechema vd. 1977, Bar vd. 1980, Maislo vd. 1981, Sitrin vd. 1982, McDonald vd 1985, Sitrin vd 1987, Heubi vd. 1990) ve bunun temel olarak proksimal ince barsakta gerçekleştiği bilinmektedir. Sağlıklı bireyler (Sitrin vd. 1982), yağ malabsorpsiyonu bulunan hastalar (Davies vd. 1980, Sitrin vd. 1987, Krawitt ve Chastenay 1980) ya da kemik hastalığı olan bireylerle (Stamp vd. 1977) yapılan klinik araştırmalarda, (25OHD<sub>3</sub>) kan akımına vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla daha kolay girmiştir.

Bu araştırmalarda, 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonunun neredeyse yağ sindiriminden bağımsız olarak gerçekleştiği saptanmıştır. Bazı araştırmalar safra asidi üretimi ya da salgılanması konjenital olarak baskılanmış olan hastaları kapsamış ya da safranın barsak lümenine salgısının engellendiği hayvanlar üzerinde yapılmıştır.

Absorbe edildiğinde, 25OHD<sub>3</sub>'ün yalnızca küçük bir bölümü (% 10-15) şilomikronlarla taşınır (Pollack vd. 1981, Sitrin 1987) ve bu da, daha hızlı bir biçimde gerçekleşen absorpsiyonun, özellikle konjenital yağ malabsorpsiyonu var olduğunda taşıyıcı proteinlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. İnsanlarda 25OHD<sub>3</sub> için bol miktarda bağlayıcı protein bulunmaktadır ve 25OHD<sub>3</sub> konsantrasyonundan beş ya da altı kat daha fazladır (Combs 1998).

Vitamin D<sub>3</sub>'ün 25-hidroksilasyonunun, portal dolaşımdaki varlığını vitamin D<sub>3</sub>'ün üç katı oranında arttırdığı gösterilmiştir (Hollander vd. 1978). Dolayısıyla, metabolik aktivasyonu için elzem olan bu hidroksilasyona ek olarak, vitamin D<sub>3</sub> molekülündeki bu modifikasyon intestinal sistemden absorpsiyonunu da arttırmaktadır.

25OHD<sub>3</sub> molekülünün polaritesindeki bu artış (ve suda çözünübilirliğindeki artış), muhtemelen absorpsiyon için misel oluşumuna bağımlılığını minimuma indirmektedir. Düşük miktarda 25OHD<sub>3</sub>'ün miseller yoluyla absorbe edilebilmesi mümkün olsa da, 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonunun büyük bir kısmının ayrı bir mekanizma ile gerçekleştiğini gösteren çok sayıda kanıt mevcuttur.

#### **2.2.6.4. Safra tuzları, 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonu**

Braun (1986), üçlü lümen tüp sistemi kullanarak, genç domuzlarda barsakta safra bulunmamasının vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonunu durdurduğunu ve bunun ardından yetersiz kalsiyum absorpsiyonuna yol açtığını bildirmiştir. Braun 25OHD<sub>3</sub> için test gerçekleştirmemiştir.

Bağlanmış safra kanalları (barsak lümenine safra salgılanmasını önlemek üzere) yapılan araştırmalarda, vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonu esas olarak durmuş, buna karşılık 25OHD<sub>3</sub> alınımı üzerinde çok az etkisi olduğu ya da hiç etki göstermediği saptanmıştır (Nechama vd. 1977, Maislos vd. 1981). Bunlar, misel oluşumunun barsaktan 25OHD<sub>3</sub> alınımı için önemli bir faktör olmadığını gösteren ilk araştırmalardan bazıları olmuştur.

Bunun yanı sıra, 25OHD<sub>3</sub> yağ absorpsiyonundan bağımsız olarak doğrudan sıçanların portal kanına absorbe edilmiştir (Maislos vd. 1981). Portal kana doğrudan absorpsiyon misel oluşumu ve bu nedenle safra asitlerinin varlığını gerektirmediğinden, bu önemli bir ayırt edici özelliktir. İntestinal 25OHD<sub>3</sub> alınımı bozulmaya ilişkin çok az bulgu göstererek ya da hiçbir bulgu olmaksızın ve dozun uygulanmasından sonraki 30 dakika içinde gerçekleşmiştir; öte yandan vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonu dozun uygulanmasından yaklaşık iki saat sonra başlamıştır. Bu araştırmacılar aynı zamanda

25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonunun bir kısmının mezenterik lenfte gerçekleştiğini de saptamışlardır. Kanatlıların ise lenfatik sistemi yoktur.

Bir başka araştırmada, bir safra asidinin (taurokolat) varlığı düşük ve yüksek yağ karışımları ile test edilmiştir (Sitrin vd. 1992). 25OHD<sub>3</sub>, test solüsyonuyla bağlantılı olmaksızın, vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla daha hızlı absorbe edilmiştir. Bununla birlikte, luminal yağ içeriği oleik asit ve monoolein ile beş kat artmış olduğunda, her iki vitamin D metabolitinin absorpsiyonu taurokolat (taurokolik asit tuzu/esteri) yardımıyla gerçekleşmiştir. Yine de, 25OHD<sub>3</sub>'ün önemli bir bölümü yüksek luminal yağ mevcut olduğunda absorbe edilmiş, buna karşılık taurokolat mevcut olmadığında lumenden düşük miktarda vitamin D<sub>3</sub> taşınmıştır.

Hollander ve ark. (1978, 1979), aynı zamanda luminal perfüze yağı asitleri eklenmesinin vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Yağ asitlerinin barsaktan 25OHD<sub>3</sub> alınımını çok az etkilediği ya da hiç etkilemediği saptanmıştır; bu da, 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonu ile lipid arasındaki ilişkinin minimal olduğunu ya da bunlar arasında bir ilişki bulunmadığını göstermektedir.

Buna ek olarak, ciddi kolestazi (karaciğerden safra akımının azalması ya da durması) olan insanlardaki intestinal 25OHD<sub>3</sub> alınımının vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla daha fazla olduğu saptanmış ve bu da bu araştırmacıların 25OHD<sub>3</sub> emilimi için safra tuzlarının gerekli olup olmadığını sorgulamalarına neden olmuştur (Sitrin ve Bengoa 1987). Sağlıklı erişkin erkeklerde, 25OHD<sub>3</sub> absorpsiyonunun safra asitlerinin varlığıyla ilişkili olmadığı düşünülmektedir (Compston vd. 1981).

#### **2.2.6.5. Yağ absorpsiyonu**

Pankreasın gelişimini tamamlamamış olması ve bunu takiben lipazın sınırlı miktarda salgılanmasının (ve safra kesesinden safra asidi salgılanması), yaşamın ilk iki-üç haftasında daha yüksek raşitizm ve/veya iskelet deformitesi insidansına katkıda bulunan bir faktör olması akla yakın görülmektedir. Bunun nedeni, lipid ve yağda çözünen vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonunun birbiriyle yakından ilişkili olmasıdır. Kemik

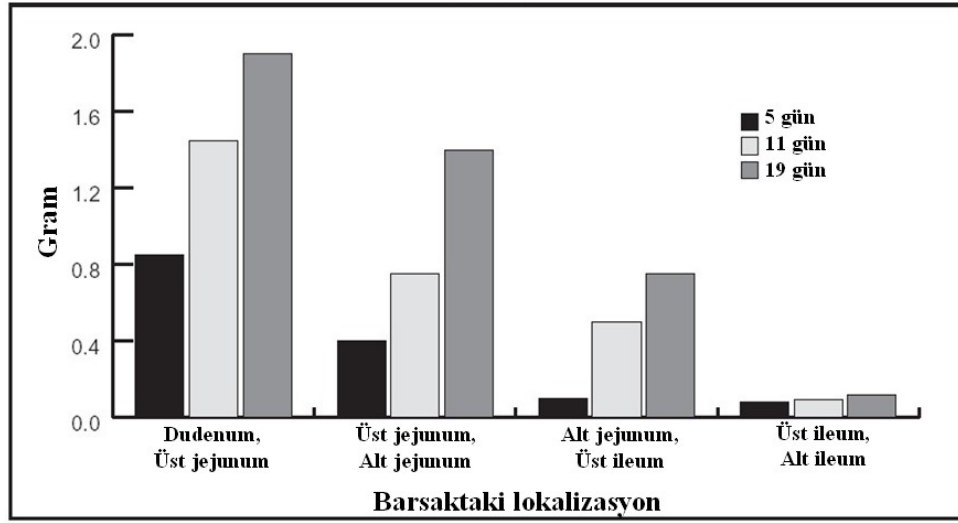


oluşumunun hız kazanması sırasında yağda çözünen vitamin D<sub>3</sub> alınımının bu duruma yol açabilecek olması mantıklı görünmektedir.

Kuluçkadan çıktıktan sonra civcivlerin sindirim sisteminin gelişimine ilişkin bir inceleme yapan Iowa State Üniversitesi araştırmacıları (Jin vd. 1998), kuluçkadan çıktıktan sonraki 10 gün ya da daha uzun bir süre boyunca alınan yemle ilişkili olarak lipaz salgılanmasında bir yavaşlama olduğu sonucuna varmışlardır. Civcivlerde mısır yağının sindirimi (Carew vd. 1972) ya da yarkalarda hayvansal-bitkisel yağ karışımının sindirimi (Sell vd. 1986) ilk 15 gün boyunca ilerleyici bir biçimde artmakta ve bu da, pankreasın tam olarak gelişmesi ve/veya lipaz ya da safra salgılanması için yaklaşık 14 gün gerekli olduğunu göstermektedir.

Sklan ve Noy (2003) kısa bir süre önce sindirim üzerindeki bu yaşa bağlı etkiyi tekrar belirterek, 5 günlük ve 19 günlük yarkalarda intestinal sistem yoluyla yağ absorpsiyonu açısından belirgin bir farklılık olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 2.5.). Bunun yanı sıra, 19 günlük kanatlılarda dahi, barsak yolunun alt kısmında hemen hemen hiç yağ absorpsiyonu saptanmamıştır. Burada, içeriğin barsağın distal bölümünde kalış süresinin uzun olmasına bağlı olarak önemli ölçüde vitamin D<sub>3</sub> absorpsiyonu ortaya çıkabilmektedir (Combs GF 1992).

Kuşkusuz, yeterli safra asidi salgılanması genç civcivler ve yarkalarda yetersiz yağ sindirimine katkıda bulunabilmektedir. Safra oluşumu karaciğerin işlevsel olmasına bağlıdır. Bir dizi araştırmada, yaşamın yaklaşık ilk 14 günü boyunca diyetle eklenen safra asitlerinin civcivler ve piliçlerdeki yağ sindirilebilirliği üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (Jin A vd. 1998). Bu tür veriler, genç kanatlılarda safra asidi algılama fonksiyonunun olmadığını ve bunun da daha düşük lipid ve vitamin D<sub>3</sub> alınımı ile sonuçlanabileceğini göstermektedir.



Şekil 2.5. Kuluçkadan çıktıktan sonraki yaşlarına göre, palazların farklı barsak segmentlerindeki net yağ absorpsiyonu

#### 2.2.6.6. Yaşamın erken dönemindeki iskelet değişiklikleri

Ohio State Üniversitesi Ohio Tarımsal Araştırma ve Geliştirme Merkezi'ndeki (Ohio Agricultural Research & Development Center - OARDC) araştırmacılar, 21. güne kadar femur epifiz ve diafiz küllerinin 42. güne kıyasla esansiyel olarak tam olduğunu belirlemişlerdir. Şekillenme süreç boyunca devam etmekle birlikte, tibia ve femurun uzunluk ve genişliği (21 günlük kanatlılarda), 42. gündeki değerlerinin % 60'ı olarak saptanmıştır (Applegate ve Lilburn 2002).

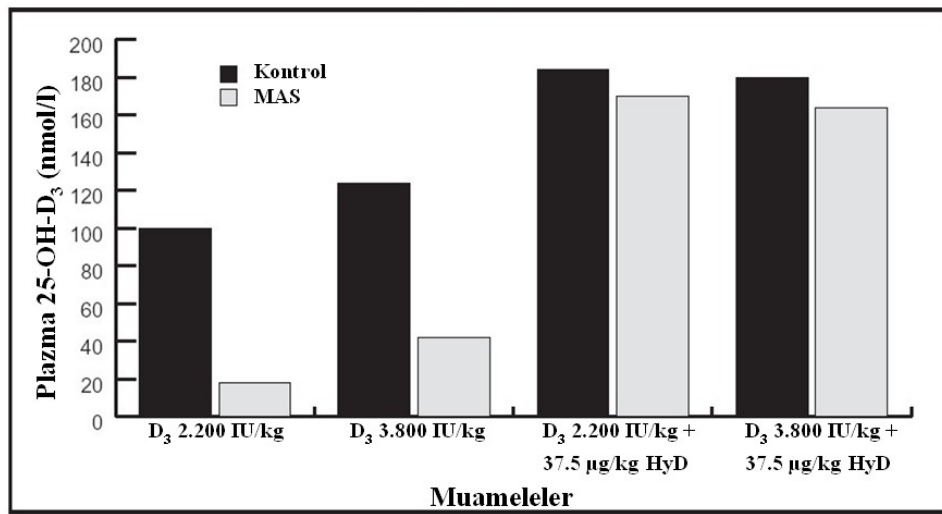
Benzer biçimde, Minnesota Üniversitesi araştırmacıları, saha koşulları altında bacak bozukluklarının en fazla 12-21 günlük hindi palazlarında ortaya çıktığını saptamışlardır (Bar vd. 1982), bununla birlikte bacak bozukluklarından biri olan tibia diskondroplazisi 9-12 haftalık hindi palazlarında pik düzeye ulaşmaktadır (Poulos 1978). Dolayısıyla, optimum kemik ve iskelet gelişimini garanti altına almak üzere kalsiyum, fosfor ve vitamin D gibi besin maddelerinin yeterli miktarda sağlanmasına yönelik ihtiyaç özellikle yaşamın ilk haftalarında yoğunudur.

### 2.2.6.7. Malabsorpsiyon

Enterit ya da malabsorpsiyon besin maddelerinin barsak mukozası boyunca taşınmasını azaltmaktadır. Bir araştırmada vitamin D<sub>3</sub> ve 25OHD<sub>3</sub>, aynı kümede bulunan “saçıcı/bulaştırıcı” kanatlılar yoluyla malabsorpsiyon sendromu (MAS) oluşturulmuş olan sekiz günlük broilerlerdeki absorpsiyon açısından değerlendirilmiştir (Gill 2002). Tedavi, yalnızca vitamin D<sub>3</sub> (2.200 ve 3.700 IU/kg) ya da aynı düzeyde vitamin D<sub>3</sub> artı 25OHD<sub>3</sub> (37.5 µg/kg) içeren yemlerden oluşmaktadır.

MAS oluşturulan kanatlılarda, yeme 25OHD<sub>3</sub> eklendiğinde, 25OHD<sub>3</sub> plazma düzeylerinin daha yüksek (P < 0.05) olduğu saptanmıştır (Şekil 2.6.). Kontrol ve MAS yemlerine 25OHD<sub>3</sub> eklenmesiyle mortalite azalmıştır (p<0.05). Dolayısıyla, malabsorpsiyonun ortaya çıkabildiği olgularda, absorpsiyonunun daha etkin olması nedeniyle 25OHD<sub>3</sub> vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla daha üstün olabilmektedir.

Kronik enterit, saha koşulları altında sık görülen bir durumdur ve bu patoloji sıklıkla 15-24 günlük yaş döneminde gözlenmektedir (Powell 2003). Semptomların bu zaman aralığında kendini göstermesi için etmen muhtemelen kanatlılar 7 ila 10 günlükken ortaya çıkmaktadır.



Şekil 2.6. MAS bulunan broiler civcivlerdeki (sekiz günlük) plazma 25-OH D<sub>3</sub>

Aynı zamanda hayvan sağlığını düzelten ve nekrotik enteritin nlenmesine yardımcı olan büyütme faktörleri söz konusu olduğunda, bu ürünlerin yemden çıkarılması durumunda 25OHD<sub>3</sub>, vitamin D<sub>3</sub>'e kıyasla avantaj sağlayabilir. Buna ek olarak, kanatlıların koksidiyozisten korunması ilaç içermeyen programlarda önemli bir amaç haline gelecek ve 25OHD<sub>3</sub>, kanatlılarını koksidia aşılaması ile koruyan Őirketler için değerli bir beslenme aracı olacaktır. Bununla birlikte, etkili olması için bu aşılar, tam olarak kanatlılarda optimal yağ sindirimin ve absorpsiyon mekanizmalarının olmadığı bir dönemde hafif bir enteropati oluşturmaktadır.

### **2.2.7. Broiler diyetlerinde vitamin D kaynakları olarak kolekalsiferol ve 25-hidroksikalsiferolun karşılaştırılması**

Uygun kalsiyum emilimi için D vitaminine gereksinim olduğu uzun süredir bilinmektedir (McChesney ve Giacomino 1945, Waldroup vd. 1963, Norman 1987). NRC (1994), broiler diyetlerinin en az 200 ICU/kg vitamin D<sub>3</sub> ile takviye edilmesini önermektedir. Bununla birlikte, ticari broiler diyetleri tipik olarak bu vitaminle NRC nerilerinin 10 ila 15 kat üzerindeki düzeylerde takviye edilmektedir (Anonim 2000). NRC önerilerini aÇan vitamin D takviyesinin, ağır, hızlı büyüyen broilerlerin yetiŐtirildiđi ticari ortamlarda gözlenen saha raşitizmi ve tibial diskondroplazi (TD) insidansını azalttığı gösterilmiştir (McNutt ve Haussler 1973, Lofton ve Soares 1986, Edwards 1989, 1990).

Vitamin D kanatlılara, diyetin kristalin kolekalsiferol formlarıyla desteklenmesi ve ltraviyole iŐın yoluyla deride 7-dehidrokolesteroln kolekalsiferole (vitamin D<sub>3</sub>) dönüŐmesiyle sağlanmaktadır. Karaciğerde 25-hidroksikolekalsiferole (25OHD<sub>3</sub>) dönüŐmek için ve böbrekte, nihai ve aktif metabolit olarak kabul edilen 1,25-dihidroksikolekalsiferole dönüŐmek için bu metabolitin ek deđiŐikliklere uğraması gerekmektedir (Collins ve Norman 1991). Kapalı kümeste yetiŐtirilen kanatlıların büyüme için gereken vitamin D miktarını alabilmesi için, diyetlerin bu vitaminle desteklenmesi gerekmektedir.

1995 yılında, 25-hidroksikolekalsiferole (25OHD<sub>3</sub>) kanatlı diyetlerinde bir vitamin D kaynağı olarak kullanım için “genellikle güvenli kabul edilir (GRAS)” statüsü verilmiştir (Ward 1995). Bu metabolitin, özellikle kanatlılar stresli koşullar altında yetiştirildiğinde, metabolik açıdan kolekalsiferole kıyasla daha aktif olduğu gösterilmiştir. Benzer vitamin D<sub>3</sub> düzeyleriyle karşılaştırıldığında, bu izomerin vücut ağırlık kazancını, yem etkinliğini, kemik külü ve göğüs eti verimini arttırdığı ve TD ve raşitizm insidansını azalttığı gösterilmiştir (McNutt ve Haussler 1973, Sunde 1975, McNaughton vd. 1977, Cantor ve Bacon 1978, Soares vd. 1978, Yarger vd. 1995a, Mitchell ve Edwards 1997).

Bir vitamin D kaynağı olarak 25OH kolekalsiferol ile beslenen civcivlerin kolekalsiferolden elde edilen benzer vitamin D düzeyleriyle beslenen civcivlere kıyasla daha düşük bir tibial diskondroplazi insidansı ve şiddetiyle birlikte daha fazla kemik külü olduğunu kanıtlamıştır. Bu araştırmalarda, kalsiyum ve fosfor NRC (1994) tarafından önerilen düzeylerde kullanılmıştır. Fosfor atılımını azaltmanın bir yöntemi olarak, başlatma diyetlerinde yeterli iskelet büyümesine olanak vermek için bir modifiye erken besleme programını ve ardından büyütme ve bitirme diyetlerinde fosfor düzeylerinin belirgin ölçüde azaltılmasını da önerilmiştir.

Bunları değerlendirmek için iki çalışma yapılmıştır. İlk çalışma broiler diyetlerinde vitamin D kaynağı ve düzeyinin canlı performans ve kemik gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. İkinci çalışmada ise fosfor düzeyleri azaltılmış fitaz destekli diyetlerle birlikte verilen iki vitamin D kaynağı karşılaştırılmıştır.

Çalışma 1, erkek broilerlere NRC önerilerinin altındaki düzeyler ile ticari formülasyonlarda yaygın olarak kullanılan düzeyler arasına değişen düzeylerde verilen Vitamin D<sub>3</sub> ve HyD'nin performans ve kemik gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Ticari ortamlarda görülen stresleri göstermek üzere, 25OHD<sub>3</sub>'ü kullanan çoğu araştırma çalışması seri kafes çalışmalarını

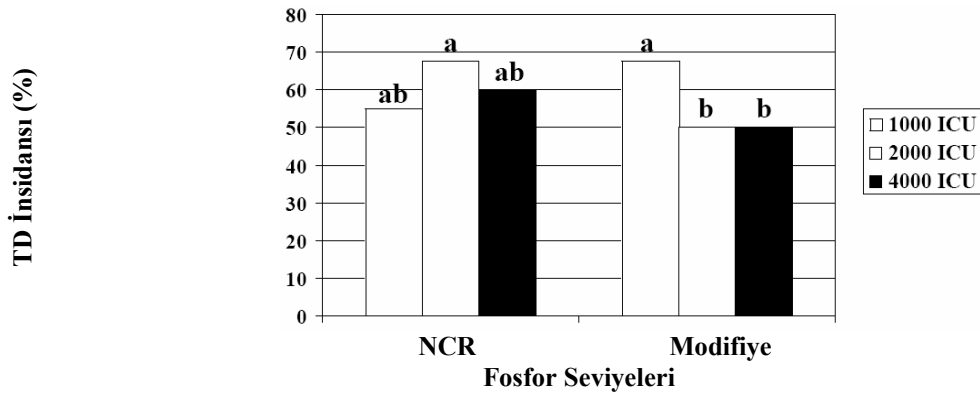
kullanılarak yürütülürken, yer seviyesinde bölmeleri kullanan çok az sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir (Ward 1995).

HyD eklenmiş diyetlerle beslenen broilerler vücut ağırlığında, vitamin D<sub>3</sub> eklenmiş diyetlerle beslenenlere kıyasla anlamlı bir artış sağlamıştır. Bu bulgu, 25OHD<sub>3</sub> eklenmiş broiler diyetleri ile vitamin D<sub>3</sub> eklenmiş diyetlerin karşılaştırıldığı daha önceki araştırmalarla tutarlıdır (McNutt ve Haussler 1973, Cantor ve Bacon 1978, Yarger vd. 1995b). HyD verilen kanatlılar tüm destek düzeylerinde benzer vücut ağırlığı göstermiştir, ancak broilerlerde vücut ağırlığını maksimum düzeye çıkarmak için en az 1000 ICU/kg vitamin D<sub>3</sub> verilmesi gerekmiştir. Yem dönüşümü, HyD verilen kanatlılarda vitamin D<sub>3</sub> verilen kanatlılara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Çoğu çalışmada, broilerlere 25OHD<sub>3</sub> metaboliti verildiğinde çok az fark ya da YDO'da bir artış görülmektedir (Yarger vd. 1995a, Roberson 1999). Hem 21 hem 42 günlük yaşta mortalitede hiçbir farklılık görülmemiştir. Bu, Yarger ve ark. (1995a) tarafından yürütülen bir araştırmayla uyumludur.

Hem vitamin D kaynağı, hem de düzeyi 21 ve 42 günlük yaşta kemik külünü etkilemiştir. HyD ile desteklenmiş diyetler TD insidansı ve şiddetini anlamlı ölçüde etkilemiştir. HyD içeren diyetlerle beslenen kanatlılar daha düşük TD insidansı ve şiddeti göstermiştir (Şekil 2.7.). Roberson (1999) 25OHD<sub>3</sub> ilavesinin broilerlerde TD insidansını önlemediğini bulmuştur. Ancak, diğer araştırmalar, 25OHD<sub>3</sub> ilavesinin TD insidansı ve şiddetini etkilediği bu araştırmanın bulgularını desteklemektedir (Edwards 1989, Rennie ve Whitehead 1996, Mitchell ve Edwards 1997, Zhang vd. 1997).

Çalışma 2, ticari endüstride tipik olarak görülen düzeylerde broilerlere verilen vitamin D<sub>3</sub> ve HyD'yi, fosfor düzeyleri azaltılmış fitaz destekli diyetlerle birlikte verildiğinde incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Kanatlılara tipik ticari endüstri düzeylerinde vitamin D<sub>3</sub> ya da HyD verildiğinde, canlı performans için Çalışma 1'de gözlenenlerle aynı sonuçlar görülmüştür. İkinci çalışmada, fitaz içeren erken modifiye fosfor programı, Waldroup ve ark. (2000) tarafından gösterildiği gibi NRC pozitif fosfor diyetiyle beslenen kanatlılara kıyasla anlamlı farklılık göstermemiştir (Çizelge 2.1.).

Bu araştırmanın bulguları, kemik külü, vücut ağırlığının desteklenmesi ve TD insidansı ve şiddetinin azaltılmasında, 25-hidroksikolekalsiferol'ün her bir ünite bazında kolekalsiferole kıyasla metabolik olarak daha potent görüldüğünü kanıtlamaktadır. Farklılıklar esas olarak düşük Vitamin D takviyesi düzeyinde broilerlerde performans ve kemik gelişimi üzerinde görülmüştür. Şu an kanatlı endüstrisi tarafından tipik olarak kullanılan düzeylerde, bu iki Vitamin D kaynağı verilen kanatlılar arasında çok az farklılık gözlenmiştir. Bununla birlikte, 25-hidroksikolekalsiferol kullanımı daha düşük vitamin D düzeyleriyle takviyeye olanak verebilir ya da stres koşulları altında daha geniş bir güvenilirlik sınırı sağlayabilir.



Şekil 2.7. 49 Günlük Broilerlerde Vitamin D Düzeyi ve Fosfor Düzeyinin TD İnsidansı Üzerindeki Etkisi

**Çizelge 2.1.** Diyetsetel vitamin D kaynağı ve düzeyinin ve fosfor düzeyinin 49 günlük broilerlerde tibia diskondroplazinin (TD) insidansı ve şiddeti üzerindeki etkileri.

Muameleler <sup>1</sup>	TD insidansı <sup>2</sup> (%)	TD şiddeti <sup>3</sup> (%)
1. NRC-D3-1000	50,00	25,00
	65,00	15,00
2. NRC-D3-2000	50,00	15,00
	60,00	35,00
3. NRC-D3-4000	70,00	20,00
	70,00	25,00
4. NRC-HY-D-1000		
	55,00	15,00
5. NRC-HY-D-2000	50,00	10,00
	55,00	25,00
6. NRC-HY-D-4000	80,00	50,00
	50,00	30,00
	45,00	20,00
7. Modifiye-D3-1000		
8. Modifiye-D3-2000		
9. Modifiye- D3-4000		
10. Modifiye-HY-D-1000		
11. Modifiye-HY-D-2000		
12. Modifiye-HY-D-4000		
VIT-D3	54,17	17.50 b
HY-D	62,50	30.00 a
1000 ICU/kg D3	61,25	31,25
2000 ICU/kg D3	58,75	18,75
4000 ICU/kg D3	55,00	21,25
NRC P düzeyi	60,83	22,50
Modifiye P düzeyi	55,83	25,00
	p değeri	
Kaynak	0,0918	0,0480
Düzy	0,5705	0,2229
Kaynak x Düzy	0,4038	0,4177
P Düzyi	0,3056	0,6846
Kaynak x P Düzyi	0,4929	0,4993
Düzy x P Düzyi	0,0405	1,0000
Kaynak x Düzy x P Düzyi	0,1750	0,3892
CV	28,57	89,04

<sup>ab</sup>Aynı üst harfe sahip sütunlardaki ortalamalar anlamlı ölçüde farklılık göstermemektedir (P < 0.05).

<sup>1</sup>D3 = kolekalsiferol; HyD = 25-hidroksikolekalsiferol; NRC = NRC P düzeyleri; Modifiye = Erken modifiye edilmiş P düzeyleri; 0.025 µg kolekalsiferolün bir ICU'ya çevrilmesi temel alınarak, HyD düzeylerinin vitamin D<sub>3</sub> tarafından sağlanan düzeylere eşit olduğu hesaplanmıştır.

<sup>2</sup>Skoru sıfırdan yüksek olan kanatlıların yüzdesi

<sup>3</sup>Skoru üç olan kanatlıların yüzdesi.



### 2.3. Kanatlı Beslenmesinde Ca ve P Metabolizması

Kalsiyum kemik ve yumurta kabuğunun temel mineralini oluşturur. Bununla beraber vücutta bulunan başka fonksiyonları da vardır. Kalsiyum'un kemikteki formu büyük oranda kalsiyum fosfat ve kısmen de kalsiyum karbonat olduğu halde, yumurta kabuğundaki formu tamamen kalsiyum karbonattır.

Yemlerle alınan kalsiyum'un ancak % 20-30'u bağırsaklardan emilerek kana geçer. Kalsiyum emilimi vücudun kalsiyum gereksinimine, alınan kalsiyum miktarına göre değişiklik gösterir (Şenköylü 2001).

Kalsiyum miktarını belirleyen ve yöneten başlıca faktör vücudun kalsiyuma duyduğu gereksinimdir. İnce bağırsak duvarından emilen kalsiyumun büyük bir bölümü kemiklerde depo edilir ve gerektiğinde buralardan kullanıma verilir. Ancak kalsiyum her zaman kemiklerden istenen hızla kana verilemez. Kalsiyumun kemiklerde depo edilmesi ve gerektiğinde buralardan kullanılması hormonların kontrolü altındadır.

Cinsel olgunluğa doğru artan östrojen hormonu salgısı kan Ca düzeyini de artırır. Paratiroid hormonu ise, kan Ca düzeyini sabit tutmaya çalışır. Bu amaçla Ca medüller kemiklerde depolanmaya başlar. Bu işleme yaklaşık olarak ilk yumurtanın yumurtlanmasından 1-2 hafta önce başlanır. Yumurtacı piliçlerin büyütme devresinde aşırı Ca ile beslenmeleri yumurta verimi üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Çünkü paratiroid hormonu zarara uğramakta ve fonksiyonunu tam olarak yerine getirememektedir. O nedenle, yumurta verimine 1-2 hafta kala midye-istiridye kabuğu parçacıkları formunda Ca verilerek kan Ca miktarı artırılır. Yumurta kabuğundaki Ca'un bir kısmı yemden geldiği halde, diğer bir kısmı da medüller kemiklerden rezorbe edilmektedir.

Kanatlılarda kalsiyum'un en belirgin fonksiyonu kemik ve yumurta kabuğunun oluşumunda görev almasıdır. Başlıca diğer görevleri şunlardır;

- Kan'ın pıhtılaşması
- Enzimlerin aktivasyonu

- Sinir uyarımları
- Hücre duvarı geçirgenliği
- Çeşitli hormonların salgılanması
- Süt üretimi ve yumurta kabuğu yapımı

Ca yetersizliğinde büyümenin yavaşlaması, zayıf kemik ve diş oluşumu, genç hayvanlarda uzun kemiklerin deformasyonu, yumuşak kemik oluşumu ve sallantılı dengesiz yürüyüş ile karakterize olan raşitizm, erginlerde osteomalasi görülür. Süt ve yumurta üretiminde azalma, kabuk kalitesinde bozulma ve kabuksuz yumurta oluşumu, doğum sonrası süt hümması (tetani) meydana gelir.

Fosfor ise, kanın önemli bir bileşeni olup, çoğu metabolik reaksiyonlara girer. Hücre ve enzimlerin yapısında görev alır. Fosfor, kalsiyum'a göre bağırsaklardan daha kolay ve yüksek oranda emilmektedir. Alınan fosforun % 70'i emilirken % 30'u dışkı ile dışarıya atılır. Oysa alınan kalsiyum'un sadece % 20-30'u emilirken % 70-80 dışkı ile dışarıya atılır.

Bağırsaklardan emilen fosfor büyüme periyodu süresince vücutta dağılmaya ve kan yoluyla, kemik ve dişler için kullanılmaya hazır haldedir. Fosforun kemiklerde bir bölümünün depo edilmesi her yaşta devam etmektedir. Yemde fosfor düzeyinin eksik olması durumunda, normal kan plazma seviyesinin sağlanması için kemiklerden fosfor mobilizasyonu olur. Plazma fosfor seviyesi paratroid hormonu ve kalsitonin tarafından düzenlenmektedir.

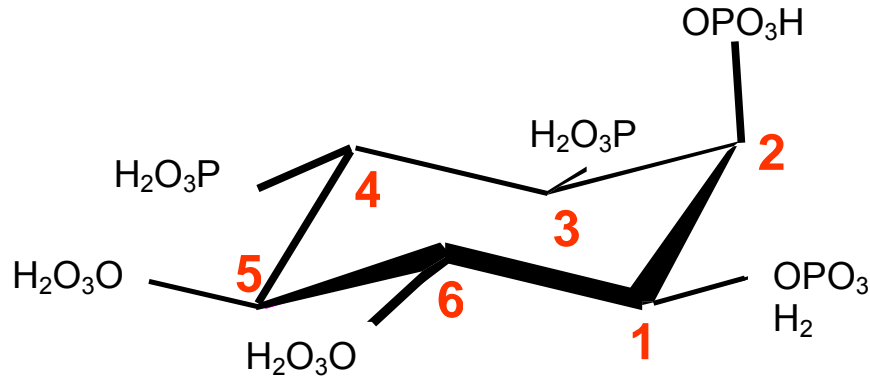
Fosfor temel olarak kemik formasyonu ve korunmasında, dişlerin oluşumunda, süt veriminde, kas dokularının oluşumu, hücre metabolizma kontrolü (ozmotik basınç, fosfolipid formasyonu, amino asit metabolizması) ve genetik transmisyon için önemli olan nükleik asitlerin (RNA, DNA) sentezlenmesinde görevlidir.

Fosfor eksikliğinde genel zaafiyet, yetersizlik veya yararlanma oranının düşük olmasına bağlı iştah azalması, zayıflık, özellikle kanatlılarda 10-12 günlük iken ölümler, kas zayıflığı, raşitizm ve osteomalasi; damızlıklarda fertilité problemleri, yumurta

veriminde düşüş, aşırı eksiklik durumunda ise idrarda kan görülür. Genç hayvanlarda büyüme geriler ve ağırlık kazancı azalır.

Yemdeki fosforun tamamı kullanılabilir formda olmadığı gibi kullanılabilir fosforun da tamamı sindirilebilir durumda değildir. Genel olarak kullanılabilir P ile sindirilebilir fosfor terimleri birbirleri ile karıştırılabilmektedir. Fosfor ile ilgili hayvan beslemede kullanılan terminolojinin açıklaması şu şekildedir;

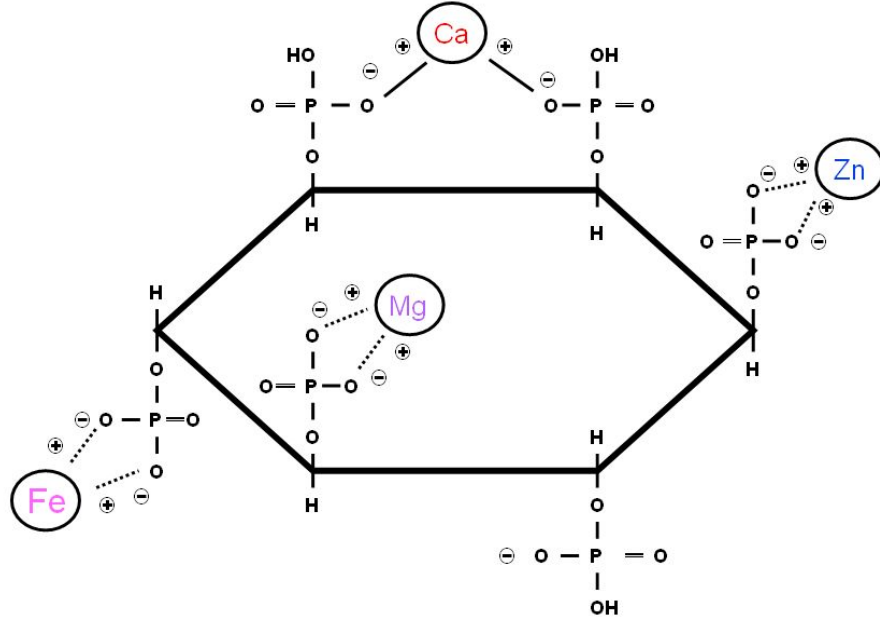
**Organik P:** Bitkisel veya hayvansal dokularda bulunan P'a denilir. Hayvansal kökenli fosfor kullanılabilir P'un doğal bir formu olduğu halde, bitkisel fosfor fitik asit veya fitat formunda olup kullanılabilir formda değildir. Yani fitik asit formunda inositol molekülü ile yaptığı bir komplekstir ve bağlı formdadır. Fitik asit molekülüne bağlı 6 adet fosfor grubu sadece fitaz enzimi aracılığıyla kopartılarak kullanılabilir hale getirilebilir (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Fitik asit (Myo-inositol hegzakisfosfat) molekülü

**İnorganik P:** Kimyasal yollarla elde edilen veya organik olmayan dikalsiyumfosfat (DCP), monokalsiyumfosfat (MCP), kayafosfatı vb gibi P kaynaklarına denir.

**Fitat P :** Fitik asitin minerallerle birleşerek meydana getirdiği tuzlardır (Şekil 2.9.).



Şekil 2.9. Karışık tip fitat (After Broz 1997)

**Total P:** Yem maddesinin yapısında bulunan toplam fosfor (kimyasal olarak analiz ile laboratuarda saptanan toplam P) dur.

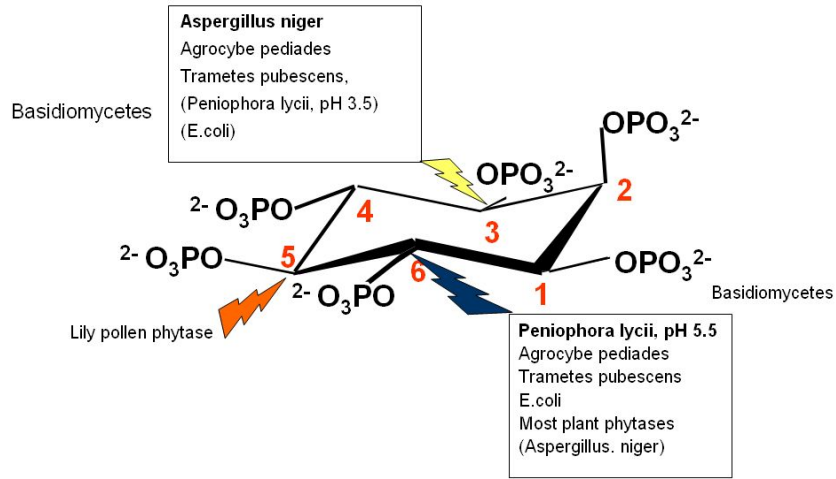
**Kullanılabilir P:** Bağlı olmayan, yani total fosfor ; Fitik asit fosforudur.

**Sindirilebilir P:** Hayvanın yemle aldığı (tükettiği) fosforun bağırsaklardan emilebilen kısmıdır. Yani, yemdeki fosforun emilerek vücutta tutulan oranıdır. Sindirilebilir P, civciv veya tavuklarla yapılan balans (denge) denemeleri ile ölçülür. Yani;

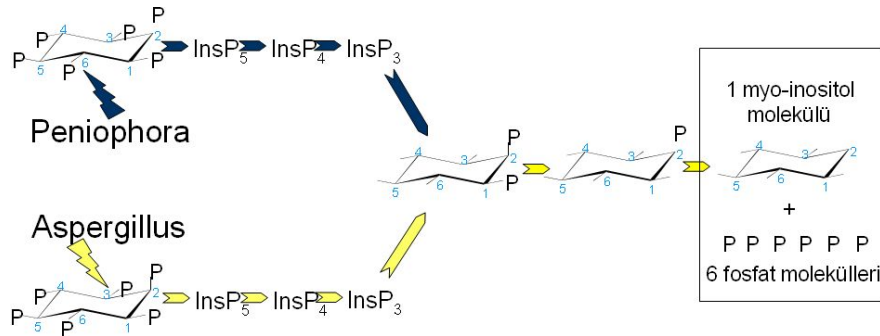
$$\% \text{ Sindirilebilir P} = \frac{\text{Yemdeki P} - \text{Dışkıdaki P}}{\text{Yemdeki P}} \times 100$$

Civcivler fitat fosforun sadece % 30'unu kullanabilirler. Ergin tavuklarda ise bu oran biraz daha yüksektir. Bitkisel yem maddelerinde bulunan fitat P'un yararıyla ilgili yeme ilave edilen mikrobiyal fitaz ile artırılarak P ve Ca sindirilebilirliği artırıldığı gibi,

yemin sindirilebilir enerji ve sindirilebilir protein oranlarında artış meydana geldiğinden yemden yararlanmada gelişme sağlanır ve dışkıyla atılan fosfor ve nitrojen oranlarında azalma meydana geldiğinden yoğun tavukçuluk yapılan yerlerde toprak ve su, dolayısıyla çevre kirliliği azalır. Bu bakımdan son yıllarda kanatlılar için rasyon formüle ederken yeme fitaz enzimi de katılarak yemden yararlanmada artış ve büyümede gelişme sağlanır. Bunu yaparken fosfor kaynaklarının sindirilebilir değerlerinin dikkate alınması ve bu birim cinsinden bilgisayar programlarına girilmesi gerekmektedir (Çizelge 2.2. ve 2.3.). Değişik tip fitazların fitat yapısı üzerine etkisi şekil 2.10 ve 2.11’de gösterilmiştir.



Şekil 2.10. Farklı fitaz kaynaklarının fitat molekülü üzerine etkime noktaları



Şekil 2.11. Peniophora veAspergillus fitazlarının etki mekanizmaları

Çizelge 2.2. Ca, P ve Na kaynakları

Mineral kaynağı	% Ca	% P
<b>Kalsiyum ve fosfor kaynakları</b>		
Mermer tozu (kireç taşı)	38	-
Midye-istiridye kabukları	38	
Kalsiyum karbonat (CaCO <sub>3</sub> )	40	
Kemik unu	26	13
Monokalsiyum fosfat	17	25
Dikalsiyum fosfat	23	20
Trikalsiyum fosfat	21	19
Florsuz kaya fosfatı	34	19
Fosforik asit	-	25
<b>Tuz kaynakları</b>		
	% Na	% Cl
Tuz	39	60
iyotlu tuz	39	60 (iyot, 70 mg/kg)
Kobalt iyotlu tuz	39	60 (iyot, 70 mg/kg; Co, 40 mg/kg)
Sodyum bikarbonat (NaHCO <sub>3</sub> )	27	-

Çizelge 2.3. Değişik fosfor kaynakları ve sindirilebilir oranları  
Tessenderlo Chemie s.a/n.v. (2000)

	Total P g/kg %88 KM	% Sindirilebilirlik	Sindirilebilir P g/kg %88 KM
Dikalsiyum Fosfat (OH <sub>2</sub> O;Kemik)	195	65	126.8
DikalsiyumFosfat (OH <sub>2</sub> O;H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	170	65	110.5
DikalsiyumFosfat (OH <sub>2</sub> O;H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	180	65	117.0
DikalsiyumFosfat (OH <sub>2</sub> O;H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	200	65	130.0
DikalsiyumFosfat (2H <sub>2</sub> O;Kemik)	175	87	152.3
DikalsiyumFosfat (2H <sub>2</sub> O;HCl)	180	72	129.6
Florsuz Fosfat	180	65	117.0
Disodyum Fosfat	170	87	147.9
MonoAmonyum Fosfat	260	90	234.0
MonoKalsiyum Fosfat (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	225	85	191.3
MonoKalsiyumFosfat (HCl)	227	90	204.3
MonoDiKalsiyum Fosfat (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	210	75	157.5
MonoDiKalsiy um Fosfat (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	210	75	157.5
MonoDiKalsiyum Fosfat (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	218	80	174.4
MonoDiKalsiy um Fosfat (HCl)	218	80	174.4
MonoSodyum Fosfat	240	87	208.8
KayaFosfatı	130	20	26.0
TriKalsiyum Fosfat	180	50	90

### 2.3.1. Ca:P Oranı

Diyetsel Ca ve P düzeyleri fitat fosfor kullanılabilirliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Kalsiyum'un etkisi fosfor düzeyinin etkisinden daha önemlidir ve diyetsel Ca'un yüksek düzeyde olması fitat hidrolizini tamamen inhibe edebilir.

Yapılan çalışmalar optimum kemik mineralizasyonu ve yumurta kabuk kalitesi için elverişli miktarda Ca ilave edildiği zaman tavukların fitat fosforundan yararlanma düzeylerinin gerilediğini göstermektedir. % 1.0 Ca içeren yemlerdeki fitat fosforun hidrolizi, % 0.85 Ca içeren yemlere göre daha düşük çıkmıştır. Buna karşın, diyetsel Ca düzeyi düşürüldükçe fitat fosforun kullanılabilirliği artmıştır. Ancak, diyetsel Ca düzeylerinin bu amaçla civcivlerde % 0.13 - 0.42 düzeylerine düşürülmesiyle, civciv performansının ciddi şekilde gerilediği görülmüştür.

Benzer şekilde, Ca/P oranı da fitat hidrolizini etkilemektedir. Ca/total P oranının 2:1 olması, kalsiyum fitat oluşumuna yol açmakta ve çözünmez karakterdeki bu kompleks fosfor kullanılabilirliğini düşürmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre % 0.28 düzeyinde fosfor içeren ve tamamen bitkisel fitat kökenli olan bu kaynağın fosfor yararlılığı Ca/total P oranı 1:1 olan yemde, 2:1 olan yeme göre daha yüksek çıkmıştır. Buna karşılık, fosfor düzeyinin % 0.72'ye çıkarılması halinde, Ca/total P oranının genişletilmesinin olumsuz bir etkisine raslanmamıştır. Keza, 1962 de Harms ve arkadaşları Ca/total P oranının 2:1 den 1:1'e daraltılmasıyla fitik asitteki fosfor yararlılığını inorganik fosfat kaynaklarına göre arttırılabildiğini göstermişlerdir (Şenköylü 2001).

Ca/P oranı özellikle civciv ve piliçlerde büyük bir önem taşır. Genç yaştaki civciv ve piliçler Ca/total P oranına çok duyarlı olup bu değer 1.1-1.4 arasında olması gerekir. Ca/total P oranının civciv ve piliç yemlerinde 2.5-3.5 düzeylerine ulaşması halinde bu genç hayvanlarda raşitizm görülebilir. Bu oran yumurta tavuklarında ise 10:1 civarındadır.

### 2.3.2. Vitamin D<sub>3</sub>'ün Ca ve P metabolizmasındaki rolü

Vitamin D<sub>3</sub> ün kalsiyum ve fosfor absorpsiyonundaki rolü ve önemi öteden beri bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda da vitamin D<sub>3</sub> ün fitat fosforun retansiyonunu arttırdığını göstermektedir. Bu çalışmalarda, yeme vitamin D<sub>3</sub> ilavesiyle fitat fosfor yarıyışlılığının % 31-50'den % 68-87'ye yükseldiği görülmüştür.

Vitamin D, Ca'u bağırsak epitel hücrelerine taşıyan proteinlerin yapısına girmekte ve sonuç olarak Ca'un absorpsiyonunda önemli derecede rol oynamaktadır. Ayrıca Ca emildikten sonra ilgili doku ve organlara taşınmasında da görev alır.

Vitamin D<sub>3</sub>'ün fitat fosforundan yararlanmayı arttırması aşağıdaki nedenlere bağlanmaktadır:

- a. Fitaz sentezi veya intestinal fitaz aktivitesinin artmasına,
- b. Ca absorpsiyonunun stimüle edilmesiyle fitat fosforun çözünürlüğünün ve hidrolizinin artmasına,
- c. Fosforun transport yoluyla emiliminin artmasına.



### 2.3.3. Fosfor Takviyesinde Yeni Stratejiler

#### 2.3.3.1. Bitkisel fosfor ve kalsiyumun sindirilebilirliği ve fitaz

Fitazın bitkisel fosfor ve kalsiyumun sindirilebilirliğini arttırdığı açıkça belgelenmiştir. 1990'ların başlarında Hollanda'da yapılan bir araştırmada (Jongbloed 1993), domuzlar için, fitaz aktivitesinin yem fosfatazlarına, monokalsiyum fosfat kökenli 1 g fosforun veya dikalsiyum fosfat dihidrat kökenli 1 g fosforun 500 IU fitaza eşit olduğu bir eşdeğerlik gösterdiği saptanmıştır. Daha yüksek dozlarda etkinlik azalmaktadır. Fitaz üreticilerinin çoğu, yaptıkları tavsiyelerde bu eşdeğerliğe yer vermişlerdir. Bu eşdeğerlikte monokalsiyum fosfat için % 80'lik sindirilebilirlik katsayısı esas alınmıştır.

Ancak, Eeckhout (1997), monokalsiyum fosfat sindirilebilirliğinin % 93 düzeyinde olduğunu saptamıştır. Ayrıca, bu eşdeğerliğin kullanılan hammaddeden bağımsız olarak geçerli olduğu kabul edilmektedir. Ancak literatürde, fosforun sindirilebilirliğinde fitaz ile sağlanan iyileşmenin hammaddenin fonksiyonu ile açıkça değişiklik gösterdiği net olarak ifade edilmektedir.

Fitik fosfor miktarı ve tipinin ve bitkisel fitazın varlığının, mikrobiyel fitazın performansını etkilemesi olasılığı çok yüksektir; en iyi durum bol miktarda fitik fosforun mevcut olmasıdır (Rodehutsord ve Dungalhoef 1994). Bu araştırmacılar, mikrobiyel fitaz kullanarak mısırın fosfor sindirilebilirliğini % 18'den % 56'ya yükseltmişlerdir. Buğdayın fosfor sindirilebilirliği % 62'den, % 74'e yükselirken, tritikale'de (buğday ve çavdarın çaprazlanmasından elde edilen hibrid) % 52'den % 67'ye yükselen bir iyileşme sağlanmıştır. Sindirilebilirliğin artışı mısırdaki çok daha yüksektir. Bu, bitkisel fitazın bitkisel fosforu hidrolize ettiğini ve mikrobiyel fitaza ait substratı parçaladığını ve böylece fitazın etkinliğini azalttığını göstermektedir.

Bu olay, mısır fitatı çözünürlüğünün pH 4-7'de buğday fitatının çözünürlüğünden daha yüksek olması şeklinde de açıklanabilir (Scheuermann 1988). Bu nedenle, Hollanda'da esasen fitaz açısından fakir ham maddelerle yapılan araştırmadan elde edilen değerlerin her yerde geçerli olması olasılığı hemen hemen yok gibidir.

Tahılın (endojen fitaz içerir) fazla miktarlarda kullanıldığı ülkelerde, yukarıda sözü edilen eşdeğerliğin geçerli olmadığı, bu eşdeğerliğin 700 IU fitaz = monokalsiyum kökenli 1 g fosfor olması gerektiği açıktır. Peletlenmemiş tahıldan zengin bileşik yemlerde, mikrobiyel fitaz kullanımı her zaman ekonomik olmayabilir.

Kemme (1997), bu eşdeğerliğin her cins domuz için geçerli olmadığı ve aynı zamanda domuzun yaşına göre değişkenlik gösterdiği sonucuna varmıştır. Gerçekten de, yavru domuzlarda 500 IU fitaz, sindirilebilir fosforun sadece 0.66 g'ını serbest bırakır. Kemme, daha ileri giderek, dişi domuzlarda gebeliğin başlangıcında ve sonundaki farkları da ölçmüş, 500 IU fitaz için sindirilebilir fosfor miktarının sırasıyla, 0.32 g ve 0.74 g olduğunu saptamıştır. Bu, fitaz ile formülasyonu güçleştiren diğer bir değişkenlik faktörüdür.

### **2.3.3.2. Fitaz ve amino asitlerin sindirilebilirliği**

Pek çok araştırmacı bildirimlerinde fitazın domuzlarda ve kanatlılarda amino asitlerin ve azotun barsaktaki sindirilebilirliğini arttırdığını bildirmiştir (Oficer ve Batterham 1992, Mroz vd. 1994, Yi vd. 1994, Farrell vd. 1993, Van de Klis ve Versteegh 1991). Yi ve ark. (1996), hindilerde bazı amino asitlerin barsaktaki sindirilebilirliğinin artmış olduğunu, ancak sistin ve metiyonin için durumun böyle olmadığını saptamışlardır. Sebastian (1998) aynı zamanda erkek ve dişi broiler piliçlerde amino asit sindirimi üzerine sadece kısmi bir etkisi olduğunu bulmuştur. Pallauf (1994) ve Newkirk ve Classen (1995), ham protein sindirimi üzerinde hiçbir belirgin etki bulamamıştır. Amino asit sindirilebilirliğindeki bu olası artışa karşın, yem dönüşüm oranı üzerinde belirgin bir pozitif etki nadiren gözlenmektedir (Simons vd. 1990, Broz vd. 1994, Denbow vd. 1995, Sebastian vd. 1996). Fitazın üreme parametreleri üzerindeki olası etkisinin teyit edilmesi gerekmektedir. Bu aşamada bu “protein etkisinin” uygulanması, istenmeyen etkilere yol açabilir. Bu nedenle, bulgularda bu değişkenliğe neden olan faktörlerin incelenmesi yararlı olacaktır.

### **2.3.3.3. Fitaz aktivitesi ile kalsiyum:fosfor oranı arasındaki ilişki**

Çözünmeyen kalsiyum-fitat komplekslerinin oluşumu nedeniyle, diyetle aşırı kalsiyum alımı fosfor yararlanımı üzerinde olumsuz etki göstermektedir (Nelson ve Kirby 1987). Fitazın kalsiyumu serbest bırakması ve dolayısıyla yemdeki yararlanılabilir toplam kalsiyum miktarını arttırması nedeniyle, fitaz ve kalsiyum miktarı arasındaki olası etkileşimlerin gözlenmesi gerektiği açıktır. Yüksek kalsiyum düzeylerinin pH'ı fitaz aktivitesi için optimum olmayan düzeylere yükseltmesi de mümkündür. Liu ve ark. (1997), domuzlarda kalsiyum:fosfor oranının 1.5:1.0'dan 1.0:1.0'a düşürülmesinin, kemiğin kırılma mukavemeti dışında, en çok araştırılan parametreleri arttırdığını bulmuşlardır. Lantzsck ve ark. (1995) fosfor retansiyonunun, kalsiyum:fosfor oranı 1.5:1.0 olduğunda maksimum düzeye çıktığını saptamışlardır. Quian ve ark. (1997), 1.25:1.0 oranını optimum oran olarak bulmuşlardır. Bazı yazarlar (Sebastian 1996, Schoner 1993) kanatlılarda düşük kalsiyum düzeylerinde büyümede ve mineral kullanımında artış meydana geldiğini bulmuşlardır. Huyghebaert (1996), dar kalsiyum:fosfor oranlarında, tibial diskondroplazi insidansının arttığını saptamışlardır. Halen kalsiyumla ilgili olarak yapılan önerilerin, fitaz yararlanımı bağlamında değerlendirilmesinin gerektiği düşünülmektedir.

### **2.3.3.4. Kanatlılarda sindirim araştırmaları**

Kanatlıların ve domuzların sindirim sistemleri anatomik açıdan büyük farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle, kanatlılar ve domuzlar, yem fosfatlarını farklı şekilde sindirirler. Çizelge 2.5.'de sözü edilen araştırmalar, sentetik bitkisel fosfor içermeyen bazal diyetler ile yapılmıştır.

Bu iki araştırmadan elde edilen sonuçlar arasında büyük tutarlılık bulunmaktadır. Mutlak sindirim değerlerinde bazı farklılıklar olmasına karşın, farklı tipler arasındaki sıralama, domuzlarda yapılan araştırmalarla hemen hemen aynıdır. Özellikle, dihidrate dikalsiyum fosfata ait değerler, domuzlara kıyasla kanatlılarda çok daha yüksektir. Kanatlıların dihidrate dikalsiyum fosfatı daha iyi sindirebildiği anlaşılmaktadır. Florsuz fosfat ve anhidroz dikalsiyum fosfatın kanatlılar için uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

Yukarıda sözü edilen araştırma verilerine dayanarak, Çizelge 2.4.'de ticari olarak mevcut bulunan yem fosfatlarının çoğunda önerilen sindirim katsayısı görülmektedir. Bu değerler yem fosfatlarını değerlendirmek için veya sindirilebilir fosfor açısından kısıtlanmış yemlerin formüle edilmeleri için de kullanılabilir. Sonuç olarak, dihidrate dikalsiyum fosfat ve monokalsiyum fosfatın kanatlılar için özellikle uygun olduğu, diğer yanda, monokalsiyum ve monokalsiyum fosfatın domuzlar için tercih edildiği anlaşılmaktadır.

**Çizelge 2.4.** Kanatlılarda sindirim çalışmaları; Hollanda ve Belçika

Kaynak	A	B	Ortalama	Bağıl
Monokalsiyum fosfat, Aliphos	84	85	85	100
Monokalsiyum fosfat, diğer	76	-	76	90
Dikalsiyum fosfat dihidrat, Aliphos	77	83	80	94
Dikalsiyum fosfat dihidrat, kemik sınıfı	80	80	80	94
Dikalsiyum fosfat	53	70	62	73
Monodikalsiyum fosfat, diğer	79	-	79	94
Florsuz fosfat	55	-	55	65

A: Simons ve Van de Klis 1990-1994  
B: Huyghebaert ve DeGroot, 1996

### 2.3.3.5. 25OHD<sub>3</sub> ve fitat fosfor yararlanımı

Vitamin D<sub>3</sub> metabolitlerinin fitat-fosfor yararlanımını arttırdığına ve inorganik fosforun daha az kullanıldığını gösteren çok sayıda çalışma yayınlanmıştır. Fosforun değerlendirilmesi ile ilgili yapılmış bu çalışmaların bir özeti Çizelge 2.5.'de özetlenmiştir. Mitchell ve Edwards (1996) 1,25-dihidroksikolekalsiferol (1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>)'ün fitaz ile kombinasyon halinde kullanıldığında oluşan sinerjik etkiyi belirlemişlerdir. Hipotezleri 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>'ün etki mekanizması serbest bırakılan fosfat iyonlarının (P<sub>i</sub>) geri alınımını artırabilme ve muhtemelen endojen fitaz enzimi regülasyonuna dayanmaktadır. Biehl ve Baker (1997a) 1 $\alpha$ -hidroksikolekalsiferol (1 $\alpha$ -OH D<sub>3</sub>) eklendiğinde endojen fitaz enzimi regülasyonunun geçerli olmadığını bildirmişlerdir. 1 $\alpha$ -OH D<sub>3</sub> katkısı, düşük fosforla beslenen 8-20 günlük broilerlerin intestinal fitaz aktivitesinde bir değişiklik yapmamaktadır. Benzer şekilde Applegate ve ark. (2003) broiler yemlerine 210  $\mu$ g/kg 25OHD<sub>3</sub> eklenmesinin ince barsaklardaki fitaz aktivitesinde belirgin etki yapmadığını göstermişlerdir. 25OHD<sub>3</sub> katkısı görülebilir ileal fitat-P hidrolizinde % 28.06'dan % 54.86'ya bir artışla sonuçlansa da (fitat-P'dan ek % 0.065 diyetsel fosfor sağlamıştır,  $P \leq 0.0001$ ) sonraki bir çalışma 25OHD<sub>3</sub> katkısının endojen intestinal fitaz üretimini etkilenmediğini ve ilk çalışmanın tersine fitat-P hidrolizini belirgin derecede etkilemediğini doğrulamıştır (Applegate vd. 2003).

25OHD<sub>3</sub> ve diğer metabolitlerin fosfor yararlanımının arttırmasının, dolaylı olarak ince barsaklardan Ca alınımının hızlı fazı ve yavaş fazını (Ca bağlayıcı proteinlere arabuluculuk ederek) iyileştirerek gerçekleştirildiği hipotezi mevcuttur. İnce barsak içeriğinin pH'ında Ca fitin molekülü ile şelat olabilir ve fitin molekülünün çözünürlüğünü önemli derecede azaltabilir. Bu eşitlikten bir miktar Ca çıkartarak fitin molekülünü daha çözünebilir ve endojen ve eksojen fitazların hidrolitik etkisine daha ulaşılabilir hale getirmek mümkündür. Ayrıca bazı fitazların katalitik aktiviteleri yüksek konsantrasyonlardaki P<sub>i</sub> ile inhibe edilmektedir (Wodzinski ve Ullah 1996).

**Çizelge 2.5.** Farklı vitamin D<sub>3</sub> metabolitlerinin fitat-fosfor ve fosfor yararlanımı üzerine etkileri.

Kaynak	Tür	Yaş	Metabolit	Katkı miktarı	Elde edilen fosfor
Edwards (1993)	Broyler	1-9 d	1,25 (OH) <sub>2</sub>	5 µg/kg	% 0.057
Edwards (1995, 1999)	Broyler	...	1α - OH	5 µg/kg	% 0.025 - 0.03
		...	1,25 (OH) <sub>2</sub>	5 µg/kg	%0.038 - 0.056
		...	25-OH	5 µg/kg	Tutarlı değişiklik yok
Mitchell & Edwards (1996)	Broyler	0-21 d	1,25 (OH) <sub>2</sub>	5 µg/kg	0.03 - 0.059 (tipik starter P seviyelerinde)
Biehl ve Baker (1997b)	Broyler	8-20 d	1α - OH	20 µg/kg	~ % 0.06
Carlos ve Edwards (1998)	W36 Yumurtacı	24-32 wk	1,25 (OH) <sub>2</sub>	5 µg/kg	% 0.02 ek P 600 U/kg fitaz kullanılırken (yalnız kullanıldığında değişiklik yok)
		56-65 wk	1,25 (OH) <sub>2</sub>	5 µg/kg	% 0.034 (600 U/kg fitazla kullanıldığında bir değişiklik yok)
Applegate vd. (2000)	Broyler	7-21 d	25-OH	210 µg/kg	% 0.065
Applegate vd. (Yayınlanmamış)	Broyler	8-22 d	25-OH	210 µg/kg	Değişiklik yok
	Palaz	10-21 d	25-OH	70 µg/kg	% 0.03 ek P 500 U/kg fitaz kullanılırken (yalnız kullanıldığında değişiklik yok)
Angel vd. (2001a)	Broiler	12-21 d	25-OH	70 µg/kg	% 0.035
Angel vd. (Yayınlanmamış)	Palaz	11-20 d	25-OH	35 µg/kg	% 0.03

## **2.4. Kümes Hayvanlarında Diskondroplazi İle İlgili Beslenme ve Metabolizma Faktörleri**

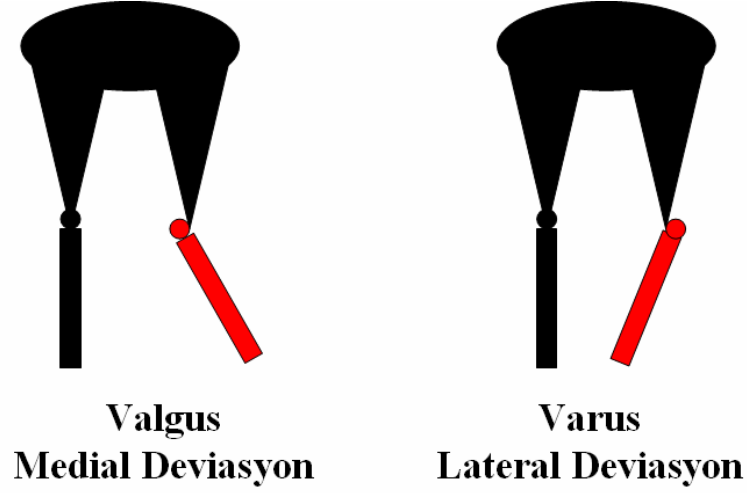
### **2.4.1. Kanatlılarda iskelet sistemi deformasyonları**

Farklı türlerdeki bir dizi iskelet hastalığı ticari kanatlı üretiminde önemli sağlık ve üretim sorunlarına yol açabilir. Yumurta tavukları, osteoporozun karakteristik özelliği olan jeneralize yapısal kemik kütlesi kaybından zarar görmektedir. Son 50 yıl içinde, hızlı büyümeleri nedeniyle seçilen et tipi türlerden oluşan kanatlıların yetiştirilmesinde en yaygın olarak görülen iskelet defektleri, bacak kemiklerinde ve eklemlerde meydana gelmektedir. Broiler bacak deformitelerinin sağlık açısından yarattığı sorun, Çiftlik Hayvanları Sağlığı Konseyi'nin (FAWC 1992) bir bildirisinde vurgulanmıştır.

Sıklıkla “bacak zayıflığı” başlığı altında sınıflandırılan bacak kemiği deformiteleri, uzun yıllardan beri broiler endüstrisinde bir endişe kaynağı olmaya devam etmektedir. Bu alanda çok sayıda patoloji tanımlanmış olmakla birlikte, yapılan birçok araştırmaya karşın, sorunlar hala oldukça yaygın durumdadır. Yapılan araştırmalar, basit besin eksikliklerinin neden olduğu kondrodistrofiler gibi bazı nedenlerin belirlenmesi ve elimine edilmesinde başarılı olmuştur. Bununla birlikte, devam eden sorun türleri, önem olarak, bu sorunların kanatlılar için sağlıksızlığın, üreticiler için ise üretim kaybının başlıca nedenleri olarak görüldükleri noktaya kadar gelmiştir.

Gelişim bozuklukları, bacak kemiklerinin açılı ve rotasyon deformiteleri ile karakterizedir ve gerek broilerlerde, gerekse hindilerde görülmektedir. Bu bozukluklar, genellikle varus veya valgus deformitesi (Şekil 2.12.) olarak bilinen bilek eklemleri distorsiyonlarının önde gelen belirtisidir. Uzun kemiklerin ve eklemlerin bu distorsiyonları ise, sekonder yumuşak doku patolojilerine yol açabilir. Diskondroplazi, bu defektlerin görüldüğü broilerlerin kemiklerinde en yaygın olarak gözlemlenen lezyondur. Genç broilerlerde en hızlı büyüyen kemik olan proksimal tibia'yı en ağır şekilde etkilemesi nedeniyle genellikle tibia diskondroplazisi (TD) adıyla anılmaktadır

ve klinik deformitenin ve topallığın direkt bir nedeni olduğu gösterilmiştir (Lynch M vd. 1992).



Şekil 2.12. Valgus Varus deviasyonu

#### 2.4.2. Tibia Diskondroplazisinin Karakteristik Özellikleri

Tavukların uzun kemiklerindeki normal endokondral kemik oluşum prosesi, büyüme plağı kondrositlerinin iyi tanımlanmış aşamalardan oluşan sıralı bir işlem serisinden geçmesini kapsar. İstirahat veya rezerv bölgesinden gelen kondrositler önce yassılaştırmış hücrelerden oluşan bir kolonlu bölge oluşturmak üzere proliferasyona başlar. Bunlar daha sonra fenotiplerini değiştirerek hipertrofik kondrositler halinde farklılaşmaya başlar. Bunu yaparken, önce prehipertrofik kondrositler bölgesi oluşturmak için genişlemeye başlarlar ve sonra tam hipertrofik hale gelmek için olgunlaştıkça, X tipi kollajen içeren bir matriks salgırlar. Matriks içinde mineralizasyon başlar, kapiller invazyon ortaya çıkar ve kemik oluşumu gerçekleşir.

TD lezyonu, kemik büyüme plağının altında yatan bir avasküler kıkırdak tıkaçı şeklini alır (Şekil 2.13.). Bu lezyon, prehipertrofik kondrositlerin birikiminden oluşur ve boyutları, büyüme plağının bir bölümünde yer alan küçük bir fokal birikimden, büyüme plağının tüm genişliğini kaplayan ve 1 cm veya daha derine uzanan büyük bir kitleye



kadar uzanabilir. Dolayısıyla bu lezyon, gerek büyüme plağı kalınlaşmasının proliferen olan kondrositlerin birikimine bağı olduğu hipokalsemik raşitizmden (Şekil 2.14), gerekse hipertrofik kondrositlerin birikiminin söz konusu olduğu hipofosfatemik raşitizmden (Şekil 2.15) farklıdır.



**Şekil 2.13.** Tibial diskondroplazi

Bu lezyon ilk olarak kanatlı yaklaşık iki haftalık olduğunda görünür hale gelir ve radyografi ile görülebilir (Şekil 2.16.). Radyografide tipik olarak, kanatlı 4 veya 5 haftalık oluncaya kadar lezyonun boyutunun büyüdüğü ve daha sonra gerilediği görülebilir. Daha büyük kanatlılarda, tibianın genel muayenesi genellikle önceden var olan bir TD lezyonu hakkında küçük de olsa bir gösterge oluşturabilir; ancak histolojik inceleme, physeal kemik içinde diskondroplazik kondrositlerin remnantlarını gösterecektir. Dolayısıyla bu lezyon geçici olabilir, ancak kemik üzerinde kalıcı etkiler oluşturabilir. Kıkırdağın zayıflayan alanlarında kırıklar oluşabilir. Alternatif olarak,

proksimal tibianın uzunlamasına büyüme yönelik oryantasyonu bozulabilir. Bu durum radyografilerde tibial plato açısı ölçümleri ile gösterilebilir (Şekil 2.17.). Bir lezyonun varlığı, açının 20' nin altında olan normal değerini 35' nin üzerine çıkarabilir (Lynch vd. 1992). Sonuçta meydana gelen kemik kavisi topallığın direkt bir nedeni olabilir veya özellikle bilek ekleminde anormal biyomekanik kuvvetlerin oluşmasına yol açarak sekonder patolojilere ve topallık nedenlerine zemin hazırlayabilir.



Şekil 2.14. Hipokalsemik raşitizm



Şekil 2.15. Hipofosfotamik raşitizm

TD lezyonlarının karakteristik özellikleri histoloji ve immünohistokimya alanlarında kapsamlı şekilde araştırılmıştır. Lezyon, kondrositlerin proliferasyon hızındaki bir değişiklikten kaynaklanmamakta, bunun yerine, prehipertrofik kondrositlerin oluşmasına yol açan normal farklılaşma sürecinde meydana gelen bir arızadan kaynaklanmaktadır (Farquharson vd. 1992). Bu genişlemiş geçici bölge daha tam olarak farklılaşmış hücrelerin özelliklerinden yoksundur. X tipi kollajen bazlı matriks hakkındaki bilgiler yetersizdir. İmmüno lokalizasyon, intrasellüler X tipi kollajenin varlığını göstermektedir ki, bu da matriks sekresyonunda bir arıza olduğuna

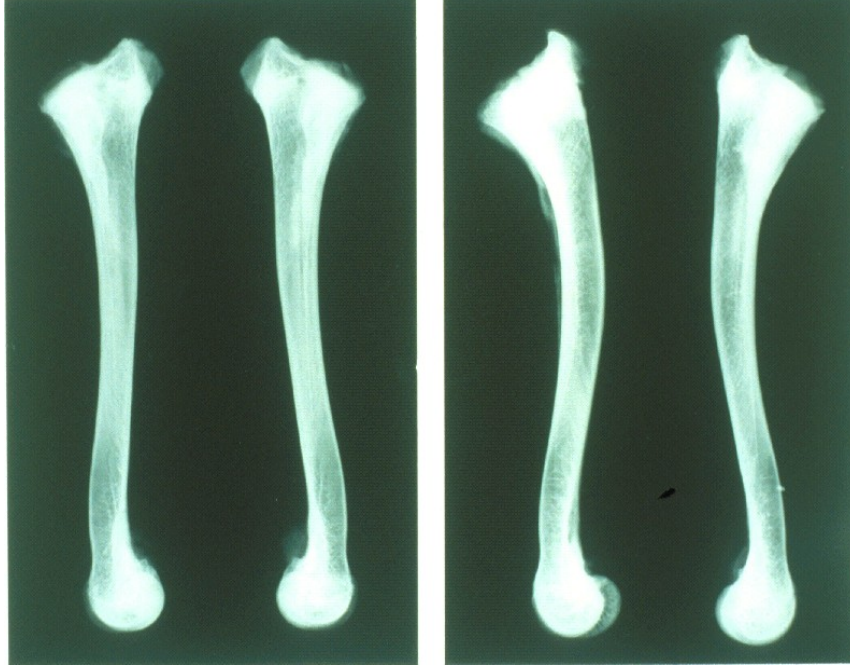
işaret etmektedir. Farklılaşmış kondrositlerle karşılaştırıldığında, lezyon kondrositleri, TGF- $\beta$  ve c-myc protein eksikliği de dahil olmak üzere, başka anomalileri göstermektedir (Loveridge vd. 1993). Bu iki faktör farklılaşma prosesi ile ilişkilidir ve kuşkusuz, onarıma başlayan hücrelerin, başlıca epifiz kan damarlarının etrafında onarılmaya başlar. Ancak, bu bulguların hangisinin diğerine sebep olduğu, bu faktörlerin yokluğunun mu farklılaşmayı inhibe ettiği, yoksa bu faktörlerin bir farklılaşma eksikliği nedeniyle mi olmadığı kesinlik kazanmamıştır.



**Şekil 2.16.** Radyografik TD görüntüsü

TD'nin hücresel nedenleri karanlıkta kalmaya devam etmektedir. Bunların inherent bir hücresel defektten kaynaklanmadığı, büyüme plağı kondrositlerinin hasat edilmesi ve bunların yüksek hücre yoğunluğuna sahip bir pelet sisteminde kültürlenmesi şeklinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bu sistem normal proliferasyon kondrositleri ile başlayarak, hücrelerin, X tipi kollajen matriksinin, TGF- $\beta$  ve c-myc protein ve nihayet kültür ortamındaki fizyolojik açıdan normal fosfat konsantrasyonları altında mineralizasyon odaklarının normal farklılaşma aşamalarından geçmesini sağlar

(Farquharson ve Whitehead 1995). Önemli olarak, TD lezyonlarının içinden kültürlenmiş hücreler olgunlaşma süreçlerine geri dönebilirler ve aynı aşamalardan geçebilirler. Bu da dolaşımda olmayan, ancak kültür ortamında mevcut olan bir sistemik faktörün TD indüksiyonu üzerinde önemli bir etkisi olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 2.17. Tibial plato açısındaki farklılık

### 2.4.3. Beslenme ve TD

Birçok beslenme faktörünün TD'nin oluşumunu ve ciddiyetini etkilediği gösterilmiştir. Monovalent iyonların ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) miktarında, protein kaynağının niteliğinde, sistein ve homosistein gibi amino asitlerin, molibden gibi iz minerallerin miktarındaki değişikliğin, mikotoksinlerin varlığının (özellikle *Fusarium* türlerinden) ve yeme vitamin D metabolitleri eklenmesinin TD üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu faktörlerin birçoğu TD oluşturmaktadır; vitamin D metabolitleri bugüne kadar TD'yi önlediği saptanan yegane faktörlerdir.

#### 2.4.3.1. Kalsiyum ve fosfor

Diyetteki kalsiyum/fosfor oranının TD oluşumu üzerinde önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir (Edwards ve Veltmann 1983). Bu insidans, yemdeki fosfor miktarını sabit tutarak kalsiyum miktarının arttırılması veya yeterli bir kalsiyum miktarında fosfor miktarının arttırılması yoluyla yükseltilebilir. Yemdeki kalsiyum ve fosfor miktarlarının optimize edilmesi TD'yi en aza indirmekle birlikte, bu prosedür TD'yi ortadan kaldıramaz. Göreceli olarak daha düşük miktarda kalsiyum ve daha yüksek miktarda fosfor içeren rasyonlar TD oluşumunun arttırılmasında özellikle etkili olmuş, her elementten % 0.75 içeren yemlerle düzenli olarak % 40-50 insidans elde edilmiştir. Yüksek insidans değerleri oluşturulabilmesi, TD'nin nedenlerini ve önleme yollarını araştırmak için daha sonraki deneylerin tasarlanmasına önemli ölçüde yardımcı olduğundan, bu bulgu çok değerli olmuştur.

Riddell C ve Pass DA (1987) tipik TD gelişiminden önce, fosfor miktarı yüksek olan diyetle beslenen piliçler 2 haftalık olduğunda, büyüme plaklarının homojen bir biçimde kalınlaştığını gözlemlemiştir. Bu kalınlaşmanın çoğunluğu hipokalsemik raşitizmde görülenle aynı olmak üzere, poliferasyon bölgesindeki artıştan kaynaklanmıştır. Bu durum, TD'nin kalsiyum eksikliğinden mi kaynaklandığı ve eğer bundan kaynaklanıyorsa, TD'nin klasik kalsiyum eksikliği semptomu olan raşitizmle nasıl bir ilişki içinde olduğu sorusunu ortaya atmıştır. Bu durum ayrıca, TD ve raşitizmin ayırıcı tanısındaki güçlükler nedeniyle deneysel sorunlara da yol açmıştır. Bazen, bu tabloların gözle ayırt edilmesi kolay değildir ve kesin tanı için histoloji çalışması yapılması gereklidir.

#### 2.4.3.2. İyon dengesi

Diyetteki iyon dengesinin TD üzerindeki etkisi [meq (Na+K-Cl)/kg olarak ifade edilmiştir] ilk olarak Mongin ve Sauveur (1977) tarafından ortaya atılmıştır. Daha sonra yapılan bir dizi araştırmada (Hulan vd. 1986, 1987a, 1987b, Simons vd. 1987), bu hesaplama dayalı bir değer TD açısından uygun bir ölçü olmadığı ileri sürülmüş,

ancak metabolik asidozun (Cl'de artış) TD insidansının artışı ve alkalozun bu insidansın azalmasıyla ilişkili olduğu prensibi doğrulanmıştır.

#### **2.4.3.3. Protein ve amino asitler**

Protein kaynağının TD oluşumu üzerindeki ilginç etkisi, iki kaynaktan gelen soya ununun bir başka kaynaktan gelen soya ununa kıyasla, sürekli olarak daha yüksek bir insidans oluşturduğunu gözlemleyen Edwards (1985) tarafından bildirilmiştir. Bu unlar arasındaki en çarpıcı farklılık yüksek TD insidansı veren unların yüksek antitripsin ve üreaz aktiviteleridir. Enerji, kalsiyum veya fosfor metabolizması üzerindeki etkileri kapsayan bir mekanizma dikkate alınmamıştır. Bu etki değişen amino asit dengesi ile ilgili olabilme olasılığı sistein ve homosistein ile ilgili olarak daha sonra elde edilen bulgulara dayanarak ortaya atılmıştır.

Orth ve ark. (1992), içerdiği amino asit miktarı normal olan rasyonlara sistein (2.5 ila 20 g/kg) veya homosistein (1.5 ila 6 g/kg) eklenmesi ve dengelenmesinin TD insidansını doza bağımlı olarak arttırdığını bildirmişlerdir. Bai ve Cook (1994) bu prosedürü hafif Leghorn tipi civcivlerde, bu kanatlılar 10 günlük oluncaya kadar, ciddi TD benzeri lezyonlar oluşturmak için kullandığından, bu prosedürün TD oluşturmanın güçlü bir yolu olduğu anlaşılmaktadır. İlgili etkileşimlerin karmaşık yapısının, molibden katkılı yemlerin sistein ile oluşan TD'yi önleyebileceği, ancak broilerlerdeki spontan TD'yi önleyemediği ve sistein ile oluşan TD'nin molibden eksikliği ile ilgili olmadığı yönünde daha sonra elde edilen bulgularla gösterilmiştir (Bai vd. 1994).

#### **2.4.3.4. Tiokarbonatlar**

Fungisit (tiuram) veya alkol caydırıcı olarak (disulfiram) kullanılan tiokarbonatlar ailesinin, broiler (Vargas vd. 1983, Edwards 1987) ve Leghorn piliçlere (Veltmann vd. 1985) verildiğinde, TD oluşturduğu saptanmıştır. Edwards (1987), her iki bileşiğin intestinal kalsiyum emilimini azalttığını bildirmişse de, ilgili metabolizma faktörleri hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Daha sonra, Wu ve ark. (1993) diyetle bakır fazlalığının tiuram ile oluşan TD insidansını azaltabileceğini bildirmiştir.

#### 2.4.3.5. Mikotoksinler

Mikotoksinlerin TD'de rol oynadığı, ilk kez bir *Fusarium* toksininin TD oluşturabileceğini bildirmiş olan Walser ve ark. (1982) tarafından gösterilmiştir. Daha sonra fusarokromanon olarak tanımlanan bir bileşiğin bu etkiden sorumlu olduğu saptanmıştır. Wu ve ark. (1993) gerek çinko, gerekse bakır fazlasının fusarokromanon ile oluşan TD insidansını azaltabildiğini bildirmişlerdir. Tüm mikotoksinler TD oluşturabilme özelliği taşımamaktadır. Yemle aflatoksin verilmesinin TD insidansını azalttığı bildirilmiş (Huff 1980) olmakla birlikte, bu etkinin aflatoksinin spesifik bir özelliğinden çok, bu uygulamayla birlikte görülen büyümenin baskılanması ile ilgili olması olasıdır.

#### 2.4.3.6. Yem rejimleri

Hızlı ağırlık artışının TD'nin başlıca nedeni olduğu genel kabul görmektedir. TD ile vücut ağırlığı arasında hiçbir genetik korelasyon bulunmadığına ilişkin kanıtlara (Kuhlers ve McDaniel 1996) karşın, beslenmeye ilişkin bulgular büyüme hızını baskılayan diyet rejimlerinin TD insidansını azalttığını düşündürmektedir (Poulus vd. 1978, Lilburn vd. 1989). Kalitatif veya kantitatif besin kısıtlaması ile büyüme hızının gerilemesi sağlanabilir. Açlık süresinin yaklaşık 8 saat olması koşuluyla, açlığın da büyümeyi baskılamaksızın TD insidansını azalttığı gösterilmiştir (Edwards ve Sorensen 1987).

#### 2.4.3.7. Vitamin D metabolitleri

TD ile ilgili en önemli beslenme bulgusu vitamin D<sub>3</sub> metabolitlerinin etkileri ile ilgili gözlemler olmuştur. Edwards (1989, 1990) yeme eklenen 1,25-dihidroksivitamin D'nin (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) TD insidansını azaltabileceğini bildirmiştir. Daha yakın zamanda, Rennie ve ark. (1993) kesin bir TD tanısı koyabilmek için histolojik teknikler kullanarak 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün TD'yi tamamen önleyebileceğini göstermiştir. Bunun

aksine, rasyondaki vitamin D'nin normal miktarların üzerine çıkarılmasının TD insidansı üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır.

Farklı 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dozlarına verilen yanıtlarla ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Kalsiyum-fosfor oranları düşük olan yemlerle yapılan deneylerde, yeme 5 µg/kg düzeyinde 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklenmesinin TD'nin önlenmesinde etkili olduğu ve 10µg/kg'lık dozun büyüme hızında olumsuz bir etki olmaksızın verilebileceği saptanmıştır. Ancak daha sonra, daha normal bir kalsiyum miktarı içeren rasyonla ilgili bir deneyde, 5 µg/kg düzeyindeki bir katkının büyümenin baskılanmasıyla sonuçlandığı saptanmıştır (Rennie vd. 1993). Bu bulgu, yemdeki kalsiyum ile 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> arasındaki etkileşimin araştırılmasını gerektirmiştir (Rennie vd. 1995). 7.5, 10 ve 12.5 g kalsiyum/kg ve 0, 2, 3.5 ve 5 µg 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>/kg'lık yem konsantrasyonlarının uygulandığı faktöryel bir deney, bu yem faktörleri arasında güçlü bir etkileşim olduğunu doğrulamıştır. Sonuçlar Çizelge 2.6.'da özetlenmiştir. Bu sonuçlar, her iki faktörün konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu yem kombinasyonlarının büyümenin baskılanmasına neden olduğunu göstermektedir. Bununla birlik, 7.5 g kalsiyum/kg ile, 5 µg 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e varan miktarlar büyüme hızını olumsuz yönde etkilememiştir. Bu etkileşimin nedeni, büyümenin baskılanmasının hiperkalsemi ile ilişkili olduğunu gösteren, plazmadaki iyonize kalsiyum ölçümleri ile açıklanmıştır.

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün biyolojik rollerinden biri, kalsiyumu bağlayan protein üzerindeki etkisi kanalıyla kalsiyum emilimini düzenlemesidir. Dolayısıyla, diyetdeki yüksek kalsiyum miktarı, yüksek miktardaki 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> katkılarının kalsiyum emilimi üzerindeki stimüle edici etkileri ile birleştiğinde, aşırı kalsiyum emilimine, hiperkalsemiye ve dolayısıyla büyümenin baskılanmasına yol açar.

Yemdeki daha düşük kalsiyum düzeylerinde TD insidansı daha yüksek olmuştur. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, yemdeki tüm kalsiyum konsantrasyonlarında TD'nin önlenmesinde etkili olmakla birlikte, yemdeki kalsiyum konsantrasyonlarının daha düşük olması durumunda tam bir önleyici etki için daha fazlasına gerek duyulduğu yönünde bir eğilim bulunmaktadır.



**Çizelge 2.6.** Yeme farklı düzeylerde eklenen kalsiyum ve 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub>'ün 3 haftalık kanatlılardaki vücut ağırlığı, TD insidansı ve plazma iyonize Ca üzerindeki etkileri

Yemdeki Miktar		TD (%)	Ağırlık (%)	İyonize Ca (mmol/l)
Ca g/kg	1,25-D <sub>3</sub> (µg/kg)			
7.5	0	50	741	1.50
	2	15	748	
	3.5	5	731	
	5	0	738	
10	0	10	739	1.56
	2	20	733	
	3.5	5	712	
	5	5	699*	
12.5	0	15	710	1.55
	2	15	730	
	3.5	0	677*	
	5	0	677*	

\*Anlamli büyüme baskılanması, P<0.05; (Rennie ve ark.dan alınmıştır, 1995)

Yemdeki tüm kalsiyum konsantrasyonlarında büyümenin baskılanmasına yol açmayan en yüksek miktar 2 µg/kg olurken, TD'nin etkin şekilde önlenmesi için 3.5 mg/kg gerekli olmuştur. Ancak, lezyonun ciddiyeti genellikle insidans ile ilgili bulunduğundan ve küçük TD lezyonlarının kemik büyümesinde büyük bir deformite ile sonuçlanması olasılığı düşük olduğundan, daha düşük dozun klinik anormalliğin önlenmesinde etkili olması muhtemeldir. Her durumda, TD'nin etkili bir biçimde önlenmesi ile 1,25-dihidroksivitaminD<sub>3</sub>'ün büyümeyi baskılayan zararlı dozları arasındaki güvenilirlik aralığının dar olduğu açıktır ve düşük 1,25-dihidroksivitaminD<sub>3</sub> dozlarının TD'nin önlenmesindeki etkinliğini geliştirmek için bir araç yararlı olacaktır.

Diğer vitamin D metabolitleri ile ilgili araştırmalar en etkili türevlerin 1-hidroksilatlı olanlar olduğunu düşündürmektedir. Dolayısıyla, 1-hidroksivitamin D<sub>3</sub> ve 1,24,25-trihidroksivitamin D<sub>3</sub>'de TD'nin önlenmesinde 5µg/kg'a kadar olan dozlarda etkilidir. Ancak, 25-hidroksivitamin D<sub>3</sub>'ün (25OHD<sub>3</sub>) TD lezyonlarının insidansı ve şiddetini, Çizelge 2.7.'de gösterildiği gibi, (Rennie ve Whitehead 1996) biraz daha yüksek doz oranlarında da (75 µg/kg) olsa, önemli ölçüde azaltabileceği saptanmıştır. Ancak, tüm deneylerde yanıt gözlemlenmemiş olması, 25OHD<sub>3</sub> ile bir başka faktörün etkileşebileceği olasılığını ortaya koymaktadır.

**Çizelge 2.7.** Yemdeki vitamin D ve 25-hidroksivitamin D'nin 3 haftalık broiler piliçlerdeki vücut ağırlığı ve tibia diskondroplazisi insidansı ve şiddeti üzerindeki etkileri

Yemdeki Miktar		Vücut ağırlığı (g)	TD insidansı (%)	TD şiddeti
Vitamin D	25OHD <sub>3</sub>			
7.5		634	64	2.2
	75	677*	10	1.7

\*Vücut ağırlığı, kontrollerdeki vücut ağırlığından anlamlı ölçüde farklıdır (P<0.05)

#### 2.4.3.8. Askorbik asit

Askorbik asit TD'yi etkileyebilen bir faktör olarak da araştırılmıştır. Yeme tek başına askorbik asit eklenmesinin TD'yi etkilemediği saptanmıştır (Leach ve Burdette 1985). Bununla birlikte, TD'nin tamamen önlenmesi için yetersiz 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> içeren yemlere askorbik asit eklenmesi rezidüel TD'nin eliminasyonu ile sonuçlanmıştır (Whitehead vd. 1994). Bu durum, askorbik asidin 1,25-dihidroksivitamin D<sub>3</sub> ile birlikte ek veya sinerjik etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular doğrulanabildiği takdirde, düşük bir 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dozu ile birlikte sinerjist olarak askorbik asit kombinasyonunun uygulanması TD ile mücadelede etkili bir yol olabilir. Askorbik asidin diğer vitamin D metabolitleri ile olası sinerjik etkileri belirlenmemiştir.

#### 2.4.4. TD Etiyolojisi

Kapsamlı araştırmalara karşın, TD etiyojisinin aydınlatılmadığı kabul edilmelidir. TD'nin yukarıda sıralanan, görünürde birbirinden farklı çok sayıda faktör tarafından oluşturulması, her biri lezyonun ortaya çıkmasına yol açan kondrosit farklılaşmasının inhibisyonuyla sonuçlanan çeşitli etiyojiler olabileceği olasılığını açık bırakmaktadır. Halen kalsiyum, sistein, tiokarbonat, molibden veya 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ü farklılaşmanın inhibisyonuyla ilişkilendiren hiçbir birleştirici teori mevcut değildir.

Vitamin D metabolitlerinin TD'deki olası etki mekanizması hakkında fikir verebilecek bir dizi araştırma yapılmıştır. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> biyolojik olarak en aktif metabolittir ve çeşitli genleri regüle eder. Büyüme plağı gelişimini normale döndürmek için yeme 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklenmesi gereksinimi endojen 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sentezine ilişkin normal mekanizmanın genç broilerler için uygun olmayabileceğini düşündürmektedir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün düşük plazma konsantrasyonları genotiplerde TD oluşumu ile ilişkili

bulunmamıştır ve yem katkısının plazma konsantrasyonlarının artışına neden olduğu gözlemlenmemiştir (Rennie vd. 1993). Bununla birlikte, TD'ye yatkınlığı daha yüksek olan suşta 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> konsantrasyonlarının düşük olduğu gösterilen bir suş farkı bildirilmiştir (Parkinson G vd. 1996). Bunun aksine, plazma 24,25-dihidroksivitamin D (24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) konsantrasyonları 1,25-D katkısı ile yükseltilebilir. Bu etki, endojen 1,25-D sentezini azaltan ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ü alternatif bir hidroksilasyon kanalına indirgeyen yemle 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> temini ile açıklanabilir. TD'nin önlenmesinin 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün bir etkisi ile ilgili olduğunu düşündürecek başka herhangi bir kanıt mevcut değildir.

Vitamin D reseptörü (VDR) birçok dokuda bulunmakla birlikte, TD lezyonu içindeki kondrositlerde VDR sayıları ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e olan afinitelerin azaldığı gösterilmiştir (Berry vd. 1996). 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, VDR kanalıyla hareket ederek gelişim yolunda yer alan bir dizi geni regüle eder ve ayrıca kendi reseptörünü regüle edebilir. TD'nin etyolojisinde defektif VDR'nin yer alması durumunda, bunun olumsuz sonuçlarının daha fazla 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> temini ile aşılması mümkündür.

Yukarıda belirtilen mekanizma, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün kondrositlerde lokal bir etki göstermesini gerektirir. In vivo hücre araştırmaları, normal kondrosit farklılaşması sürecindeki yavaşlamanın TD'ye neden olduğunu ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün bu süreci stimüle ederek etki gösterdiğini düşündürmektedir (Farquharson vd. 1993). Bununla birlikte, TGF-β üretimi üzerinde bazı etkiler bildirilmişse de (Farquharson vd. 1996a), in vitro çalışmalar, vitamin D metabolitlerinin kondrosit farklılaşması hızının stimüle edilmesi üzerindeki direkt etkilerini gösterememiştir. Farklılaşmayı arttıran ve kalselik özellikleri azaltan vitamin D analoglarının, TD'nin önlenmesi üzerinde etki göstermedikleri saptanmıştır (Farquharson vd. 1996b). Dolayısıyla, bu aşamada 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'nin TD'yi kondrositlerin kendileri üzerine doğrudan bir etkiyle mi, yoksa belki de kalsiyum metabolizmasını ilgilendiren daha sistemik bir mekanizma ile mi önlediğini söylemek mümkün değildir.

Askorbik asidin 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile olası sinerjik etkisi kanalıyla gösterdiği etki mekanizması hala belirsizdir. Askorbik asidin 25OHD<sub>3</sub>'ü 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e dönüştüren

1-hidroksilaz enzimi üzerinde stimüle edici bir etkisi olduğu ileri sürülmüştür (Weiser vd. 1988). Ancak, diğer in vitro ve in vivo deneylerde, askorbik asidin 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretimini stimüle ettiği, ancak 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üretimini stimüle etmediği saptanmıştır (Berry vd. 1994). Bu bulgular 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ün TD'de bir rol oynayabileceği olasılığını ortaya koymuş olmakla birlikte, bu metabolitin yemle verilmesine yanıt alınmaması, durumun böyle olmadığını düşündürmektedir. Bu bağlamda, askorbik asidin kondrosit farklılaşmasını in vitro olarak stimüle ettiğini belirtmek ilginç olacaktır. Bu etkisini intrasellüler matriksin temel bir parçasını oluşturan kollajenin çapraz bağlantısı kanalıyla gösterdiği düşünülmüştür. Kondrositler ve bunları çevreleyen matriks arasındaki etkileşimler kondrosit farklılaşma sürecinin tümü açısından yaşamsal öneme sahiptir. Dolayısıyla, bu durum askorbik asidin, TD üzerindeki etkisini 1,25-D'den bağımsız olmakla birlikte bu metabolitin hücrel etkilerini tamamlayan bir hücrel matriksi içeren bir mekanizma ile göstermesi olasılığını doğurmaktadır.

25OHD<sub>3</sub>'ün, TD'nin önlenmesindeki metabolik rolü belirsizdir. Bu molekül doğal olarak oluşan ve civciv serumundaki vitamin D bağlayıcı proteinle güçlü bir bağ oluşturan bir metabolittir (Edeistein vd. 1972, 1973). Ayrıca, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'ünkünden çok daha düşük bir afiniteyle olsa da VDR'ye de bağlandığı bilinmektedir (Skowronski vd. 1995). Bununla birlikte, 25OHD<sub>3</sub>'ün daha yüksek fizyolojik konsantrasyonlarda mevcut olması, TD gelişimiyle ilgili olabilecek  $\beta$  büyüme faktörünün dönüşümüyle ilgili gen gibi, vitamin D'ye yanıt veren genlerin aktive edilmesi için VDR'ye yeterli düzeyde bağlanmanın gerçekleşmesiyle sonuçlanabilir (Loveridge vd 1993, Farquharson vd. 1994). Alternatif olarak, 25OHD<sub>3</sub>'ün yüksek fizyolojik konsantrasyonları TD'nin hafifletilmesinde rölâtif olarak daha güçlü olduğu gösterilmiş olan 1-hidroksilatlı metabolitlerin endojen sentezini uyarabilir. Civcivlerdeki büyüme plağı kondrositlerinin 25OHD<sub>3</sub>'ü 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e değil, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>'e metabolize ettikleri gösterilmiş olduğundan, bu sentez meydana geldiği takdirde, sistemik düzeyde olması gerekir (Farquharson vd. 1995).

### 3. MATERYAL VE METOD

Broiler civcivlerde ticari bir vitamin D kaynağı olan HyD (% 1.25 25OHD<sub>3</sub>, DSM) ve mikrobiyal bir fitaz olan Ronozyme P (6-Phytase, E.C. 3.1.3.26, DSM) enziminin standart ve düşük Ca ve P seviyelerinde büyüme, büyüme hızı, yem dönüşüm oranı ve tibia kırılma direnci üzerine etkilerini araştırmak üzere bir deneme düzenlenmiştir. Hayvan materyali olarak Ross 308 ırkı erkek cinsiyetli 560 adet bir günlük civciv kullanılmıştır ve deneme 42 gün sürmüştür.

Çalışmada tamamen şansa bağlı deneme metodu seçilmiş, her muamele 8 tekrar olacak şekilde 7 muamele uygulanmıştır. Muameleler Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

#### 3.1. Muameleler

M1 - Negatif kontrol (Standart Ca ve P ile düşük seviyede Vitamin D<sub>3</sub> içeren bazal rasyon)

M2 – Pozitif kontrol (Standart Ca ve P ile standart seviyede Vitamin D<sub>3</sub> içeren bazal rasyon)

M3 – Negatif kontrol + 62.5 µg/kg yem HyD

M4 – Düşük seviyede Ca ve P içeren bazal rasyon

M5 – Düşük seviyede Ca ve P ve Vitamin D<sub>3</sub> içeren bazal rasyon + 62.5 µg/kg yem HyD

M6 - Düşük seviyede Ca ve P ve Vitamin D<sub>3</sub> içeren bazal rasyon + 62.5 µg/kg yem HyD + 750 FYT/kg Ronozyme P

M7 - Düşük seviyede Ca ve P ve standart seviyede Vitamin D<sub>3</sub> içeren bazal rasyon + 750 FYT/kg Ronozyme P

Muameleleri oluşturan deneme yemleri % 1.1 Ca ve % 0.50 hazmolabilir P içeren başlatma yemi (% 23 ham protein ve 3050 kcal/kg ME) halinde civcivlere ilk 21 gün ve % 0.90 Ca, % 0.45 hazmolabilir P içeren bitirme yemi (% 20 ham protein ve 3200 Kcal/kg ME) halinde sonraki 21 günlük peryotlar halinde toplam 42 gün süreyle

broiler civciv ve piliçlere yedirilmiştir. Muamelelerin Ca, hazmolabilir P, Vitamin D<sub>3</sub>, HyD ve fitaz içerikleri bakımından başlatma ve bitirme rasyonlarına dağılımları Çizelge 3.1.'de yer almaktadır. HyD 3, 5 ve 6 numaralı muamelelerde azaltılan vitamin D<sub>3</sub>'ü ikame etmek üzere başlangıç yemine 62.5 µg/kg, bitirme yemine de 50 µg/kg dozunda katılmıştır. HyD aktivitesi 1 µg 25OHD<sub>3</sub>=40 IU vitamin D<sub>3</sub> eşitliğine göre hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.1.** Muameleler

Muameleler	Başlangıç					Bitirme				
	Ca	H. P	D <sub>3</sub>	HyD	Fitaz	Ca	H. P	D <sub>3</sub>	HyD	Fitaz
	%	%	IU/kg	µg/kg	FTU/kg	%	%	IU/kg	µg/kg	FTU/kg
M1 - Kontrol	1.10	0.50	2500	0	0	0.90	0.45	2000	0	0
M2 +Kontrol	1.10	0.50	5000	0	0	0.90	0.45	4000	0	0
M3	1.10	0.50	2500	62.5	0	0.90	0.45	2000	50	0
M4 -Kontrol	0.75	0.375	5000	0	0	0.65	0.325	4000	0	0
M5	0.75	0.375	2500	62.5	0	0.65	0.325	2000	50	0
M6	0.75	0.375	2500	62.5	750	0.65	0.325	2000	50	750
M7	0.75	0.375	5000	0	750	0.65	0.325	4000	0	750

H. P= Hazmolabilir fosfor, Ca= Kalsiyum

Bilgisayarda özellikleri yukarıda açıklanan rasyon formülasyonlarına göre deneme yemlerinin hammadde ve kimyasal yapıları düzenlenmiş ve çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. Deneme yemleri ağırlıklı olarak soya ve mısırdan oluşmaktadır. Hammaddeler Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü deneme ünitesinde bulunan 3 mm.'lik çekiçli değirmende kırılmış, daha sonra 200 kg kapasiteli mikserde karıştırılmıştır. HyD, Ronozyme P, DL-Metiyonin, L-Lisin ve Vitamin+Mineral premiksi önce 1 kg öğütülmüş mısırla iyice karıştırılarak bir ön karışım elde edilmiş, daha sonra 4 kg'lık öğütülmüş mısıra ilave edilerek katkı maddeleri premiksi halinde mikserdeki diğer hammaddeler üzerine dökülerek yaklaşık 10 dk. süreyle karıştırılmıştır.

### 3.1. Deneme Ünitesi ve Civciv Büyütme

Bir günlük civcivler 3 katlı broiler kafeslerine her bölmeye 10 hayvan düşecek şekilde rastgele dağıtılmışlardır. Deneme kafesleri tel ızgara zeminli ve dışkı toplamaya

elverişli tablolardan oluşmaktadır ve damla tipi suluk içermektedir. Yemlikler ise yem saçımını önleyecek tarzda tasarlanmıştır.

Yemleme ve sulama ad libitum uygulanmıştır. 24 saat ışık uygulaması yapılmıştır. Isıtma için radyan ısıtıcı kullanılmış ve deneme ünitesi sıcaklığı 30<sup>0</sup>C'den 25<sup>0</sup>C'ye kadar her hafta 2,5 <sup>0</sup>C düşecek şekilde uygulanmıştır.

**Çizelge 3.2.** Deneysel bazal diyetler

	Başlangıç		Bitirme	
	M (1, 2, 3)	M (4, 5, 6, 7)	M (1, 2, 3)	M (4, 5, 6, 7)
Mısır	47.60	50.17	55.89	57.86
Soya küspesi-48	28.19	27.71	20.67	20.32
Tam yağlı soya	15.00	15.00	15.00	15.00
Soya yağı	4.54	3.70	5.01	4.32
DCP	2.028	1.328	1.325	0.752
Mermer tozu	1.544	0.989	1.356	1.00
Tuz	0.340	0.341	0.345	0.346
*Vit+Min premiksi	0.250	0.250	0.250	0.250
DL- Methionine	0.376	0.373	0.154	0.152
L-Lysine HCl	0.132	0.139	-	-
<b>TOPLAM</b>	<b>100 kg</b>		<b>100 kg</b>	
<b>Analiz değerleri</b>				
ME, kcal/kg	3050	3050	3200	3200
Protein,%	22	22	19	19
Ca, %	1.00	0.75	0.90	0.65
P kullanılabilir., %	0.50	0.375	0.45	0.325
Na, %	0.16	0.16	0.16	0.16
Arginine, %	1.50	1.50	1.30	1.30
Lysine, %	1.38	1.38	1.10	1.10
Methionine, %*	0.50	0.50	0.45	0.45
Met+Cys, %	0.71	0.71	0.80	0.80
Threonine, %	0.86	0.86	0.76	0.76
Tryptophan, %	0.26	0.26	0.23	0.23

\* 1 Kg yemde: Vitamin A 12.500 IU, Vitamin D<sub>3</sub> (Başlangıç yemi: M1, M3, M5, M6 =2.500 IU; M2, M4, M7 =5.000 IU; Bitirme yemi: M1, M3, M5, M6 = 2.000 IU; M2, M4, M7 = 4.000 IU), Vitamin E 100 mg, Vitamin K<sub>3</sub> 3 mg, Vitamin B<sub>1</sub> 3 mg, Vitamin B<sub>2</sub> 8 mg, Vitamin B<sub>6</sub> 6 mg, Vitamin B<sub>12</sub> 0.025 mg, Niasin 40 mg, Folik Asid 1.5 mg, Kalsiyum D-Pantetonat 15 mg, D-Biotin 0.15 mg, Kolin klorid 125 mg, Demir 60 mg, Bakır 5 mg, Manganez 80 mg, Kobalt 0.2 mg, Çinko 60 mg, İyot 1 mg, Selenyum 0.15 mg.

Beslemede ilk 21 günlük 1. periyotta başlangıç yemi, 22-42 günler arasındaki 2. periyotta ise bitirme yemi yedirilmiştir. Cıvcıvler haftalık olarak tartılmış ve her hafta yemliklerde artan yem tartılarak haftalık yem tüketimi saptanmıştır. Ölen cıvcıvler günlük kaydedilmiş olup yem dönüşüm oranı (YDO) bir ünite de bulunan hayvanlara ait yem tüketimi canlı ağırlıklarına oranlanarak belirlenmiştir. Ölenlerin ağırlıkları belirlenip YDO katsayısı düzeltilmiştir.

### **3.3. Kan Analizleri**

Farklı Ca, P ve Vitamin D<sub>3</sub> seviyelerinde HyD ve/veya fitaz uygulamalarının kan plazma Ca ve P seviyelerine etkilerini gözlemleyebilmek için 21. gün her tekrar grubundan 2 ve her muameleden 16 hayvandan olmak üzere toplam 112 hayvandan kan örneği alınmıştır. Kan örnekleri her hayvanın kanat altı venasından (Vena subcutanea ulnaris) Venoject 16x100 mm silicone jelli tüplere alınmış ve 3000 devir/dakika'da 10 dk. santrifüj edilerek plazmalar elde edilmiştir. Elde edilen plazmalarda fosfor tayini için fotometrik UV prensibi ile çalışan D1P10-125 test kiti kullanılmıştır. Spektrofotometre'de 20-25<sup>0</sup>C reaksiyon ısısı ve 340 nm dalga boyunda P ölçümleri yapılmıştır. Kalsiyum tayini için de fotometrik UV prensibi ile çalışan D1C05-125 test kiti kullanılmış, ölçümler spektrofotometre'de 20-25<sup>0</sup>C reaksiyon ısısı ve 550-590 nm dalga boyunda yapılmıştır.

### **3.4. Kemik Kırılma Analizleri**

Kemik mineralizasyonun bir göstergesi olarak tibiotarsus kırılma direnci ve elastikiyeti üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla 27.günde her muamele grubundan 21 adet hayvan kesilerek öldürülmüş ve sağ tibiaları diseksiyonla ayrılarak analiz için işaretlenmiştir. İşaretlendirilerek sınıflandırılan sağ tibia örnekleri İspanya'da bulunan IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries) enstitüsünde "Universal MTS Alliance RT/5" cihazı (Şekil 3.1.) kullanılarak 5000 Newton yükte kırılma ve elastikiyet parametreleri yönünden analize tabi tutulmuştur.



### 3.5. İstatistik Analiz

Her muamele 8 tekerrürlü olup her tekerrürde 10 civciv bulunmaktadır. Bu nedenle deneme deseni 7 muameleden oluşan tamamıyla şansa bağlı plana uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Toplanan verilerin istatistik analizleri SAS yazılımı kullanılarak ANOVA ve Duncan testi ile yapılmıştır.



Şekil 3.1. Universal MTS Alliance RT/5” cihazı

## 4. SONUÇLAR

### 4.1. 21 Günlük Performans Sonuçları

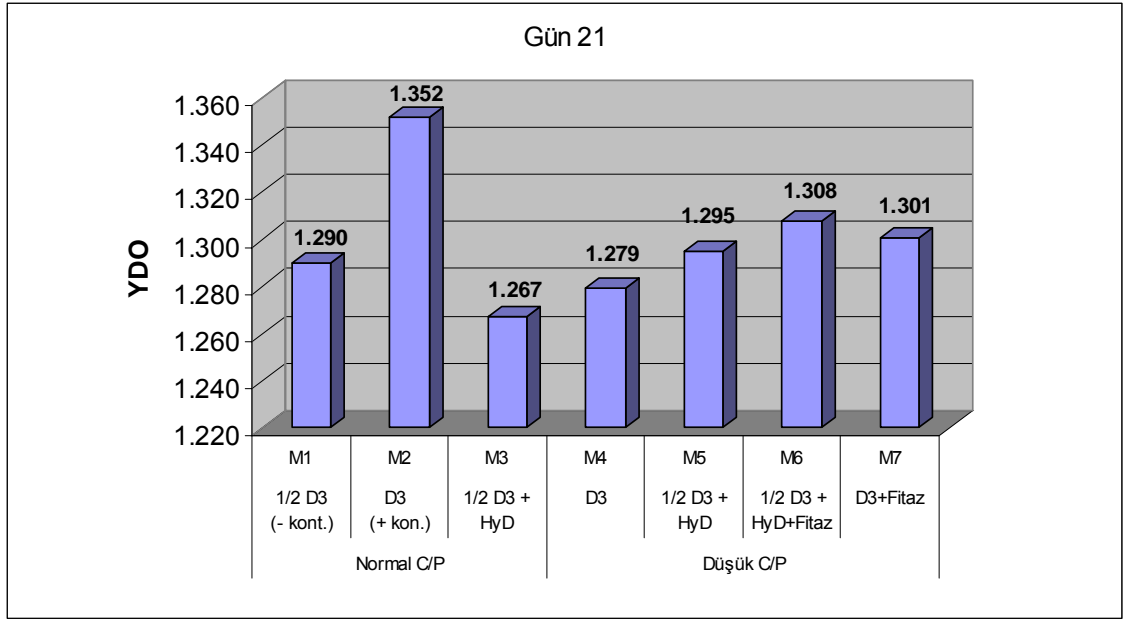
21 günlük yaş için Duncan çoklu karşılaştırma testi ve muamelelerin etkisinin sonuçları Çizelge 4.1. ve YDO değerleri Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Denemeden elde edilen verilerin varyans analizi, farklı Ca, P, Vitamin D<sub>3</sub>, HyD ve Ronozyme P seviyelerinin 21 günlük yaşa kadar canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi ve YDO (g yem/g ağırlık kazancı) üzerine önemli bir etkisi olmadığını göstermiştir (p>0.05). Bununla beraber muameleler arasında numerik farklar oluşmuştur. Standart Ca ve P seviyesi ile düşük Vitamin D<sub>3</sub> + HyD uygulanan 3. muamelede en düşük YDO değeri elde edilmiştir. Bu gruptaki canlı ağırlık da en yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.1. 21 Günlük performans sonuçları

Muamele	YT-21	CA-21	YDO-21
1	848,7	658,4	1,290
2	887,2	660,6	1,352
<b>3</b>	<b>903,2</b>	<b>714,4</b>	<b>1,267</b>
4	910,1	711,8	1,279
5	898,8	695,9	1,295
6	873,8	668,7	1,308
7	897,0	690,0	1,301
SEM	9,049	7,993	0,012
p level	0,620	0,282	0,541

YT-21; 21. gündeki yem tüketimi, CA-21; 21. gündeki Canlı Ağırlık,

YDO-21; 21. gündeki yem dönüşüm oranı



**Şekil 4.1.** 21 Günlük YDO sonuçları

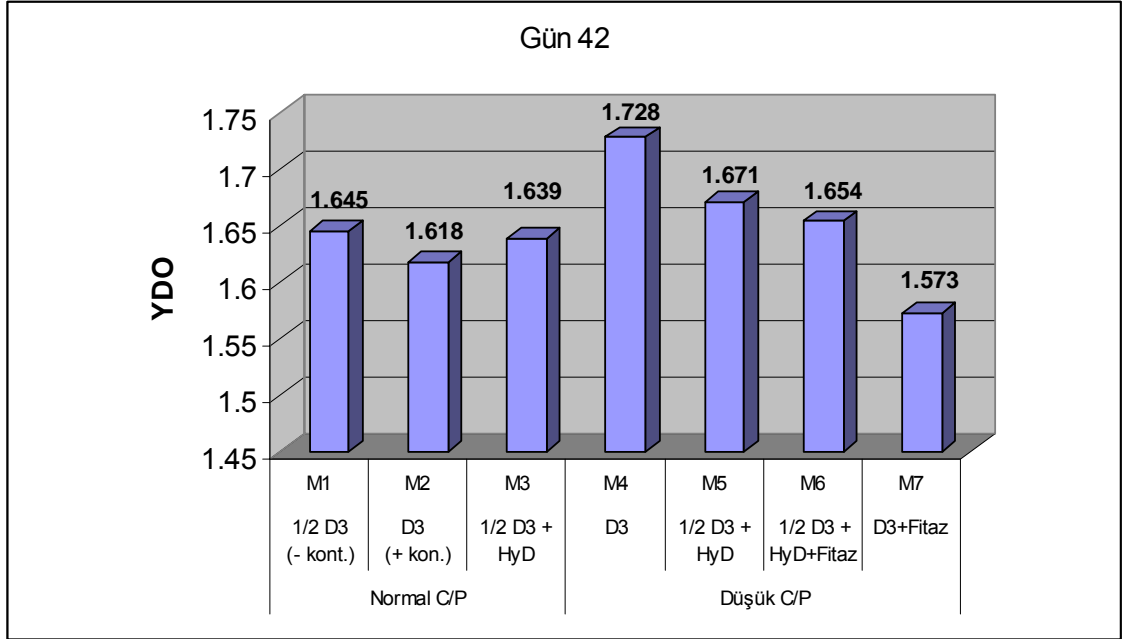
YDO= Yem dönüşüm oranı, (- kont.)=negatif kontrol, (+kon.)=pozitif kontrol

#### 4.2. 1-42 Günlük Performans Sonuçları

42 günlük yaş için Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ve muamelelerin etkisinin önemi Çizelge 4.2. ve Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Denemeden elde edilen verilerin varyans analizi, farklı Ca, P, Vitamin D<sub>3</sub>, HyD ve Ronozyme P seviyelerinin 42 günlük yaşa kadar canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi ve YDO (g yem/g ağırlık kazancı) üzerine önemli bir etkisi olmadığını göstermiştir ( $p>0.05$ ). Bununla beraber düşük Ca ve P seviyesi ile standart Vitamin D<sub>3</sub> + Ronozyme P uygulanan 7. muamelede 1.573 ile en düşük YDO değeri elde edilmiştir. Bunu sırası ile 1.618 ile pozitif kontrol grubu ve 1.639 ile ½ doz vitamin D<sub>3</sub> + HyD verilen 3 numaralı muamele izlemiştir.

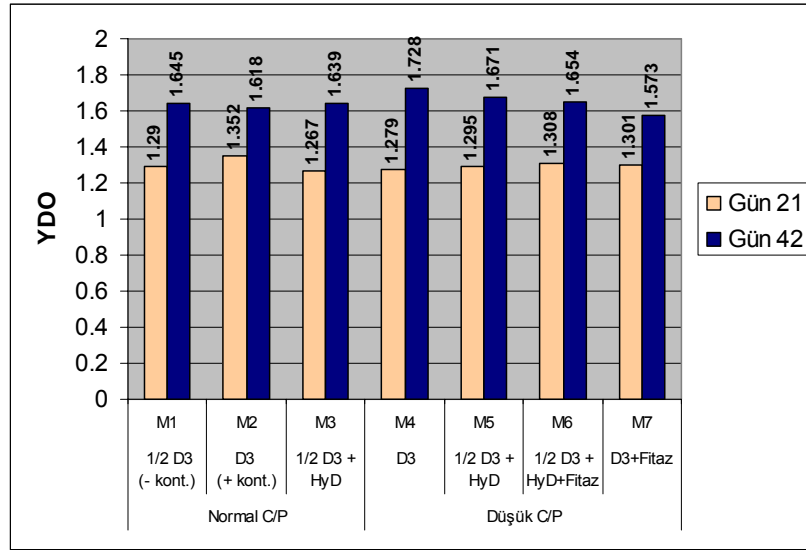
Çizelge 4.2. 1-42 Günlük performans sonuçları

Muamele	YT-42	CA42	YDO-42
1	3668,9	2240,3	1,645
2	3924,1	2438,7	1,618
3	3849,7	2354,5	1,639
4	4219,8	2464,9	1,728
5	3725,4	2241,9	1,671
6	3933,2	2381,0	1,654
7	<b>3861,6</b>	<b>2452,5</b>	<b>1,573</b>
SEM	66,2	43,4	0,017
p seviyesi	0,426	0,720	0,283



Şekil 4.2. 1-42 Günlük YDO değerleri

(- kont.)=negatif kontrol, (+kon.)=pozitif kontrol



Şekil 4.3. 1-21 ve 1-42 Günlük YDO değerleri (- kont.)=negatif kontrol, (+kont.)=pozitif kontrol

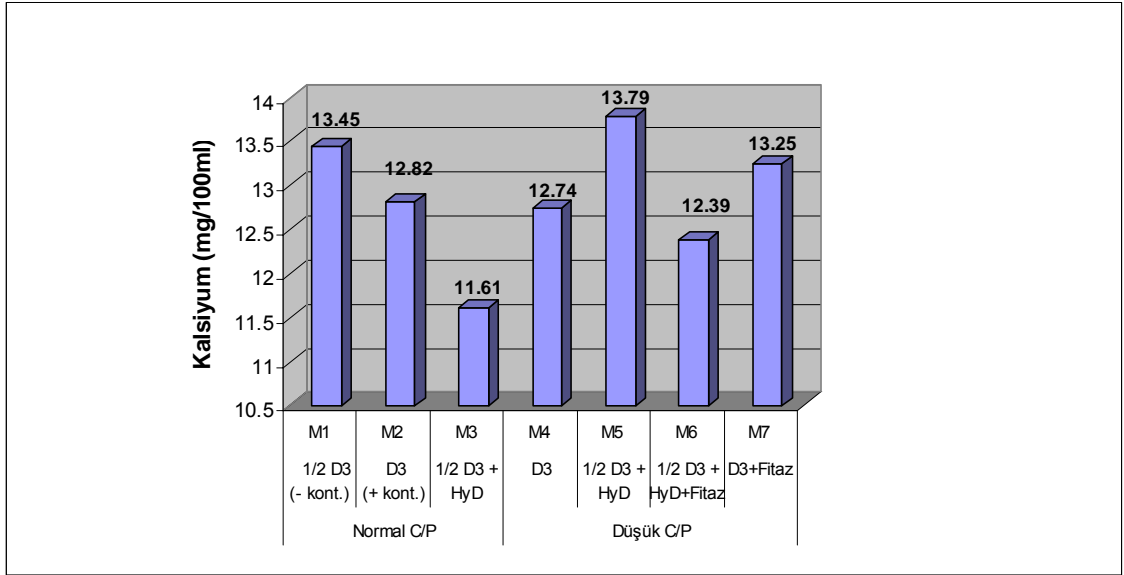
### 4.3 21.Günde Kan Plazmasındaki Ca ve P değerleri

21. günde alınan kan plazma örneklerinde Ca değerlerinde muameleler arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır. Bununla beraber düşük Ca, P ve ½ vitamin D<sub>3</sub>+HyD eklenen 5 numaralı muamelede kan Ca değeri en yüksek bulunmuş bunu negatif kontrol grubu izlemiştir. P değerleri açısından normal Ca, P ve Vitamin D<sub>3</sub> seviyeli 2 numaralı muamele istatistiki olarak diğerlerinden yüksek bulunmuştur. 21 günlük alınan kan örneklerinden elde edilen Ca ve P değerleri Çizelge 4.3., Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. 21. gün alınan kan örneklerindeki ortalama Ca ve P seviyeleri

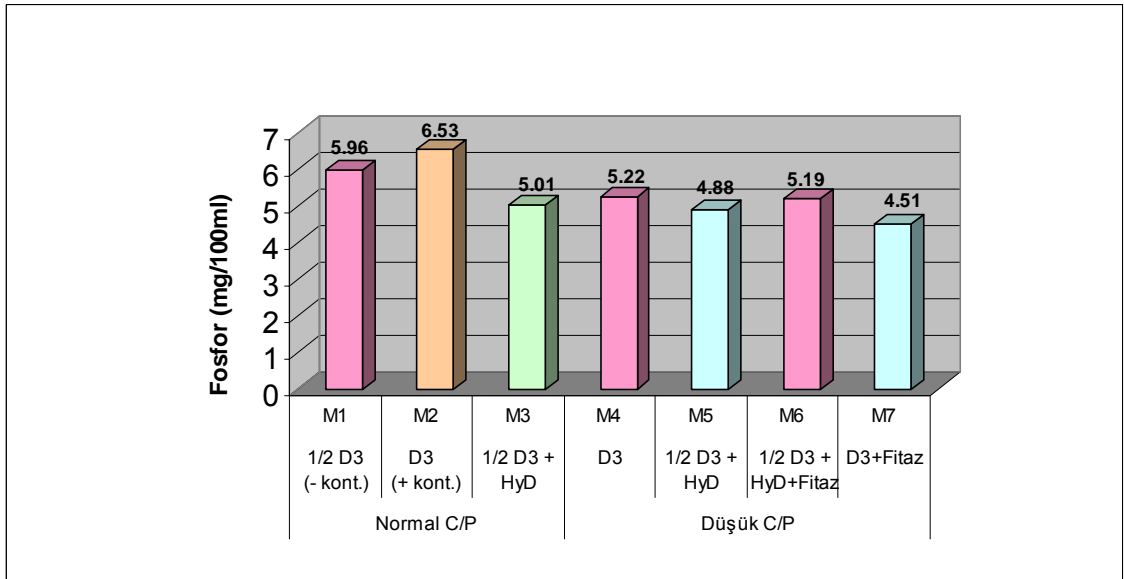
Muameleler	mg/100ml	
	Kalsiyum	Fosfor
1	13,45	5,96 ab
2	12,82	6,53 a
3	11,61	5,01 b
4	12,74	5,22 ab
5	13,79	4,88 b
6	12,39	5,19 ab
7	13,25	4,51 b
p seviyesi	0,80	0,06

a,b, ab ; farklı üstsimgelerle belirtilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır (p<0.06) .



Şekil 4.4. 21. günde kan Ca seviyeleri

(- kont.)=negatif kontrol, (+kont.)=pozitif kontrol



Şekil 4.5. 21. günde kan P seviyeleri

(- kont.)=negatif kontrol, (+kont.)=pozitif kontrol

#### 4.4 Kemik Kırılabilirlik ve Elastikiyet Testi Sonuçları

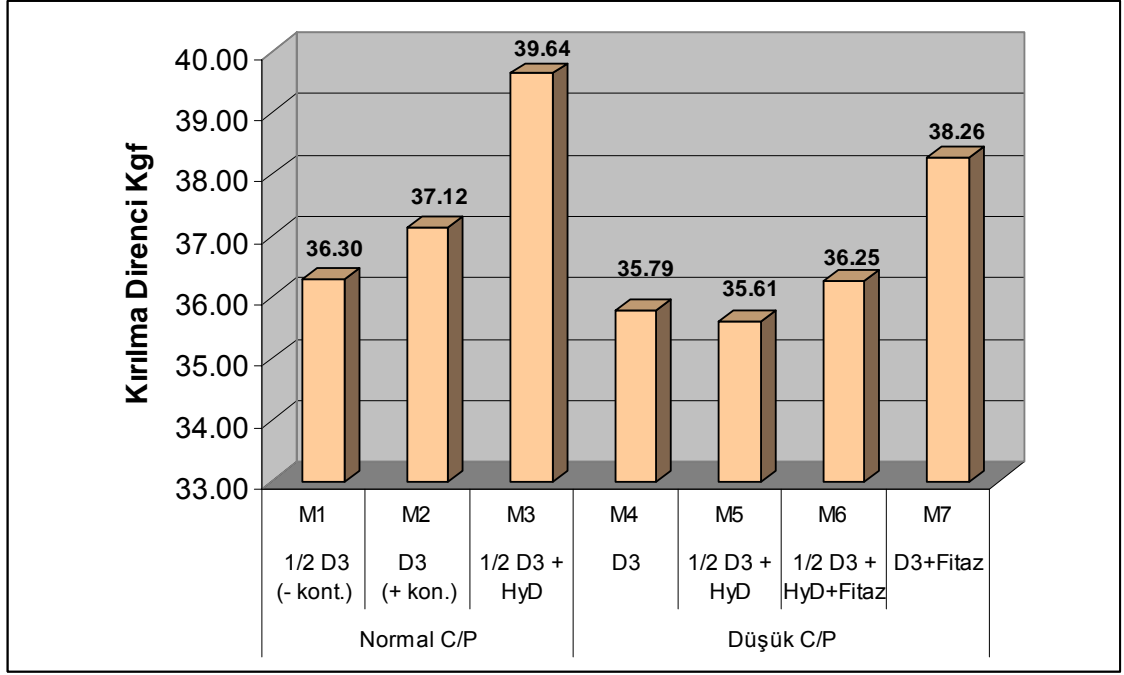
Toplanan sağ tibiaların kırılma dirençleri arasında istatistiki bir fark bulunmamış ancak esneklik açısından muamele 1, 2, 3 ve 7 muamele 4, 5 ve 6'dan farklı çıkmıştır. Kırılma direnci açısından istatistiki fark olmamakla beraber en yüksek kırılma direnci normal Ca ve P seviyesi ile düşük Vitamin D<sub>3</sub> + HyD uygulaması olan muamele 3'de görülmüştür. Aynı muamele grubundaki kemiklerin esnekliği de istatistiki olarak düşük Ca ve P seviyelerine sahip Muamele 4, 5 ve 6'dan farklı çıkmıştır.

Çizelge 4.4. Sağ tibiaların kırılabilirlik ve esneklik verileri

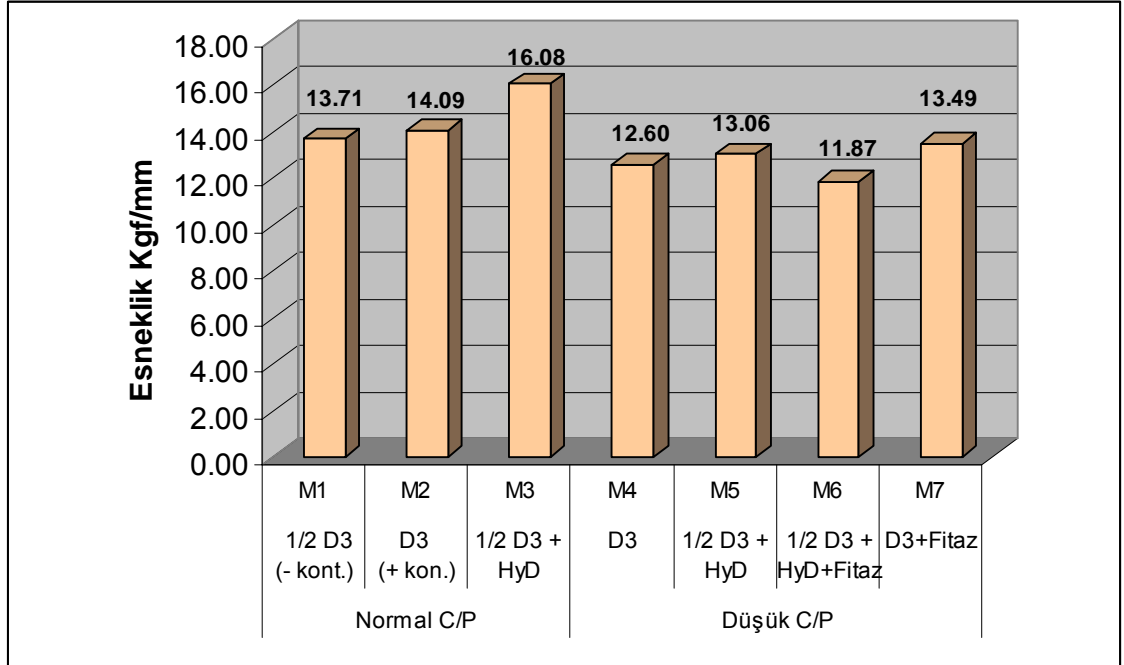
Muamele	Kırılma direnci (Kgf)			Esneklik (Kgf/mm)		
	Ortalama	Std. Sap.	CV (%)	Ortalama	Std. Sap.	CV (%)
M1	36.300	7.523	20.73	13.710 <sup>ab</sup>	4.442	32.40
M2	37.118	8.247	22.22	14.085 <sup>ab</sup>	4.120	29.25
M3	<b>39.635</b>	8.502	21.54	16.084 <sup>ab</sup>	4.646	28.88
M4	35.788	10.131	28.31	12.595 <sup>b</sup>	3.650	28.98
M5	35.606	8.061	22.64	13.062 <sup>b</sup>	3.181	24.35
M6	36.250	9.477	26.14	11.872 <sup>b</sup>	3.286	27.68
M7	38.257	7.301	19.08	13.493 <sup>ab</sup>	4.222	31.29
SEM	746.3			0.364		
p seviyesi	0.806			0.094		

b, ab ; farklı üstsimgelerle belirtilen değerler istatistiki olarak birbirinden farklıdır.

Bunu düşük Ca, P seviyesi ve standart Vitamin D<sub>3</sub>+ Ronozyme P içeren muamele 7 izlemiştir. Kemik esneklikleri bakımından standart Ca ve P seviyesine sahip Muamele 1, 2 ve 3 düşük Ca ve P seviyeli gruplardan iyi çıkmış ancak düşük seviyeli Ca ve P ve standart Vitamin D<sub>3</sub>+ Ronozyme P bulunan Muamele 7 istatistiki olarak ilk 3 muameleden farklı çıkmamıştır.



**Şekil 4.6.** Tibia kırılma direnci verileri  
(- kont.)=negatif kontrol, (+kon.)=pozitif kontrol



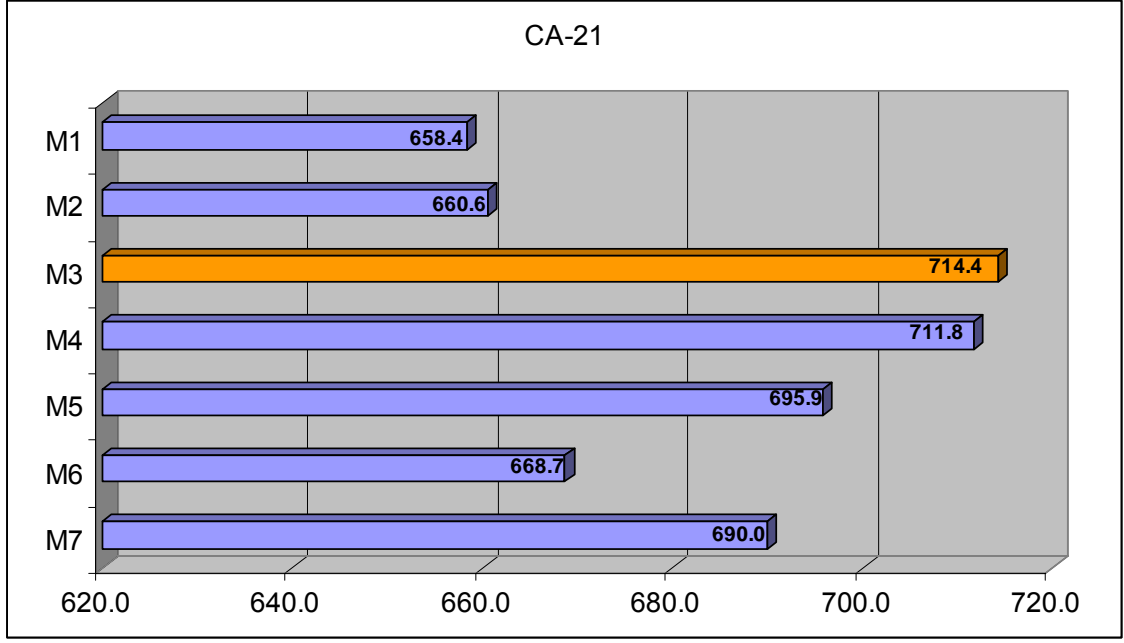
**Şekil 4.7.** Tibia esneklik verileri  
(- kont.)=negatif kontrol, (+kon.)=pozitif kontrol



## 5. TARTIŞMA

Denemeden elde edilen veriler neticesinde canlı ağırlık kazancı ve yem dönüşüm oranı bakımından gerek 21. günde gerekse 42. günde muameleler arasında istatistiki bir fark görülmemiştir. Bununla beraber 21. günde 3 numaralı muamelede vitamin D'nin yarı yarıya 25OHD<sub>3</sub> ile ikame edilmesi ile en düşük YDO değeri elde edilmiştir. Fakat bu rakamsal farklılık 42. gün performans değerlendirmelerinde ortadan kalkmıştır. 42. günde ise düşük Ca, P ve standart vitamin D<sub>3</sub> üzerine fitaz ilavesi yapılan 7 numaralı muamele rakamsal olarak en iyi değeri vermiştir.

Waldrop ve ark. (2000) azaltılmış P seviyeli ve fitaz destekli yem ile beslenen broylerlere vitamin D<sub>3</sub> ve 25OHD<sub>3</sub> verilmesi ile ortaya çıkan performans parametrelerini araştırmış ve 25OHD<sub>3</sub>'ün metabolik olarak daha potent olduğunu bildirmişlerdir. Ancak farklılıklar esas olarak düşük vitamin D takviyesi düzeyindeki broilerlerde performans ve kemik gelişimi üzerinde görülmüştür. Schoner (1993) ve Sebastian (1996) kanatlılarda düşük kalsiyum düzeylerinde büyümede ve mineral kullanımında artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Fritts ve Waldroup (2003) 25OHD<sub>3</sub> ile beslenen hayvanların 21 ve 42. günde belirgin derecede daha yüksek canlı ağırlığa sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ward (1995) 25OHD<sub>3</sub> eklenmiş diyetlerle beslenen broilerlerde vitamin D<sub>3</sub> ile beslenenlere kıyasla anlamlı bir artış sağlamıştır. Bu bulgu daha önceki araştırmalarla da tutarlıdır (McNutt ve Haussler 1973, Cantor ve Bacon 1978, Yarger vd. 1995b). Yarger ve ark (1995a) ve Roberson (1995) in yaptığı çalışmalarda 25OHD<sub>3</sub> verilmesiyle YDO'da çok az fark yada bir artış görülmektedir. Bu çalışmada da 25OHD<sub>3</sub> eklenmesi ile 21. günde numerik olarak en yüksek değer elde edilmiştir (Şekil 4.8.). Bununla beraber bu fark 42. günde gözlenmemiştir. Bu çalışmada Ward (1995) ve Fritts ile Waldroup'un (2003) yaptığı çalışmaların sonuçlarından farklı olarak 25OHD<sub>3</sub> gruplarında istatistiki olarak canlı ağırlık ve yem dönüşüm oranlarında farklılık çıkmamış olması kullanılan vitamin D<sub>3</sub> seviyelerinin yeterli olmasına bağlanabilir. Nitekim Waldroup ve ark. (2000) 25OHD<sub>3</sub>'ün metabolik olarak daha potent olduğunu fakat farklılıkların esas olarak düşük vitamin D takviyesi seviyesinde gözlendiğini bildirmişlerdir.



Şekil 4.8. 21. gündeki canlı ağırlık

Bu çalışmada standart ve düşük Ca, P, vitamin D<sub>3</sub>'lü yemlere 25OHD<sub>3</sub> ve fitaz eklenmesinin etkileri 21. günde kandaki Ca ve P seviyelerine bakılarak da incelenmiştir. 21. günde alınan kan örneklerinde Ca seviyesi, düşük Ca ve P ve ½ vitamin D<sub>3</sub> + HyD eklenen muamele 5'de en yüksek çıkmış ancak bu istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Aksakal ve Bilal (2002) farklı seviyelerde Ca içeren broiler diyetlerine mikrobiyal fitaz ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklendiği durumlardaki Ca emilimini incelemişler ve gerek Ca/P oranı 1:1 olan grupta gerekse 2:1 olan grupta 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklenmesi Ca emilimini eklenmeyen gruba göre anlamlı olarak artırırken yine her iki grupta 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ile beraber fitaz eklenmesinin sinerjik etki yarattığını ve Ca emiliminin tüm diğer gruplardan istatistiki olarak yüksek çıktığını bildirmişlerdir. Shafey ve ark. (1990) kan kalsiyum konsantrasyonlarının yüksek hazmolabilir P ile beslenen kanatlılarda daha düşük olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise düşük Ca ve P seviyelerinde 25OHD<sub>3</sub> ve fitaz'ın birlikte kullanımının kan Ca seviyeleri üzerine sinerjik bir etkisi gözlenmemiştir. Bununla birlikte P seviyeleri incelendiğinde (+) kontrol grubu en yüksek ve diğer gruplardan istatistiki olarak farklı bulunmuştur. Edwards (2002), azaltılmış Ca ve P seviyeli broiler yemlerine 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklenmesinin plazma P seviyesini artırdığını bildirmiştir. Bu çalışmada ise azaltılmış Ca

ve P grubuna 25OHD<sub>3</sub> eklenmesiyle kan plazma seviyesinde bir artış gözlenmemiştir. Bu sonuç Edwards (1999) tarafından yeme 5µg/kg 25OHD<sub>3</sub> eklenmesiyle fosfor emiliminde tutarlı bir artış bulunmadığı bildirilen çalışma ile paralellik göstermektedir. Diğer taraftan 25OHD<sub>3</sub> eklenmesi ile P emilimindeki artışı gösteren çeşitli çalışmalar da vardır (Angel 2001a, Applegate 2000). Applegate (2000) 210 mcg/kg 25OHD<sub>3</sub> eklenmesi ile 7-21 günlük broylerlerde fosfor emiliminde % 0.065'lik artış gözlemlemişken bir başka çalışmasında 8-22 günlük broylerlerde bir değişiklik gözlemleyememiştir. Angel (2001a) 70 mcg/kg 25OHD<sub>3</sub> eklenmesi ile broilerlerde 12-21 gün arasında % 0.035'lik fosfor yararlanılılığında artış bildirmiştir.

Aynı araştırmacıların yaptığı farklı çalışmalarda 25OHD<sub>3</sub> ve/veya fitaz eklenmesinin performans parametreleri üzerinde farklı sonuçlar vermesi, her zaman paralel sonuçların alınamayabileceğini ve bu parametreleri etkileyen diğer unsurların da incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Düşük Ca, P ve vitamin D<sub>3</sub> seviyelerinde 25OHD<sub>3</sub> ve fitazın etkinliği tibia kırılma direnci ve esnekliği ölçülerek de incelenmiştir. Toplanan sağ tibiaların kırılma dirençleri arasında istatistiki bir fark bulunmamış ancak esneklik açısından muamele 1, 2, 3 ve 7 muamele 4, 5 ve 6'dan yüksek ve istatistiki olarak farklı çıkmıştır. Düşük Ca ve P seviyeli muamele 7'de fitaz eklenmesi ile kırılma direncinin pozitif kontrol'den yüksek çıktığı görülmüştür. Kırılma direnci açısından istatistiki fark olmamakla beraber en yüksek kırılma direnci normal Ca ve P seviyesi ile düşük Vitamin D<sub>3</sub> + HyD uygulaması olan muamele 3'de görülmüştür. Aynı muamele grubundaki kemiklerin esnekliği de istatistiki olarak düşük Ca ve P seviyelerine sahip Muamele 4, 5 ve 6'dan farklı çıkmıştır. Kocabağlı (2001) farklı seviyelerdeki fitaz ilavesinin Ca ve P yararlanılılığı üzerine etkisini morfolometrik indeksler ve tibiotarsus kırılma direnci ile ölçümlenmiş, ve fitaz ilavesinin broylerlerde kırılma direnci ve esnekliğini rakamsal olarak artırdığını bildirmiştir. Aynı çalışmada fitaz ilavesinin vücut ağırlığını da nümerik olarak artırdığını bildirilmiştir. Diyete fitaz ilavesinin broylerlerde kemik dayanıklılığını artırdığını mineralizasyonu desteklediğini bildirmiştir. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Fritts ve Waldroup (2003) farklı kaynak ve seviyelerdeki vitamin D kaynaklarının broylerlerde canlı performans ve

kemik gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada 25OHD<sub>3</sub> grubunun daha yüksek tibia külüne sahip çıktığını bildirmiştir. Daha yüksek tibia külü kemik kırılma direnci gibi mineralizasyonun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir ve bu çalışmadan elde edilen sonucu desteklediği söylenebilir. Benzer şekilde Edwards (2002), azaltılmış Ca ve P seviyeli broyler yemlerine 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> eklenmesinin plazma P seviyesini ve kemik külünü artırdığını göstermiştir. Bu sonuç araştırmacının daha önceki çalışmaları ile de paralellik göstermiştir (Edwards 1993, Mitchell ve Edwards 1996).

Değişik Ca, P ve vitamin D seviyelerinde vitamin D metabolitleri ve fitaz enzimi ile yapılan denemelerde performans parametreleri ve mineral absorpsiyonu yönünden bu yem katkılarının olumlu sonuçlar verdiği ve umut vaat ettiği gözlenmektedir. Bununla beraber bazı çalışmalarda tutarlı değişiklikler görülmemiştir. Bu çalışmada da bir vitamin D<sub>3</sub> metaboliti olan 25OHD<sub>3</sub> ile mikrobiyal fitaz eklenmesinin parametreleri rakamsal olarak etkilemekle beraber kemik esnekliği dışında istatistiki bir fark oluşturmadığı gözlenmiştir. Bunun temel sebeplerinden biri deneysel koşullarda verilen vitamin D seviyesinin yeterli olması olabilir. Diğer taraftan katılım oranı çok düşük olan vitamin D metabolitlerinin yemde homojen dağılımları yem analizleri ile kontrol edilmelidir. Ancak yemde oturmuş ve tutarlı bir analiz yönteminin olmaması bu işlemi zorlaştırmaktadır. Vitamin D metabolitleri ve fitaz enziminin birlikte etkinliği ile ilgili çalışmaların artması konunun aydınlanmasına yardımcı olacaktır.

## KAYNAKLAR

ANONYMOUS. Vitamins, one of the most important discoveries of the century. 5<sup>th</sup> revised ed., BASF Corporation. Mount Olive, New Jersey, USA, 2000.

AKIYOSHI-SHIBATA M, SAKAKI Y, OHYAMA Y, NOSHIRO M, OKUDA K, YABUSAKI Y. Further oxidation of hydroxycalcidiol by calcidiol 24-hydroxylase. *Eur J Biochem.* 224: 335-343, 1994.

AKSAKAL H ve BİLAL T. *Acta Veterinaria Hungarica.* 50(3): 307-313, 2002

ANDERSSON S, DAVIS DL, DAHLBACH H, JORNVALL H. Cloning, structure, and expression of the mitochondrial cytochrome P-450 sterol 26-hydroxylase, a bile acid biosynthetic enzyme. *J Biol Chem.* 264: 8222-8229, 1989.

ANGEL R, DHANDU AS, APPELEGATE TJ ve CHRISTMAN M. Phosphorus sparing effect of phytase, 25-hydroxycholecalciferol, and citric acid when fed to broiler chicks. *Poultry Sci.* 80(Suppl. 1): 133-134, 2001a.

ANGEL R, APPELEGATE TJ, CHRISTMAN M ve DHANDU M. Non-phytate phosphorus sparing effect of phytase and citric acid when fed to poults. *Poultry Sci.* 80(Suppl. 1): 134, 2001b.

APPELEGATE TJ ve LILBURN MS. Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poult. Sci.* 81: 1289-1294, 2002.

APPELEGATE TJ, ANGEL R ve CLASSEN HL. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. *Poultry Sci.* 82: 1140-1148, 2003.

ARMBRECHT HJ, WONGSURAWAT N, ZENSER TV, DAVIS BB. Differential effects of parathyroid hormone on the renal 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 24,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> production of young and adult rats. *Endocrinology.* 111: 1339-1344, 1982.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1990.

AXEN E, BERGMAN T, WIKVALL K. Microsomal 25-hydroxylation of vitamin D<sub>2</sub> and vitamin D<sub>3</sub> in pig liver. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 51: 97-106, 1994.

BAI Y ve COOK ME. Histological study of tibial dyschondroplasia- like lesion from light-type chicks fed cysteine-supplemented diets. *Avian Diseases*. 38: 557-562, 1994.

BAR A, SHARVIT M, NOFF D, EDELSTEIN S ve HURWITZ S. Absorption and excretion of cholecalciferol and of 25-hydroxycholecalciferol and metabolites in birds. *J. Nutr.* 110: 1930-1934, 1980.

BAR A, EDELSTEIN S, EISNER U, BEN-GAL I, ve HURWITZ S. Cholecalciferol requirements of young turkeys under normal conditions and during recovery from rickets. *J. Nutr.* 112: 1779-1786, 1982.

BARGER-LUX MJ, HEANEY R, LANSPA SJ, HEALY JC ve DE-LUCA HF. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J. Clin. Endocr. Met.* 80: 406-411, 1995.

BECKMAN MJ, GOFF JP, REINHARDT TA, BEITZ DC, HORST RL. In vivo regulation of rat intestinal 24-hydroxylase: Potential new role of calcitonin. *Endocrinology*. 135-1951-1955, 1994.

BECKMAN MJ, JOHNSON JA, GOFF JP, REINHARDT TA, BEITZ DC, HORST RL 1995 The role of dietary calcium in the physiology of vitamin D toxicity. Excess dietary vitamin D<sub>3</sub> blunts parathyroid hormone induction of kidney 1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys*. 319(2):535-9, 1995.

BECKMAN MJ, TADIKONDA P, WERNER E, PRAHL J, YAMADA S, DE-LUCA HF. Human 25-hydroxyvitaminD<sub>3</sub> 24-hydroxylase, a multicatalytic enzyme. *Biochemistry*. 35: 8465-8472, 1996.

BELL NH, EPSTEIN S, SHAREY J ve SHAW S. Evidence of a probable role for 25-hydroxyvitamin D in the regulation of human calcium metabolism. *J. Bone and Mineral Res.* 3: 489-495, 1988.

BERRY JL, FARQUHARSON C, WHITEHEAD CC ve MAWER EB. Vitamin D metabolism by normal and dyschondroplastic chondrocytes in culture. Proceedings of Ninth Workshop on Vitamin D, 202 S. Orlando, USA, 1994.

BERRY JL, FARQUHARSON C, WHITEHEAD CC ve MAWER EB. Growth plate chondrocyte vitamin D receptor number and affinity are reduced in avian tibial dyschondroplastic lesions. *Bone*. 19: 197-203, 1996.

BESD-BİR. [www.besd-bir.org](http://www.besd-bir.org), 2005.

BHATTACHARYYA MH, DE-LUCA HF. The regulation of rat livercalciferol-25-hydroxylase. *J Biol Chem.* 248: 2969-2973, 1973.

BIEHL RR, ve BAKER DH. Utilization of phytate and nonphytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D<sub>3</sub>. *J. Anim. Sci.* 75: 2986-2993, 1997b.

BIEHL RR ve BAKER DH. 1 $\alpha$ -Hydroxycholecalciferol does not increase the specific activity of intestinal phytase but does improve phosphorus utilization in both cecectomized and sham-operated chicks fed cholecalciferol-adequate diets. *J. Nutr.* 127: 2054-2059, 1997a.

BLUNT JW, DE-LUCA HF, SCHNOES HF. Biological activity of vitamin D metabolite. *Arch Biochem Biophys.* 120:508-512, 1967.

BORDIER P, RASMUSSEN H, MARIE P, MIRAVET L, GUENS J, RYCK-WAERT A. Vitamin D metabolism and bone mineralization in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 46: 284-294, 1978.

BOYLE IT, MIVAVET L, GRAY RW, HOHCK MF, DE-LUCA HF. The response of intestinal calcium transport to 25 hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D in nephrectomized rats. *Endocrinology.* 90: 605-608, 1972.

BRAUN F. Der EinfluB von Gaile auf die intestinale Kalzium- und Vitamin D-Absorption. *Wiener Klin. Wochen.* 98: (Suppl 166) 3-23, 1986.

BROZ J, OLDALE P, PERRIN-VOLTZ AH, RYCHEN G, SCHULZE J, NUNES CS. Effect of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization in broiler chickens fed a low phosphorus diet without the addition of inorganic phosphates. *British Poultry Science.* 35: 273-280, 1994.

CANTERBURY JM, LERMAN S, CLAFLM AJ, HENRY H, NORMAN A, REISS E. Inhibition of parathyroid hormone secretion by 25-hydroxycholecalciferol and 24,25-dihydroxycholecalciferol in the dog. *J Clin Invest.* 78: 1375-1383, 1977.

CANTOR AH ve BACON WL. Performance of caged broilers fed vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Poultry Sci.* 57: 1123-1124, 1978.

CAREW LB, MACHEMER RH, SHARP RW ve ROSS DC. Fat absorption by the very young chick. *Poult. Sci.* 51:738-742, 1972.

CARLOS AB ve EDWARDS HM Jr. The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytate phosphorus utilization by laying hens. *Poultry Sci.* 77: 850-858, 1998.

CHEN KS, DE-LUCA HF. Cloning of the human  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D-3 24-hydroxylase gene promoter and identification of two vitamin D-responsive elements. *Biochim Biophys Acta.* 1263: 1-9, 1995.

COLLINS ED ve NORMAN AW. Vitamin D. S: 59-98, 1991. [Handbook of Vitamins. MACHLIN LJ, Marcel Dekker, New York, NY.]

COMBS GE Jr. Vitamin D in The Vitamins, 2nd ed., Academic Press, New York, 1998.

COMPSTON JE, MERRETT AL, HAMMETT FG ve MAGILL P. Comparison of the appearance of radio labeled vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the chylomicronfraction of plasma after oral administration in man. *Clin. Sci.* 60: 241-243, 1981.

DAVIES M, MAWER EB, KRAWITT EL. Comparative absorption of vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in intestinal disease. *Gut.* 21: 287-292, 1980.

DE-LUCA HF. Vitamin D The vitamin and the hormone. *Fed Proc.* 33: 2211-2219, 1974.

DENBOW DM, RAVINDRAN V, KORNEGAY ET, YI Z, HULET RM. Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. *Poultry Science.* 74:1831-1842, 1995.

EDELSTEIN S, LAWSON DEM ve KODICEK E. The transporting proteins of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in serum of chicks and other species. *Biochem. J.* 135: 417-426, 1973.

EDELSTEIN S, LAWSON DEM ve KODICEK, E. Separation of binding proteins for cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol from chick serum. *Biochimica et Biophysica Acta.* 270: 570-574, 1972.

EDELSTEIN S, LAWSON DEM ve KODICEK E. The transporting proteins of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in serum of chicks and other species. *Biochem. J.* 135: 417-426, 1973.

EDWARDS HM Jr., ve VELTMANN JR. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *J. Nutr.* 113: 1568-1575, 1983.



EDWARDS HM Jr. ve SORENSEN P. Effect of short fasts on the development of tibial dyschondroplasia in chickens. *J. Nutr.* 117: 194- 200, 1987.

EDWARDS HM Jr. The effect of dietary cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of disulfiram. *J. Nutr.* 119: 647-652, 1989.

EDWARDS HM Jr. Effects of different soybean meals on the incidence of tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *J. Nutr.* 115: 1005- 1015, 1985.

EDWARDS HM Jr. Efficacy of several vitamin D compounds in the prevention of tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *J. Nutr.* 120: 1054-1061, 1990.

EDWARDS HM Jr. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increases natural phytate phosphorus utilization in chickens. *J. Nutr.* 123: 657-577, 1993.

EDWARDS HM Jr. Studies on the efficacy of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. *Poultry Science.* 81: 1026-1031, 2002.

ECKHOUT W ve DE PAEPE M. The digestibility of three calcium phosphates for pigs as measured by difference and by slope-ratio assay. *J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr.* 77: 53-60, 1997.

FARQUHARSON C ve WHITEHEAD CC. Differentiation and mineralization in chick chondrocytes maintained in a high cell density culture: a model for endochondral ossification. *In vitro Cell Development Biology.* 31: 288-294, 1995.

FARQUHARSON C, BERRY JL, MAWER EB, SEAWRIGHT E ve WHITEHEAD CC. Regulators of chondrocyte differentiation in tibial dyschondroplasia : an in vivo and in vitro study. *Bone.* 17: 279-286, 1995.

FARQUHARSON C, LAW AS, SEAWRIGHT E, BURT DW ve WHITEHEAD CC. The expression of transforming growth factor- $\beta$  by cultured chick growth plate chondrocytes : differential regulation by 1,25-dihydroxyvitamin. *Dj. J. Endocrinol.*, 149: 277-285, 1996a.

FARQUHARSON C, RENNIE JS, LOVERIDGE N. ve WHITEHEAD CC. In vivo and in vitro effect of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxy-16-ene-23-yne-vitamin D<sub>3</sub> on the proliferation and differentiation of avian chondrocytes: their role in tibial dyschondroplasia. *J. Endocrinol.* 148: 465-474, 1996b.

FARQUHARSON C, SEAWRIGHT E. ve WHITEHEAD CC. Modulation of transforming growth factor p production in chick chondrocyte cultures by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Proceedings of Ninth Workshop on Vitamin D*, S: 53. Orlando, USA, 1994.

FARQUHARSON C, WHITEHEAD CC, RENNIE JS ve LOVERIDGE N. In vivo effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on the proliferation and differentiation of avian chondrocytes. *J. Bone and Mineral Research*. 8: 1081-1088, 1993.

FARQUHARSON C, WHITEHEAD CC, RENNIE JS, THORP BH ve LOVERIDGE N. Cell proliferation and enzyme activities associated with the development of avian tibial dyschondroplasia: an *in situ* biochemical study. *Bone*. 13: 59-67, 1992.

FAWC. Report on the Welfare of Broiler Chickens. Farm Animal Welfare Council. Surbition, 1992.

FRANCIS RM, PEACOCK M, STORER JH, DAVIES A, BROWN WB ve NORIN B. Calcium malabsorption in the elderly: The effect of treatment with oral 25-hydroxy vitamin D<sub>3</sub>. *Eur. J. Clin. Invest*. 13: 391-396, 1983.

FRITTS CA ve WALDROUP PW. Effect of source and level of vitamin D on live performance and bone development in growing broilers. *J. Appl. Poult. Res*. 12:45-52, 2003.

GILL C. Vitamin D metabolite versus MAS in broilers. *FeedInternational*. Volume 76, 4: 16-17, 2002.

GOFF JP, REINHARDT TA, BECKMAN MJ, HORST RL. Contrasting effects of exogenous 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] versus endogenous 1,25(OH)<sub>2</sub>D. induced by dietary calcium restriction, on vitamin D receptors. *Endocrinology*. 126(2): 1031-1035, 1990.

GOFF JP, REINHARDT TA, ENGSTROM GW, HORST RL. Effect of dietary calcium or phosphorus restriction and 1,25-dihydroxy-vitamin D administration on rat intestinal 24-hydroxylase. *Endocrinology*. 131: 101-104, 1992.

GRAY RW. Evidence that somatomedins mediate the effect of hypophosphatemia to increase serum 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> levels in rats. *Endocrinology* 121:504-512, 1987.

GRAY RW, WEBER HP, DOMINGUEZ JH, LEMANN J Jr. The metabolism of vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in normal and anephric humans. *J Clm Endocrinol Metabol*. 39: 1045-1056, 1974.

GUO Y-D, STRUGNELL S, BACK DW, JONES G. Transfected human liver cytochrome P-450 hydroxylates vitamin D analogs at different side-chain positions. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 90:8668-8672, 1993.

HADDAD JG. Competitive protein-binding radioassay for 25-OH-D; clinical applications. 1980 [NORMAN AW (ed.). *Vitamin D Molecular Biology and Clinical Nutrition*. Marcel Dekker Inc., New York, N.Y, USA]

HANAI H, LIANG CT, CHENG L, SACKTOR B. Desensitization to parathyroid hormone in renal cells from aged rats is associated with alterations in G-protein activity. *J Clin Invest*. 83: 268-277, 1989.

HARTWELL D, HASSAGER C, CHRISTIANSEN C. Effect of vitamin D<sub>2</sub> and vitamin D<sub>3</sub> on the serum concentrations of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in normal subjects. *Acta Endocrinol*. 115: 378-384, 1987.

HAUSSLER MR. Vitamin D receptors nature and function. *Annu Rev Nutr*. 6: 527-562, 1986.

HAUSSLER MR, MYRTLE JF, NORMAN AW. The association of a metabolite of vitamin D<sub>3</sub> with intestinal mucosa chromatin in vivo. *J Biol Chem*. 243: 4055-4064, 1968.

HAYASHI S, USUI E, OKUDA K. Sex-related difference in vitamin D<sub>3</sub> 25-hydroxylase of rat liver mitochondria. *J Biochem (Tokyo)*. 103: 863-866, 1988.

HEANEY RP, BARGER-LUX MJ, DOWELL MS, CHEN TC ve HOLICK MF. Calcium absorptive effects of vitamin D and its major metabolites. *J. Clin. Endocrin. and Metab*. 82: 4111-4116, 1997.

HEIDENBERG D, TENENBAUM G ve WEISMAN Y. Effect of iron on serum 25-hydroxy vitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D concentrations. *Am. J. Clin. Nutr*. 56: 533-536, 1992.

HENRY HL, MIDGETT RJ, NORMAN AW. Regulation of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1-hydroxylase in vivo. *J Biol Chem*. 249:7584-7592, 1974.

HENRY HL, NORMAN AW. Vitamin D: Two dihydroxylated metabolites are required for normal chicken egg hatchability. *Science*. 201: 835-837, 1978.

HOLICK MF, SCHNOES HK, DE-LUCA HF, SUDA T, COUSINS RJ. Isolation and identification of 1-25 dihydroxycholecalciferol: A metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochemistry*. 10: 2799-2804, 1971.

HOLLANDER D, MURALIDHARA KS ve ZIMMERMAN A. Vitamin D<sub>3</sub> intestinal absorption in vivo influence of fatty acids, bile salts and perfu-sate pH on absorption. *Gut*. 19: 267-272, 1978.

HORST RL, KOSZEWSKI NJ, REINHARDT TA. 1 $\alpha$ -Hydroxylation of 24-hydroxyvitamin D<sub>2</sub> represents a minor physiological pathway for the activation of vitamin D<sub>2</sub> in mammals. *Biochemistry*. 29: 578-582, 1990.

HORST RL, LITLEDIKE ET, GRAY RW, NAPOLI JL. Impaired 24,25-dihydroxyvitamin D production in anephric human and pig. *J Clm Invest*. 67: 274-280, 1981.

HORST RL, LITLEDIKE ET, RILEY JL, NAPOLI JL. Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentrations in five species of animals. *Anal Biochem*. 116:189-203, 1981.

HORST RL, REINHARDT TA. Vitamin D Metabolism. S. 13-31, 1997. [Editörler: FELDMAN D, GLORIEUX FH, PIKE JW. Vitamin D. 612S. Academic Press.USA]

HOVE K, HORST RL, LITLEDIKE ET, BEITZ DC. Infusions of parathyroid hormone in ruminants: Hypercalcemia and reduced plasma 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations. *Endocrinology*. 114: 897-903, 1984.

HUFF WE. Evaluation of tibial dyschondroplasia during aflatoxicosis and feed restriction in young chickens. *Poult. Sci*. 59: 991-995, 1980.

HUGHES MR, BRUMBAUGH PF, HAUSSLER MR, WERGEDAL JE, BAYLINK DJ. Regulation of serum 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by calcium and phosphate in the rat. *Science*. 190: 578-580, 1975.

HULAN HW, SIMONS PCM ve van SCHAGEN PJW. Effect of altering the cation-anion (Na+K-Cl) and calcium content of the diet on general performance and incidence of tibial dyschondroplasia of broiler chickens housed in batteries. *Nutrition Reports International*. 33: 397-408, 1986.

HULAN HW, SIMONS PCM ve VEREIJKEN P. Effects of altering the calcium, phosphorus, sodium, potassium and chloride content of the diet on general performance and incidence of dyschondroplasia of the tibiotarsus and tarsometatarsus of broiler chickens. *Nutrition Reports International*. 35: 889-899, 1987a.

HULAN HW, SIMONS PCM, van SCHAGEN PJW, MCRAE KB. ve PROUDFOOT FG. Effect of dietary cation-anion balance and calcium content on general performance and incidence of leg abnormalities of broiler chickens. *Canadian J. Anim. Sci.*, 67: 165-177, 1987b.

HUYGHEBAERT G. The response of broiler chicks to phase feeding for P, Ca and phytase. *Archiv Geflügelkunde*. 60: 132-141, 1996.

JIN A, CORLESS A ve SELI JL. Digestive System development in post-hatch poultry. *World's Poultry Sci. J.* 54:335-345, 1998.

JOHNSON JA, BECKMAN MJ, PANSMI-PORTA A, CHRISTAKOS S, BRUNS ME, BEITZ DC, HORST RL, REINHARDT TA. Age and gender effects on 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> deregulated gene expression. *Exptl Gerontol* 30: 631-643, 1995.

JONES G, SCHNOES HK, DE-LUCA HF. Isolation and identification of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub>. *Biochemistry*. 14: 1250-1256, 1975.

JONES G, SCHNOES HK, LEVAN L, DE-LUCA HF. Isolation and identification of 24-hydroxyvitamin D<sub>2</sub> and 24,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub>. *Arch Biochem Biophys*. 202: 450-457, 1980.

JONGBLOED AW. The role of phytase in pig production. 1st Eur. Symp. on Enzymes. Switzerland, 1993

KEMME PA, JONGBLOED AW, MROZ Z ve BEYNEN AC. The efficacy of A. Niger in rendering phytate phosphorus available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. *Journal of Animal Science*. Vol 75, Issue 8: 2129-2138, 1987.

KODICEK E, LAWSON DEM, WILSON PW. Biological activity of a polar metabolite of vitamin D<sub>3</sub>. *Nature*. 228: 763-764, 1970.

KOSZEWSKI NJ, REINHARDT TA, NAPOLI JL, BEITZ DC, HORST RL. 24,26-Dihydroxyvitamin D<sub>2</sub>. A unique physiological metabolite of vitamin D<sub>2</sub>. *Biochemistry*. 27: 5785-5790, 1988.

KRAWITT EL ve CHASTENAY BF. 25-hydroxy vitamin D absorption test with gastrointestinal disorders. *Calcif. Tissue Int*. 32: 183-187, 1980.

KUHLERS DL ve MCDANIEL GR. Estimates of heritabilities and genetic correlations between tibial dyschondroplasia expression and body weight at two ages in broilers. *Poult. Sci.* 75: 959-961, 1996.

LANTZCH HJ, WJST S ve DROCHNER W. The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 73: 19-26, 1995.

LAWSON DEM, WILSON PW, KODICEK E. Metabolism of vitamin D; A new cholecalciferol metabolite, involving loss of hydrogen at C-1, in chick intestinal nuclei. *Biochem J*. 115: 269-277, 1969.

LEACH RM ve BURDETTE JH. The influence of ascorbic acid on the occurrence of tibial dyschondroplasia in young broiler chickens. *Poult. Sci*. 64: 1188-1191, 1985.

LEESON S. ve SUMMERS JD. Nutrition of the Chicken. 4th ed., University Books, Guelph, Ont., USA, 2001.

LIU J, BOLLINGER DW, LEDOUX DR ve VEUM TL. Effects of dietary calcium concentrations on performance and bone characteristics of growing-finishing pigs fed low phosphorus corn-soybean meal diets supplemented with microbial phytase. *J. Animal Science*. 74: 180, 1997.

LOFTON JT ve SCARES JH Jr. The effects of vitamin D on leg abnormalities in broilers. *Poultry Sci*. 65: 749-756, 1986.

LOHNES D, JONES G. Side chain metabolism of vitamin D<sub>3</sub> in osteosarcoma cell line UMR-106 Characterization of products. *J Biol Chem*. 262: 14394-14401, 1987.

LOVERIDGE N, FARQUHARSON C, HESKETHI JE, JAKOWLEW SB, WHITEHEAD CC ve THORP BH. The control of chondrocyte differentiation during endochondral bone growth in vivo: changes in TGF-0 and the proto-oncogene c-myc. *J. Cell Sci*. 105: 949-956, 1993.

LYNCH M, THORP BH ve WHITEHEAD CC. Avian tibial dyschondroplasia as a cause of bone deformity. *Avian Pathol*. 21: 275- 285, 1992.

MADHOK TC, DE-LUCA HF. Characteristics of the rat liver microsomal enzyme system converting cholecalciferol into 25-hydroxycholecalciferol. Evidence for the participation of cyto-chrome P-450. *Biochem J*. 184: 491-499, 1979.

MAISLOS M, SILVER J ve FAINARU M. intestinal absorption of vitamin D sterols: Differential absorption into lymph and portal blood in the rat. *Gastro*. 80: 1528-1534, 1981.

MATKOVITS T, CHRISTAKOS S. Variable *in vivo* regulation of rat vitamin D-dependent genes (osteopontin, Ca, Mg-adenosine triphosphatase, and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase): Implications for differing mechanisms of regulation and involvement of multiple factors. *Endocrinology*. 136:3971-3982, 1995.

MCCHESENEY EW ve GIACOMINO NJ. Studies of calcium and phosphorus metabolism in the chick. III. Some time relationships in the action of vitamin D. *J. Nutr.* 29: 229-235, 1945.

MCNAUGHTON JL, DAY EJ ve DILWORTH BC. The chick's requirement for 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol. *Poultry Sci.* 56: 511-516, 1977.

MCNUTT KW ve HAUSSLER MR. Nutritional effectiveness of 1,25-dihydroxycholecalciferol in preventing rickets in chicks. *J. Nutr.* 103: 681-689, 1973.

MITCHELL RD ve EDWARDS HM Jr. Additive effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on phytate phosphorus utilization and related parameters in broiler chickens. *Poult. Sci.* 75: 95-110, 1996.

MITCHELL, R. D. and H. M. EDWARDS, Jr., 1997. The effects of ultraviolet light and cholecalciferol and its metabolites on the development of leg abnormalities in chickens genetically selected for high or low incidence for tibial dyschondroplasia. *Poultry Sci.* 76:346-354.

MONGIN P ve SAUVEUR B. Interrelationships between mineral nutrition, acid base balance, growth and cartilage abnormalities. In *Proceedings of Poultry Science Symposium, No. 12*, pp. 235-247, 1977. [BOORMAN KN ve WILSON BJ, Edinburgh, British Poultry Science Ltd.]

MROZ Z, JONGBLOED AW ve KEMME PA. Apparent digestibility and retention of nutrients bound to phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. *Journal of Animal Science.* 72: 126-132, 1994.

NAPOLI JL, HORST RL. Vitamin D Metabolism. S. 91-123, 1984. [Editör: KUMAR R. Vitamin D Metabolism. Martinus Nijhov. Boston, USA]

NAPOLI JL, HORST RL. C(24)- and C(23)-oxidation, converting pathways of intestinal 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> metabolism Identification of 24-keto-1,23,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Biochemistry.* 22: 5848-5853, 1983.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, USA, 1994.

NECHAMA HD, HOFF A, HARELL NA ve EDELSTEIN S. The intestinal absorption of vitamin D and its metabolites. *J. Molec. Med.* 2: 413-422, 1977.

NELSON TS ve KIRBY LK. The calcium binding properties of natural phytate in chicks and laying hens. *Nutrition reports International.* 35:949-956, 1987.

NEWKIRK RW ve CLASSEN HL. Nutritional aspect of canola meal phytate in broiler chicks. *Poultry Science.* 74: 14, 1995.

NORMAN AW. Studies on the vitamin D endocrine system in the avian. *J. Nutr.* 117: 797-807, 1987.

NORMAN AW, HENRY HL, MALLUCHE HH. 24R,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1alpha,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> are both indispensable for calcium and phosphorus homeostasis. *Life Sci.* 27:229-37, 1980.

NORMAN AW, MYRTLE JF, MIDGETT RJ, NOWICKI HG. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: Identification of proposed active form of vitamin D<sub>3</sub> in the intestine. *Science.* 173: 51-54, 1971.

OFFICER DI ve BATTERHAM ES. Enzyme supplementation of Linola meal for growing pigs. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production.* 9: 288-296, 1992.

OHYAMA Y, NOSHIRO M, EGGERTSEN G, GOTOH O, KATO Y, BJORK-HEM I, OKUDA K. Structural characterization of the gene encoding rat 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase. *Biochemistry.* 32: 76-82, 1993.

OKUDA K. Vitamin D<sub>3</sub> hydroxylases—Its occurrence, biological importance and biochemistry. [RUCKPAUL K, REIN H. Cytochrome P-450 Dependent Biotransformation of Endogenous Substrates]. *Frontiers in Biotransformation.* Vol 6 Akademie Verlag, Berlin, pp 114-147, 1992.

OKUDA K, USUI E, OHYAMA Y. Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in vitamin D metabolism. *J Lipid Res.* 36: 1641-1652, 1995.

OMDAHL JL, GRAY RW, BOYLE IT, KNUTSON JT, DE-LUCA HF. Regulation of metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by kidney tissue in vitro by dietary calcium. *Nature New Biol.* 237: 63-66, 1972.

ORNOY A, GOODWIN D, NOFF D, EDELSTEIN S. 24,25-Dihydroxyvitamin D is a metabolite of vitamin D essential for bone formation. *Nature.* 276: 517-519, 1978.



ORTH MW, BAI Y, ZEYTUN IH. Ve COOK ME. Excess levels of cysteine and homocysteine induce tibial dyschondroplasia in broiler chicks. *J. Nutr.* 122: 482-487, 1992.

OVESEN L, BROT C ve JAKOBSEN J. Food contents and biological activity of 25-hydroxyvitamin D: A vitamin D metabolite to be reckoned with? *Ann. Nutr. Metab.* 47: 107-113, 2003.

PALLAUF VJ, HOHLER D ve RIMBACH G. Effect of microbial phytase supplementation to a maize-soya diet on the apparent absorption of Mg, Fe, Mn and Zn and parameters of Zn-status in piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 68: 1-8, 1992.

PARKINSON G, THORP BH, AZOULAS J ve VAIANO S. Sequential studies of endochondral ossification and serum 1,25-dihydroxycholecalciferol in broiler chickens between one and 21 days of age. *Res. Vet. Sci.* 60: 173-178, 1996.

POLLACK KL, SITRIN MD ve ROSENBERG IH. Chylomicron-dependent absorption and transport of vitamin D and 25-hydroxy vitamin D (25-OHD) in the rat. *Clin. Res.* 29: 268A, 1981.

POLS HA, BIRKENHAGER JC, SCHILTE JP, BOS MP, van LEEUWEN JP. The effects of MC903 on 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> receptor binding, 24-hydroxylase activity and in vitro bone resorption. *Bone Miner.* 14(2): 103-11, 1991.

POULOS PW. Tibial dyschondroplasia in the turkey. *Acta Radiol Suppl.* 57: 197-227, 1978.

POWELL, K. Field observations. 2003.

QIAN H, KORNEGAY ET ve DENBOW DM. Utilization of phytate P and Ca as influenced by microbial phytase, vitamin D<sub>3</sub> and the calcium:total phosphorus ratio in broiler diets. *Poultry Science.* 74: 126, 1995.

QUIAN H, VEIT HP, KORNEGAY ET, RAVINDRAN V, DENBOW DM. Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristic and performances of broilers fed semi-purified diets. *Poult Sci.* 75: 618-626, 1996.

REASONER CA, DUNN JF ve FETCHICK D. Alteration of vitamin D metabolism in Mexicans. *J. Bone Miner. Res.* 5: 793-794, 1990.

REDDY GS, RAY R, HOHCK MF. Serum 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>2</sub> levels are two times higher than 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> levels in vitamin D-deficient rats, dosed acutely with equal amounts of vitamin D<sub>2</sub> and vitamin D<sub>3</sub>. *J Bone Miner Res.* 5(Suppl 2): S265, 1990.

REINHARDT TA, HORST RL. Ketoconazole inhibits self-induced metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and amplifies 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor up-regulation in rat osteosarcoma cells. *Arch Biochem Biophys.* 272-459-465, 1989.

REINHARDT TA, HORST RL, ENGSTROM GW, ATKINS KB. Ketoconazole potentiates 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-directed up-regulation of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-receptors in rat intestine and bone. [NORMAN AW, SCHAEFER K, GNGOLEIT H-G, HERRATH DV (eds)]. *Vitamin D Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology*, de Gruyter, Berlin and New York, pp 234-234, 1988.

REINHARDT TA, HORST RL, ORF JW, HOLLIS BW. A microassay for 1,25-dihydroxyvitamin D not requiring high performance liquid chromatography. Application to clinical studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 58: 91-98, 1984.

REINHARDT TA, HORST RL. Parathyroid hormone down-regulates 1,25-dihydroxyvitamin D receptors (VDR) and VDR messenger ribonucleic acid *in vitro* and blocks homologous up-regulation of VDR *in vivo*. *Endocrinology.* 127: 942-948, 1990.

RENNIE JS ve WHITEHEAD CC. Effectiveness of dietary 25- and 1-hydroxycholecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *Br. Poultry Sci.* 37: 413-421, 1996.

RENNIE JS, MCCORMACK HA, FARQUHARSON C, BERRY JL, MAWER EB ve WHITEHEAD CC. Interaction between dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol and calcium and effects of management on the occurrence of tibial dyschondroplasia, leg abnormalities and performance in broiler chickens. *Brit. Poult. Sci.* 36: 465-477, 1995.

RENNIE JS, WHITEHEAD CC ve THORP BH. The effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol in preventing tibial dyschondroplasia in broilers fed on diets unbalanced in calcium and phosphorus. *Brit. J. Nutr.* 69: 809-816, 1993.

RIDDELL C ve PASS DA. The influence of dietary calcium and phosphorus on tibial dyschondroplasia in broiler chickens. *Avian Diseases.* 31: 771-775, 1987.

ROBERSON KD. 25-Hydroxycholecalciferol fails to prevent tibial dyschondroplasia in broiler chicks raised in battery brooders. *J. Appl. Poultry Res.* 8: 54-61, 1999.

RODEHUTSCORD, M., DÜNGELHOEF, M. Phytaseinsatz - Einzelkomponenten bewerten. *DGS* 17, 1994.

SAS INSTITUTE. SAS® User's Guide: Statistics. Version 6.03 Edition. SAS Institute Inc., Gary, NC., 1991.

SCARES JH, SWERDEL MR ve BOSSARD EH. Phosphorus availability. The effect of chick age and vitamin D metabolites on the availability of phosphorus in defluorinated phosphate. *Poultry Sci.* 57: 1305-1312, 1978.

SCHONER FJ, HOPPE PP, SCHWARZ G ve WIESCHE H. Effects of microbial phytase and inorganic phosphate in broiler chickens: performance and mineral retention at various calcium levels. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 69: 235-244, 1993.

SEBASTIAN S, TOUCHBURN SP, CHAVEZ ER. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition : a review. *World's Poultry Science Journal*, Vol.54, 1998.

SEBASTIAN S, TOUCHBURN SP, CHAVEZ ER ve LAGUE PC. The effects of supplemental phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper and zinc in broiler chickens fed a corn-soybean diet. *Poultry Science.* 75: 1516-1523, 1996.

SELL JL, KROGDAHL A ve HANYU N. Influence of age in gastrointestinal tract fats by young turkeys. *J. Appl. Poultry Res.* 5: 96-101, 1986.

SHINKI T, JIN CH, NISHIMURA A, NAGAI Y, OHYAMA Y, NOSHIRO M, OKUDA K, SUDA T. Parathyroid hormone inhibits 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-24-hydroxylase mRNA expression stimulated by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in rat kidney but not in intestine. *J Biol Chem.* 267: 13757-13762, 1992.

SIMONS PC, VERSTEEGH HA, JONGBLOED AW, KEMME PA, SLUMP P, BOS KD, WOLTERS MG, BEUDEKER RF, VERSCHOOR GJ. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition.* 64: 525-540, 1990.

SITRIN MD ve BENGGOA JM. Intestinal absorption of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in chronic cholestatic liver disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 46: 1011-1015, 1987.

SITRIN MD, POLLACK KL, BOLT MJ ve ROSENBERG IH. Comparison of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D absorption in the rat. *Am. J. Physiol.* 242: G326-G332, 1982.

SKLAN D ve NOY Y. Functional development and intestinal absorption in the young poult. *Br. Poult. Sci.* 44: 651-658, 2003.

SKOWRONSKI RJ, PEEHL DM ve FELDMAN D. Actions of vitamin D<sub>3</sub> analogs on human prostate cancer cell lines: comparison with 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinology.* 136: 20-26, 1995.

STAMP TC, HADDAD JG ve TWIGG CA. Comparison of oral 25-hydroxycalciferol, vitamin D and ultraviolet light as determinants of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Lancet.* 1:1341-1343, 1977.

SUDA T, DE-LUCA HF, SCHNOES HK, TANAKA Y, HOHCK MF. 25,26-Dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D<sub>3</sub> with intestinal calcium transport activity. *Biochemistry.* 9: 4776-4780, 1970.

SUNDE ML. What about 25-Hydroxycholecalciferol for poultry? *Proceedings of the Distillers Feed Research Council.* 30: 53-62, 1975.

ŞENKÖYLÜ N. Modern Tavuk Üretimi, Gözden Geçirilmiş ve Genişletilmiş 3. Baskı, 538 S. Tekirdağ, 2001.

TEEGARDEN D, NICKEL KP ve SHI L. Characterization of 25-hydroxyvitamin D binding protein from intestinal cells. *Biochem Biophys. Res. Comm.* 275: 845-849, 2000.

TEEGARDEN D, MERIDETH SC ve SITRIN MD. Isolation and characterization of a 25-hydroxy vitamin binding protein from rat enterocyte cytosol. *J. Nutr. Biochem.* 8: 195-200, 1997.

TUCKER G, GAGANON R, HAUSSLER M. Vitamin D<sub>3</sub>-25-hydroxylase: Tissue occurrence and apparent lack of regulation. *Arch Biochem Biophys.* 155: 47-57, 1973.

USUI E, NOSHIRO M, OHYAMA Y, OKUDA K. Unique property of liver mitochondrial P450 to catalyze the two physiologically important reactions involved in both cholesterol catabolism and vitamin D activation. *FEBS Lett.* 274: 175-177, 1990.

VIETH R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations and safety. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 842-856, 1999.

WALDROUP PW, AMMERMAN CB ve HARMS RH. The relationship of phosphorus, calcium, and vitamin D<sub>3</sub> in the diet of broiler-type chicks. *Poultry Sci.* 42:982-989, 1963.

WALDROUP PW, YAN F ve FRITTS CA. Reducing Phosphorus Excretion Through Diet Manipulation. *Proc. Annual Arkansas Nutrition Conference*, 2000.

WALSER MM, ALLEN NK, MIROCHA CJ, HANLON GF ve NEWMAN JA. Fusarium-induced osteochondrosis (tibial dyschondroplasia) in chickens. *Vet. Pathol.* 19: 544-550, 1982.

WARD NE, 1995. Research examines use of 25-OH vitamin D<sub>3</sub> in broiler diets. *Feedstuffs*. 67(30):12-15.

WEISER, H., SCHLACHTER, M. and BACHMANN, H. 1988. The importance of vitamin C for the hydroxylation of vitamin D<sub>a</sub> to 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. *Proceedings of 7th Workshp on Vitamin D*, Rancho Mirage, CA, USA.

WICHMANN J, SCHNOES HK ve DE-LUCA HF. Isolation and identification of 24(R)-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> from chicks given large doses of vitamin D<sub>3</sub>. *Biochemistry*. 20: 2350-2353, 1981.

WODZINSKI RJ ve ULLAH AHJ. Phytase. *Advan. Appl. Micro.* 42: 263-302, 1996.

WU W, COOK ME, CHU Q ve SMALLEY EB. Tibial dyschondroplasia of chickens induced by fusarochromanone, a mycotoxin. *Avian Diseases*. 37: 302-309, 1993.

YARGER JG, SAUNDERS CA, MCNAUGHTON JL, QUARLES CL, HOLLIS BW ve GRAY RW. Comparison of dietary 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol in broiler chickens. *Poultry Sci.* 74: 1159-1167, 1995a.

YARGER JG, MCNAUGHTON JL, QUARLES CL, HOLLIS BW ve GRAY RW. Safety of 25-hydroxycholecalciferol as a source of cholecalciferol in poultry rations. *Poultry Sci.* 74: 1437-1446, 1995b.

YI Z, KORNEGAY ET ve DENBOW DM. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poult fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*. 75: 979-990, 1996.

ZHANG X, LIU G, MCDANIEL GR ve ROLAND DA. Responses of broiler lines selected for tibial dyschondroplasia incidence to supplementary 25-hydroxycholecalciferol. *J. Appl. Poultry Res.* 6: 410-416, 1997.

## ÖZGEÇMİŞ

09.09.1970 tarihinde Karabük’de doğdum.

İlkokulu İzmir Öğrt. Kenan Gamsız İlkokulu; Ortaokulu İzmir Karşıyaka Lisesi’nde tamamladım.

1987 yılında İzmir Çınarlı Teknik Lisesi Elektronik Bölümünden 10-C fark imtihanlarını vererek 3. sınıftan mezun oldum.

1987 yılında başladığım İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni 1992 yılında bitirdim.

1993-1994 yılları arasında Kuzey Deniz Saha Komutanlığı’na bağlı Deniz İkmal Grup Komutanlığı’nda Gıda Kontrol Subayı olarak askerlik görevimi tamamladım.

1994-1998 yıllarında Pfizer Hayvan Sağlığı bölümünde Teknik Servis Asistanı olarak çalıştım.

1998 yılında girdiğim Roche Vitamin ve Kimyasal Maddeler Şirketinde Teknik Hizmetler ve Pazarlama Şefi olarak başladığım görevime aynı şirketin uluslararası olarak satılması ile DSM Besin Maddeleri Ltd.Şti.’de devam etmekteyim.

1995 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde Sağlık Bilimleri Enstitüsüne Bağlı olarak Parazitoloji kürsüsünde başladığım Doktora eğitimimi Prof. Dr. Ayşe Burgu danışmanlığında 2004 yılında tamamladım.

2002 yılında Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yemler ve Hayvan Besleme Anabilimdalı’nda Fen Bilimleri Enstitüsü’ne bağlı olarak Prof. Dr. Nizamettin Şenköylü danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimime başladım.

Çalışma sürecim boyunca çok sayıda yurtiçi ve yurtdışı kişisel gelişim ve mesleki eğitim programlarına katıldım ve benzer eğitim programlarını düzenledim.