



RESEARCH ARTICLE

Bıldırcın (*Coturnix coturnix japonica*) yemine büyüme destekleyicisi olarak artan oranda nane yağı (*Mentha piperita*) ilavesinin karaciğer histolojisine etkilerinin ışık mikroskopik incelenmesi

Mustafa Ünal Boyraz^{1*}, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak², Besime Daş³, Akın Yiğın⁴, Mehmet Şevki Çadırcı⁵, Aydın Daş⁶

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

²Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye

³Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

⁴Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

⁵Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

⁶Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

Geliş: 01.02.2021, Kabul: 26.03.2021

*boyrazm@harran.edu.tr

Investigation of the histopathological effects of increasing amounts of peppermint oil (*Mentha piperita*) added to quail (*Coturnix coturnix japonica*) feed as a growth promoter on liver

Eurasian J Vet Sci, 2021, 37, 2, 62-70

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2021.327

Öz

Amaç: Bu çalışmada Japon bıldırcını (*Coturnix coturnix japonica*) rasyonuna nane yağı eklenerek karaciğer üzerine histopatolojik etkileri ışık mikroskobu ile incelenerek gelecekteki benzer çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada rasyonlarına artan oranda nane yağı ilave edilen, 10 günlük, 40 adet Japon bıldırcını kullanıldı. Her birinde 5 erkek 5 dişi olacak şekilde 10'ar civcivlik 4 gruba ayrıldı, Gruplar; rasyonlarına izokalorik ve izonitrojenik olacak şekilde, kontrol grubu %0.3 ayçiçek yağı (AY)+%0.0 nane yağı (NY), diğer üç grup; %0.2(AY)+ %0.1(NY); %0.1(AY)+%0.2(NY) ve %0.0(AY)+%0.3 (NY) ad libitum ilave edilerek düzenlendi. Kesim sonrası, karaciğerden rutin doku takibi ile hazırlanan parafin bloklardan, rotary mikrotomla kesitler alındı. Hematoksilin-Eozin ile boyanan preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Karaciğerde septum interlobaris ile bölünen lobcuk yapısı görülmedi. Az miktarda inter lobuler intersitium ve buna bağlı olarak, bilinenin aksine, hepatik lopçuklarda birarada olması beklenen, üçlü yapı(trias hepatica) dağılmıktı. Rasyonda artan yağ oranına paralel olarak basit hepatosteatoz meydana geldiği görüldü.

Öneri: Antimikrobiyal ve immunmodülatör etkisiyle sağlıklı bir yetiştiricilik imkanı sunmasının yanı sıra protein sentezi ve yemden yararlanmayı artırarak verimin yükseltilmesine katkı sağlayan nane yağının sayılan bu olumlu özelliklerinden istifade edilebilmesi için uygun dozda verilmesi gerektiği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Nane yağı, Bıldırcın karaciğer histolojisi, karaciğer yağlanması.

Abstract

Aim: In the present study, peppermint oil was added to the ration of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) and it was aimed to shed light on similar studies in the future by examining its effect on liver tissue by light microscopy.

Materials and Methods: In the study, 10-day old, 40 Japanese quails were used. There were 4 groups of 10 chicks, each with 5 males and 5 females. Groups; Control group 0.3% sunflower oil (SO)+0.0% peppermint oil (PO), the other three groups 0.2% (SO) +0.1% (PO); 0.1% (SO)+ 0.2% (PO) and 0.0% (SO)+0.3% (PO). Created by adding oil ad libitum. From the paraffin blocks prepared by routine tissue follow-up from the liver, sections were taken with a rotary microtome. Hematoxylin-Eosin stained preparations were examined under a light microscope.

Results: The lobule structure divided by the septum interlobaris was not seen in the liver. A small amount of inter lobuler interstitium and consequently the triple structure (trias hepatica) expected to coexist in the hepatic lobes, contrary to what is known, was scattered. It was observed that simple hepatosteatosis occurred in parallel with the increasing fat ratio in the diet.

Conclusion: It has been observed that peppermint oil, which contributes to increase the yield by increasing protein synthesis and feed utilization, as well as providing a healthy breeding opportunity with its antimicrobial and immunomodulatory effect, should be given at an appropriate dose in order to benefit from these positive properties.

Keywords: Peppermint (*Mentha*) oil, quail liver histology, fatty liver.



Giriş

Et, süt, yumurta gibi hayvansal gıdalara talebin kolay ve ucuz olarak karşılanabilmesi için pazarın sürekliliği gerekmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün 2006'dan bu yana hayvan yemlerine katılmasını kısıtlamış olmasına rağmen, antibiyotiklerin; özellikle gıdalar için hayvansal üretimde, bulaşıcı hastalıkların tedavisinde, büyüme destekleyici özelliklerinin yansira kolay ve ucuz bulunabilir olmaları nedeniyle, kullanımları yıllardır devam eden bir soruna sebep olmaktadır. Antibiyotiklerin kontrolsüz kullanımının devam etmesi de insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyon nedeni olan bakterilerin direncini artırmaktadır. "Hayvanlarda büyüme destek amacıyla tıbbi antibiyotik kullanımı" bu sebeple 1 Ocak 2017'den itibaren ABD'de kaldırılmıştır. Avrupa Birliği de yayınladığı bir yönetmelikle 2022'den itibaren profilakside ve yemde antimikrobiyal kullanımını yasaklamıştır (EU 2018). 2019'da da WHO antibiyotik direncini halk sağlığına yönelik küresel tehditlerden biri olarak tanımlamıştır (Nowakiewicz ve ark 2020).

2018 yılında düzenlenen bir çalıştayda, hayvan yetiştirmede antibiyotiklere alternatifler; genel manada antimikrobiyal ilaçlara olan ihtiyacı önleyebilen veya onların yerine kullanılabilen herhangi bir madde olarak tanımlanmıştır. Uçucu yağların da yer aldığı bu alternatif maddeler; et, süt ve yumurta dahil olmak üzere, ticari gıda hayvanı üretiminde başarıyla kullanılmaktadır. Bu, mikrobiyal türevli ürünler hayvanların ağırlık kazanımlarını artırmak için uçucu yağlar ile başarılı bir şekilde yemlere eklenebilmektedir. Ancak, et kalitesini olumsuz yönde etkileyebilecek antimikrobiyal etkileri ortadan kaldırmak için bu ürünlerden yemlere yüksek konsantrasyonlarda katmak gerekecektir (Şevik 2019).

Uçucu, doğal, güçlü kokular ile karakterize olan, aromatik özellikteki uçucu bileşikler antiseptik, antibakteriyel, virüsidal ve antifungaldır ve tıbbi özellikleri nedeniyle gıdaların tatlandırılması yanı sıra, korunmasında da kullanılmaktadır. Bitkilerin kök, gövde, soğan, kabuk, meyve, çiçek, yaprak ve/veya tohumlarının özel yöntemlerle preslenmesi, distilasyonu ya da ekstraksiyonu ile elde edilen; doğal şartlarda sıvı, uçucu, keskin aromalı, güzel kokulu, bazen açık renkli, genel olarak renksiz, su ile karışmayan, kristalize de olabilen; esans, esansiyel yağ veya eterik yağ olarak da isimlendirilen uçucu yağları (UY) elde edilir. Kimyasal olarak terpen, aldehit, alkol, azot, ester, fenol ve kükürt bileşikleri içerirler. İçeriklerindeki terpenlerin oksitlenmesi ile oluşan oksijenli türevler uçucu yağların aroma, koku, tat ve terapik özellikteki hususi farklılıklarını oluştururlar. Antiseptik, antibakteriyel, virüsidal ve antifungal özellikleriyle bilinen uçucu yağlar; parfümeri, kozmetik, baharat, yiyecek, beslenme ve tedavi gibi birçok alanda hammadde olarak kullanılırlar (Kılıç 2008, Şevik 2019). UY'lar bu ve benzeri tıbbi biyolojik özelliklerinden dolayı çok sayıda araştırmaya konu olmaktadır (Stringaro ve ark 2018).

Yapılan çalışmalarla farklı bitkilerin kullanılmasının, kuşların büyümesini ve üretimini teşvik etmede yardımcı olduğu gösterilmiştir, bu da sentetik antibiyotik uygulama ihtiyacını azaltmaktadır. Bu yüzden nane, güçlü ve yayılabilir bir uyarıcıdır ve nane yapılan ilaçlar yem ile de kolayca uygulanabilir. Nane esansiyel yağı, tarih boyunca en iyi bilinen uçucu yağlardan biri olarak kullanımıyla belgelenmiş benzersiz, antibakteriyel, antiviral, antifungal, terapötik ve antinflamatuar özelliklere sahiptir (Nayak ve ark 2020). Nane kuru ot ve yapraklarının ana aktif bileşeni, içeriği %0,5 ile %4 arasında değişen uçucu yağdır. Nane yağı, içerdiği mentol nedeniyle lokal bir anesteziktir. *Mentha piperita* L.'nin diyeteye dahil edilmesinin broyler tavuklarda ince bağırsağın histolojik ve histomorfometrik parametreleri üzerinde olumlu etkileri vardır (Hamedi ve ark 2017, Alparslan ve ark 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde Japon bildiricını (*Coturnix coturnix japonica*) kısa yaşam döngüsü ve birçok kümes hayvanı hastalığına karşı direnci nedeniyle araştırma için önemli bir model hayvan haline geldiği görülmektedir. Kuluçka süresinin ve üretim maliyetinin azlığı, damızlığa alma yaşının küçük olması gibi özellikleri bu kanatlı türünün deneysel amaçlı olarak da sık kullanılmasına yol açmıştır. Bu açıdan histolojik özelliklerinin ortaya konulması oldukça önemlidir. Kanatlı hayvanlarda karaciğer, lobus dexter hepatis ve lobus sinister hepatis olmak üzere iki loptan oluşmaktadır. Genel olarak, böcek ve balık yiyen hayvanlarda karaciğer büyük olarak bulunurken, taneli yiyeceklerle beslenenlerde daha küçüktür. Beç tavuğu, güvercin, muhabbet kuşu ve papağan gibi bazı kanatlı hayvanlarda safra kesesi bulunmaz. Kanatlı karaciğeri, septum interlobaris isimli bağdoku bölmeleriyle lopçuklara bölünmez. Literatür tarandığında, bildiricılarda karaciğerin morfolojik yapısı ile ilgili çok az bilgiye rastlanılmaktadır (Karan ve ark 2018, Vargas-Sánchez ve ark 2018).

Bitkisel yağlar, yüksek peroksidasyon potansiyeline sahip yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) içerir. Ayrıca tıbbi bitkilerin et kalitesini artıran antioksidan aktivite içerdiği gösterilmiştir. Nane uçucu yağ ve fenolik bileşiklerce zengindir. Fenolik bileşiklerin, serbest radikalleri azaltan antioksidan rolleri olduğu ve stabil ürünlerin üretilmesine neden olduğu gösterilmiştir. Genel olarak, fenolik bileşiklerin serbest radikallerin reaksiyonunu azalttığı görülmektedir. Diyeteye antioksidan takviyesinin et kalitesini artırdığı görülmüştür (Ghasemi ve ark 2020, Bektaş ve Mustafa 2020).

Bu çalışma; son yıllarda önemli bir model hayvan haline geldiği bilinen Japon bildiricını (*Coturnix coturnix japonica*)'nın rasyonuna, fenolik ve antioksidan özellikleri olduğu bilinen nane yağını, belli oranlarda ekleyerek, karaciğer üzerine etkisini, ışık mikroskopik olarak incelemek amacıyla yapılmıştır.



tır.

Gereç ve Yöntem

Hayvan materyali

Bildirircinlar ortalama canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde, her grupta 10 günlük, 10 civcivin olduğu kontrol grubu (%0.0 nane yağı), %0.1 nane yağı, %0.2 nane yağı ve %0.3 nane yağı şeklinde dört gruba ayrılmıştır. Araştırmada yem katkı maddesi olarak kullanılan nane yağı ticari bir üreticiden (Tito, Lot No: 0118159) temin edilmiştir.

Çalışma grupları

Bildirircinlara verilen rasyonun besin madde içerikleri NRC (1994)'ye uygun olarak hazırlanmıştır. Rasyonlar izokalorik ve izonitrojenik olacak şekilde; Kontrol grubu (%0.0 NY) rasyonuna: %0.0 nane yağı+%0.3 ayçiçek yağı; Birinci grup (%0.1 NY) rasyonuna: %0.1 nane yağı+%0.2 ayçiçek yağı; İkinci grup (%0.2 NY) rasyonuna: %0.2 nane yağı+%0.1 ayçiçek yağı ve Üçüncü grup (%0.3 NY) rasyonuna %0.3 nane yağı+%0.0 ayçiçek yağı ilave edilerek hazırlanmıştır.

Grupların ayrımı ise Kontrol grubu (%0.0 NY): 1-5; kontrol erkek, 6-10; kontrol dişi. Birinci grup (%0.1 NY): 11-15; %0.1 nane yağı erkek, 16-20 %0.1 nane yağı dişi. İkinci grup (%0.2 NY): 21-25; %0.2 nane yağı erkek, 26-30; %0.2 nane yağı dişi. Üçüncü grup (%0.3 NY) 31-35; %0.3 nane yağı erkek, 36-40; %0.3 nane yağı dişi olarak düzenlenmiştir.

Dokuların işlenmesi

Karaciğer dokularında mikroskopik inceleme yapmak için uygun olarak alınan dokular %10'luk Nötr tamponlu formalin'de (NBF) 48 saat süreyle tesbit edildi. Tesbit işlemi tamamlanan dokular küçültülüp, kasetlendikten sonra 24 saat akan çeşme suyunda bekletildi. Daha sonra doku takip cihazı (Leica TP 1020) ile rutin doku takip işlemi gerçekleştirildi. Bunun için dokular sırasıyla %70, %80, %90, %96, %100'lük alkol ve ksilol (I-II) serilerinde 1'er saat tutulduktan sonra parafinde de 3 saat kadar bekletildi. Doku takip işlemi tamamlanan dokulardan hazırlanan parafin bloklardan rotary mikrotomla (LeicaRM 2135) 5 µm kalınlığında kesitler lamlara alındı.

Hematoksilen-Eozin (HE) boyama

Doku kesitlerindeki parafinin eritilmesi için lamlar 1 saat kadar etüvde bekletildi. Etüvden alınan dokular ksilol (I-II) ve alkol (%100, %96, %90, %80, %70) serilerinde 3'er dk süreyle bekletildikten sonra 5 dk distile suda tutuldu. Daha sonra dokuların 5 dk süreyle hematoksilen boyaması gerçekleştirildi. Hematoksilen boyaması yapılan kesitler akan

çeşme suyundan geçirildikten sonra asit alkolle hematoksilen fazlası dekolorize edildi. Daha sonra dokuların 1 dk süreyle eozin boyaması gerçekleştirildi. Son olarak alkol (%70, %80, %90, %96, %100) ve ksilol (I-II) serilerinden geçirilen lamlara entellan damlatılarak lamelle kapama işlemi yapıldı. Hematoksilen-Eozin boyaması yapılan preparatlar ışık mikroskopunda (Leica DM 2500) incelendi. Mikroskopik incelemede histopatolojik bulgular şiddetlerine göre; yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) şeklinde skorlanarak ilgili bulguların görüntüleri alındı (Tablo 1, Şekil 1-4).

Bulgular

Karan ve ark (2018)'de belirttikleri gibi Coturnix coturnix japonica'nın karaciğerinde septum interlobaris'in ve lopçukların bulunmaması, Kiernan aralığında dağınık olarak bulunan karaciğer üçlüsü (Arteria hepatica, Vena interlobularis ve Ductus biliferus) gibi histolojik özellikleri diğer kanatlı türleriyle benzerlik göstermekteydi.

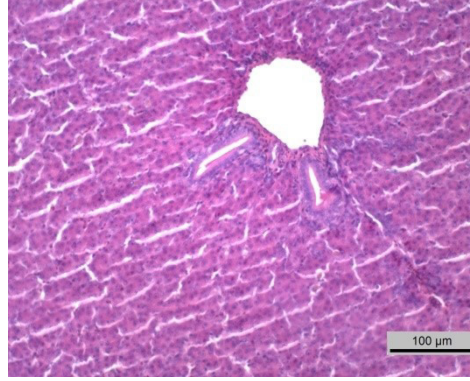
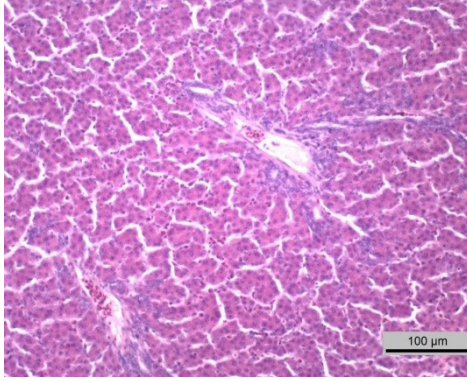
Çalışma materyalleri karaciğer dokularındaki mikroskopik incelemede; birinci, ikinci ve bilhassa üçüncü grupların karaciğerlerindeki hepatositlerde vakuoler dejenerasyon belirgindi kontrol grubunda ise gözlenmedi. Karaciğerdeki dejenerasyonun karakteri görünümü itibarıyla yağ dejenerasyonu şeklindeydi. Mikroskopik olarak hücre çekirdekleri, vakuollerle sınırları keskin olarak, sitoplazmalarının bir kenara itilmişti. Başka bir dejenerasyonu düşündürecek düzensiz şekilli ve sınırları belirgin olmayan vakuolizasyonlar yoktu. Bazı gruplarda yağ dejenerasyonunun yanı sıra hafif hidropik dejenerasyonlara rastlandı. Ancak bu bulgular da çoğunlukla ön planda yer alan yağ dejenerasyonu ile maskelenmiş durumdaydı. Karaciğerde en göze çarpan bulgu vakuolar dejenerasyon olmakla beraber, muhtemelen, bu dejenerasyona bağlı gelişim göstermekte olan kısmi hidropik dejenerasyon da yer almaktaydı. İleri derece vakuolar dejenerasyon bölgelerinde ise yer yer nekrotik hepatositler vardı (Şekil 1). Dejenerasyon ve nekrozlara bağlı olduğu düşünülen hafif yangısal reaksiyon (hiperemi, yangı hücre infiltratı (YHİ) da gözlemlendi. Gerek hidropik dejenerasyon ve gerekse nekrotik değişikliklerin aşırı yağ dejenerasyonun bir sonucu olduğu söylenebilir, nekrozla sonuçlanan hidropik dejenerasyonlar da bir yangı reaksiyonu ile seyreder. Ancak örnek dokularımızda şiddetli bir yangı reaksiyonuna işaret eden yangı hücre infiltrasyonu ve hiperemik durumla karşılaşmamıştır.

Çalışma materyallerimizde karaciğer dokularının mikroskopik incelenmesinde kontrol gruplarında herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmadı (Şekil 1). Birinci gruptaki örneklerde ise hepatositlerde vakular dejenerasyona rastlandı. Ayrıca bu grupta hafif hiperemi gözlemlendi (Şekil 2). Karaciğer yağlanması histopatolojik skorlamasında (Tablo 1) kıstas; Sonsuz ve Baysal'ın (2011)'de yaptıkları çalışmadır.

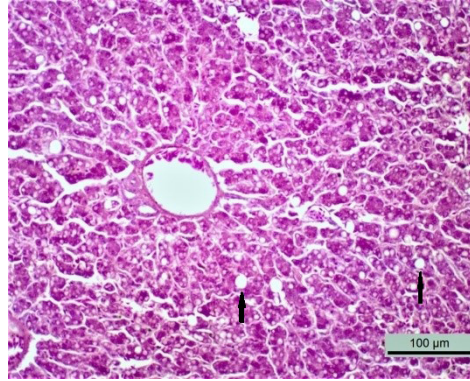
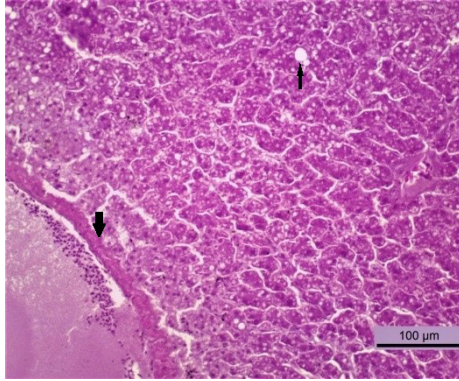
Tablo 1. Mikroskopik bulguların skorlanması

	NY	AY			Dejenerasyon	Nekroz	Hiperemi	Hemoraji	Y.H.I.	Fibrozis
Kontrol Grup	%0.0	+%0.3	Erkek	01-05	-	-	-	-	-	-
			Dişi	06-10	-	-	-	-	-	-
1. Grup	%0.1	+%0.2	Erkek	11-15	+	-	+	-	-	-
			Dişi	16-20	++	-	++	-	-	-
2. Grup	%0.2	+%0.1	Erkek	21-25	++	+	++	+	+	-
			Dişi	26-30	++	-	+	-	-	-
3. Grup	%0.3	%0.0	Erkek	31-35	+++	+	+++	++	+	-
			Dişi	36-40	+++	++	+++	+	++	+

Y.H.I: Yangı hücre infiltrasyonu



Şekil 1. Kontrol grubu, (%0.0 NY+%0.3 AY) Bildircin, Karaciğer, HE, Dişi/Erkek

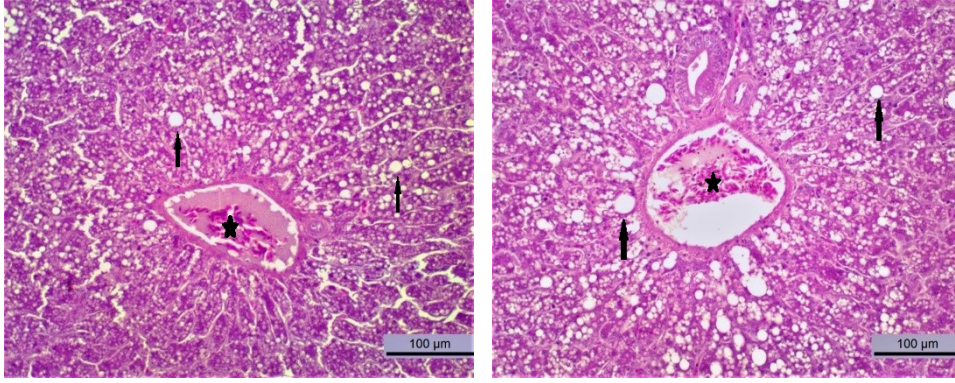


Şekil 2. Birinci Grup, (%0.1 NY+%0.2 AY), Bildircin, Karaciğer, HE, Dişi/Erkek ok; hepatositlerde yağ vakoulleri: kalın ok; hücre infiltrasyonu

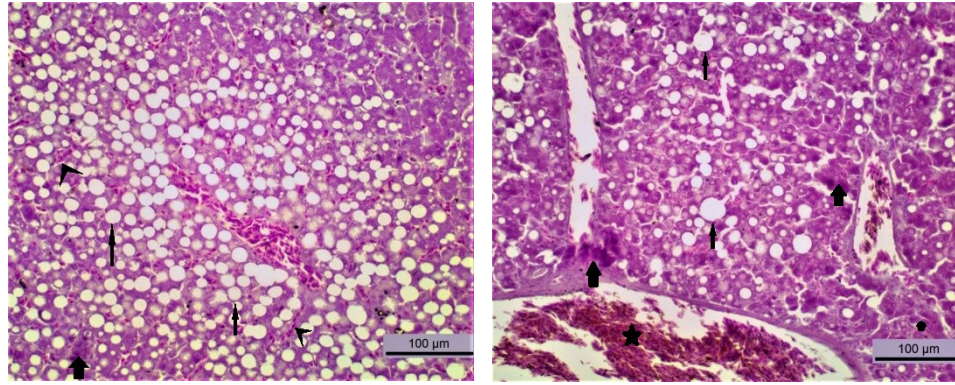
Karaciğer yağlanması ve nonalkolik steatohepatit, alınan özellikler çerçevesine Birinci gruptaki örneklerde Tip 1 (vezikül) basit hepatosteatozla karşılaşmıştır (Şekil 2). İkinci grupta yer alan örneklerin mikroskopik incelemelerinde ise yağ dejenerasyonunun biraz daha şiddetli olduğu görüldü (Şekil 3). Yine bu gruplarda hiperemi ve bazı örneklerde hafif hemorajik odakların varlığına rastlandı. Ayrıca bu gruplarda hidropik dejenerasyon ve kısmen nekroze uğramış hepatositler ile lökositler infiltrasyonları görüldü. Bu gruplardaki karaciğer yağlanmasının da tip-2 basit hepatosteatoz (vezikül + inflamasyon) karakterinde olduğu saptandı. Üçüncü gruptaki örneklerin histopatolojik incelemelerinde şiddetli düzeyde yağ dejenerasyonlarına, bu değişikliğe paralel olarak hidropik dejenerasyonlara ve fokal nekrozlara rastlandı.

Bu gruptaki örneklerde hipereminin de şiddetli olduğu ve mononükleer ağırlıkta yangı hücre infiltrasyonlarının artmış olduğu gözlemlendi. Bu gruptaki karaciğer yağlanması tip 3 (vezikül + inflamasyon + dejenerasyon / nekroz) steatohepatitis şeklinde tanımlandı (Şekil 4). Bu grupta bazı örneklerde hafif fibroz gelişimine tanıklık edilmiş olsa da örneklerimizin tamamında tip 4 (vezikül + inflamasyon + dejenerasyon/ nekroz + fibrozis) karakterinde yani fibrotik değişimlerin artık çoğunlukta bulunduğu steatohepatitise rastlanmamıştır.

Bildirincin gruplarının rasyonlarına göre mikroskopik olarak incelendiğinde Kontrol grubuna göre nane yağı oranı ile dejenerasyon, nekroz ve hipereminin doğru orantılı olarak arttığı aynı zamanda yangı hücre infiltrasyonu ile hemorajinin



Şekil 3. İkinci Grup [(%0.2 NY+%0.1 AY), Bildırcın, Karaciğer, HE, Dişi/Erkek ok; hepatositlerde yağ vakoulleri: yıldız; hiperemi



Şekil 4. Üçüncü Grup, (%0.3 NY+%0.0 AY), Bildırcın, Karaciğer, HE, Dişi/Erkek ok; hepatositlerde yağ vakoulleri: yıldız; hiperemi: kalın ok; hücre infiltrasyonları: ok başı; hemoraji

de özellikle İkinci ve Üçüncü gruplarda arttığı görülmüştür. Özellikle dejenerasyonun ve hipereminin İkinci ve Üçüncü gruplarda artmasının nane yağı miktarının artışıyla ilişkili olduğu görülmektedir. Gruplarda fibrozis sadece Üçüncü grupta görülmekte fakat nane yağının miktarı ile dişi ve erkek denekler arasında anlamlı bir fark tespit edilmemektedir. %0.2 ve %0.3 nane yağı olan İkinci ve Üçüncü grupta yer alan dişi bildırcınların karaciğerlerinde erkeklere oranla daha yaygın dejenerasyon görülmektedir (Tablo 1).

Tartışma

Coturnix coturnix japonica, kısa nesil süresi ve farklı genetik türleri nedeniyle metabolizma, hayvan besleme, ekotoksikoloji ve gelişim biyolojisi çalışırken kullanılması tercih edilen bir türdür. Ek olarak, ihtiyaçlarının az olması, sınırlı bir mekanda yetiştirilebilmeleri ve düşük hayvancılık maliyetleri bu türü uygun bir kuş modeli yapmaktadır (Jaspers 2015, Jacobsen ve ark 2017). Ergün ve ark (2001) bildırcın karaciğeri üzerine yaptıkları çalışmada kan ve hepatositler arasında, şilomikronlar ve lipoproteinlerin karşılıklı olarak taşınmalarını kontrol altında tutan fenestraların küçük çaplı şilomikronları geçirdiğini, bunlardan trigliserid içeren daha büyük çaplı olanların bir kısmının fenestraları geçemeyerek

Kupffer hücrelerince fagosit edildiklerini diğer bir kısmının da herhangi bir işleme uğramadan karaciğeri terk ettikleri böylece bildırcın karaciğeri yağlanmaya karşı korunduğu belirtilmektedir.

Yağ dejenerasyonu temelinde yatan başlıca faktörler; aşırı beslenme, yetersiz beslenme veya dengesiz beslenme, metabolizma bozuklukları (diabet, ketozis), kronik hastalıklar, enfeksiyonlar (virüs, tbc vs), stres, hipoksi, hormonal bozukluk, ilaç ve toksik maddelerdir. Yağ dejenerasyonunun sebebini teşkil edebilecek faktörler göz önünde bulundurulduğunda örneklerimizdeki yağlanmanın beslenme kaynaklı olabileceği kanısına varabiliriz (Kumar ve ark 2014).

Muhtemelen hücrenin metabolize edebileceğinden fazla enerji alımı söz konusu olmuştur. Karaciğerde lipid artışı ile mitokondriyal oksidatif reaksiyonda hücrenin antioksidasyon kapasitesi aşılar, artan oksidatif ürünlerin toksik etkisiyle hücre hasarı oluşur. Nükleer ve mitokondriyal DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ile fosfolipid membran bozulur. Böylece proinflatuar sitokinler salınır. Hücre dejenerasyonu ve hücre ölümü takip eder. Bu sitokinler nekroinflamasyona bağlı yangısal uyarımın da sorumlusudurlar (Kumar ve ark 2014).



Metabolizmayı ve protein gereksinimlerini etkileyen rasyon uygulamaları bir süre sonra karaciğer morfolojisini de etkiler. Rasyondaki değişikliklerin metabolizmayı ve protein diyeti gereksinimlerini etkilediği ve bunun daha sonra karaciğer morfolojisini de etkileyebileceği görülmektedir (Akkılıç ve Tanyolaç 1975).

Bizim çalışmamız, özellikle rasyonlarında %0.2 ve %0.3 nane yağı olan 2. ve 3. grupta yer alan bildirincinlerin karaciğer dokularının histolojik incelemelerinde yaygın yağ vakuollerinin varlığıyla karaciğer yağlanması ve buna bağlı yağ dejenerasyonu tespit edilmiş olması rasyonda nane yağının fazla miktarda bulunmasının özellikle karaciğerde dejenerasyona sebep olacağını, bu nedenle zarar vermeyen tüketim miktarlarının belirlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Gürbüz ve ark (2016) yaptıkları çalışmada etlik piliçlerde rasyona %0.5, %1, %1.5 oranlarında nane (*Mentha piperita*) ekleyerek yaptıkları çalışmada en yüksek canlı ağırlık %0.5, %1 nane eklenen gruplarda görülmüştür. En düşük canlı ağırlık ise %1.5lik nane eklenen grupta olduğu istatistiksel olarak belirtilmiştir. Bu da nanenin rasyonda kullanılırken % 1 den sonra etkisinin olumsuz olarak arttığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise nane yağının %0.2 ve %0.3 oranlarında rasyona ilavesinin karaciğerde yağlanmaya ve dejenerasyona neden olması, Daş ve ark (2020) belirttikleri gibi, rasyona yem katkı maddesi olarak %0.1 oranında nane yağı eklenmesi halinde faydalı olacağı görülmüştür.

Hayvan yetiştiriciliğinde verim artışını sağlayabilmek için öncelikle hayvanların sağlıklı olması yani hastalıklara karşı dirençli ve patojen etkenlerden korunuyor olması gerekmektedir. Bu koşullar sağlandıktan sonra beslenme kaynaklı canlı ağırlık artışına yönelinmelidir (Kron 2014). Dolayısıyla çalışma konusu olan nane yağı sağlıklı canlı ağırlık artışını sağlamak için gerek duyulan faktörleri ya doğrudan ya da dolaylı olarak karşılamaktadır. Nane yağı hayvanlarda ihtiva ettiği maddeler bakımından immun sistemi desteklemekte ve antimikrobiyal özelliğiyle yemlerdeki zararlı patojenleri etkisiz kılmaktadır (Kılıçoğlu ve ark 2017). Enfeksiyöz hastalıkların etiolojisinde yer alan mikroorganizmalar yemlerle kolaylıkla yayılmakta ve çoğalmaktadır. Özellikle hastalıkların yayılmasında en önemli faktörün alimenter bulaşma olduğu bilinmektedir (Gül ve Tekce 2018). Bunların yanı sıra hastalıkların meydana gelmesinde organizma direnci de önemli bir yer tutmakta olup, immun sistemin desteklendiği durumlarda hastalık oluşumu minimal düzeye inmektedir (Smith ve ark 2016). Bu sebepler dahilinde nane yağı hem yemlere antimikrobiyal ve antifungal etki göstererek, hem canlı vücudunda antibiyotik etkisi sağlaması ve hemde organizma da immunomodülatör etkileriyle hastalıklara karşı direnç sağladığından hayvan sağlığına önemli katkı sunmaktadır (Awaad ve ark 2016, Osman ve ark 2020). Böylece nane yağı hayvan sağlığında etkin olmasının yanı sıra canlı ağırlık artışı için de tercih edilebilir niteliktedir (Hashemi ve Davodi 2012). Sağlıklı bir canlı ağırlık artışı sağlayabilmek için

protein sentezinin artması istenen bir durumdur. Nane yağının hem sindirim sisteminde yemden yararlanma oranını arttırarak hem de doğrudan organizmada protein sentezine katkı sağlayarak sağlıklı bir canlı ağırlık artışı meydana getirdiği bilinmektedir (Akbari ve Torki 2014).

Nane yağının immun sistemi desteklemesi, antimikrobiyal özellik taşıyor olması ile protein sentezine aracılık ederek sağlıklı bir canlı ağırlık artışı sağlamakta, ancak bu gerçekleştirilirken, çalışmamızda görüldüğü gibi rasyona artan oranlarla nane yağı katılması ile nane yağı tüketimi artışı steatohepatitise yol açmakta, bu durum ise hem hayvan sağlığını olumsuz etkilemekte hem de yemden yararlanmayı düşürmektedir. Besinlerin metabolizasyonunda, enerji ve bazı vitamin ve minerallerin depolanması ve zararlı maddelerin detoksifikasyonunda rolü bulunan karaciğerin yağlanması durumunda sayılan bu görevleri yerine getirememektedir. Böylece karaciğer yağlanması sonucunda enerji metabolizmasının bozulmasıyla hayvanlarda kilo kaybı meydana gelebilmekte, beraberinde de immun sistemin zayıflamasıyla hastalık etkenlerine karşı savunmasız bir durumda kalabilmektedirler (Julian 2005).

Hepatosteatoz, karaciğerde yağ miktarının özellikle trigliseridlerin, karaciğer ağırlığının % 5' inden fazla olması veya histopatolojik incelemede hepatositlerin % 5' ten fazlasının yağ vakuolleri ile dolu olmasıdır (Koplay ve ark 2015). İnsanda karaciğer yağlanmasında; beslenme (aşırı beslenme, yetersiz beslenme, sindirim sisteminde yetmezlik), metabolik bozukluklar (diabet, lipoproteinemi), kronik hastalıklar (kronik kalp yetmezliği, kistik fibrozis), enfeksiyonlar (viruslar (Hepatit C, HIV), tüberküloz), stres/ hipoksi, endokrinopatiler ve ilaç/toksik maddeler rol oynamaktadır (Sonuz ve Baysal 2011). Çalışmamızda sayılan bu etmenlerden beslenmeye bağlı karaciğer yağlanması olduğu aşikardır. Yağlanma oluşumunun temelinde yağ oksidasyonundaki yetersizlik bulunmaktadır. Bu durum ya hücrenin metabolize edeceğinden fazla lipid taşınması ya da lipidlerin metabolize edilebilmesi için gerekli enerji ve enzim noksanlığından kaynaklanmaktadır (Karadaş ve ark 1999, Kumar ve ark 2014). Örneklerimizin mikroskopik incelemelerinde hidropik dejenerasyonla seyreden küçük damlacıklı yağ dejenerasyonunun görülmesi; rasyonla verilen nane yağı miktarının karaciğerde hücrelerin metabolize edeceğinden fazla olmasına bağlı akut metabolik yağ dejenerasyonu olduğunu, yangısal reaksiyonun enfeksiyöz bir etiolojiden ziyade metabolik bir değişikliğe bağlı nekroinflamasyondan kaynaklandığını düşündürmektedir. Zira viral enfeksiyon ve toksikasyonlarda meydana gelen yağ dejenerasyonları daha çok makroveziküller şeklinde ve uzun bir sürede meydana gelmektedir (Erer ve ark 2009).

Karaciğer yağlanmasında ilk olarak sadece yağ vezikülleri mevcuttur ki bu Tip 1 olarak değerlendirilmektedir. İlerleyen zamanda veziküllere bağlı hücrede dejenerasyon ve nekroz-





ların meydana gelmesi ile hafif yangısal uyarım şekillenir ki bu da tip 2 olarak değerlendirilir. Tip1 ve tip2 basit steatoz olarak kabul edilir. İlerleyen aşamalarda veziküllerin büyüklüğü, dejenerasyon/nekroz ve yangının şiddetlendiği durumlarda tip 3 ve bu yangısal değişikliklerin şiddetlenmesiyle fibrozisin de meydana gelmesiyle tip 4 karaciğer yağlanması şekillenmiş olur ve tip3 ve tip4 ise steatohepatitis olarak değerlendirilmektir (Sonsuz ve Baysal 2011). Çalışmamızdaki örneklerin büyük bir çoğunluğunda (Birinci ve İkinci grup) basit steatoz (tip 1 ve tip2) görülmekte ve Üçüncü grupta ise artık steatohepatitis şekillendiği gözlenmiştir. Yani nane yağı kullanımı artışına paralel olarak hafif yağ veziküllerinin oluşumu ve bunu takiben çok şiddetli olmayan yangısal değişikliklerin meydana geldiği ve ancak bazı örneklerde steatohepatitis oluştuğu görülmüştür. Dolayısıyla karaciğer yağlanması basit bir steatoz ve bunu takiben steatohepatitis, siroz (fibroz) ve hepatosellüler karsinoma kadar yolu vardır (Sonsuz 2007). Ancak çalışma uzun süreli bir uygulama olmadığından basit steatoz oluşumuyla karşılaşılmıştır. Karaciğer fonksiyonlarının aksamaması, enerji metabolizmasında bozulma, vücuttaki toksik maddelerin artışı, yağ oksidasyonunun yetersizliği ve immün sistemin zayıflamasına neden olmuştur.

Söz konusu hafif yangısal reaksiyonların şiddetli yağ dejenerasyonu akabinde gelişen nekroz ve bu nekroza bağlı nekroinflamasyon ile oluşabileceği kanısına varılmıştır. Çalışmamızda mikroskopik olarak hücre çekirdeklerinin sitoplazmalarında sınırları keskin olarak bir kenara itilmiş olması, düzensiz şekilli ve sınırları belirgin olmayan vakuolizasyonların gözlenmemesi nedeni ile yağ dejenerasyonu yönünde, glikojen birikimi ve hidropik dejenerasyondan, ayrımı yapılabildi.

Sonuç olarak nane yağı kullanımı ile yemden yararlanmanın, canlı ağırlık artışının ve immün sistemin güçlendirilerek hastalıklara dirençli ve verimli bir yetiştiricilik yapılması hedeflenilirken uygun olmayan dozda kullanılmasıyla aksi bir durumla karşılaşılmasının kaçınılmaz olduğu görülmüştür.

Öneriler

Antimikrobiyal ve immunomodülatör etkisiyle sağlıklı bir yetiştiricilik imkanı sunmasının yanı sıra protein sentezi ve yemden yararlanmayı artırarak verimin yükseltilmesine katkı sağlayan nane yağının bu sayılan olumlu özelliklerinden istifade edilebilmesi için uygun dozda verilmesi gerektiği görülmüştür. Aksi takdirde uygun olmayan kullanımla karaciğerde yağlanmaya yol açabileceği ve bu durumda hayvanlarda kilo artışından ziyade hastalıklara karşı yatkın olabileceği gözlenmiştir. Ayrıca bir diğer çözüm yolu olarak karaciğerin lipidleri metabolize etmesi için gerekli enerji ve enzim desteği sağlayarak da karaciğer yağlanmasının önüne geçilebileceği ve nane yağından optimum şekilde istifade edilebileceğini önermekteyiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Kaynaklar

- Akbari M, Torki M, 2014. Effects of dietary chromium picolinate and peppermint essential oil on growth performance and blood biochemical parameters of broiler chicks reared under heat stress conditions. *Int J Biometeorol*, 58(6), 1383-1391.
- Akkilic M, Tanyolac A 1974. Kafeste beslenen tavuk rasyonlarındaki enerji düzeyinin karaciğer yağlanması üzerine etkisi. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 21 (03.04), 370-389.
- Awaad MHH, Afify MAA, Zoufekar SA, Mohammed FF, et al., 2016. Modulating effect of peppermint and eucalyptus essential oils on vVND infected chickens. *Pak Vet J*, 36(3), 350-55.
- Alpaslan D, Dudu TE, Aktaş N, 2020. Synthesis and characterization of novel organo-hydrogel based agar, glycerol and peppermint oil as a natural drug carrier/release material. *Mater Sci Müh C*, 118, 111534
- Bayan K, Danış R, Altıntaş A, Keklikçi SU, 2004. Nonalkolik hepatosteatozun biyokimyasal özellikleri. *Dicle Tıp Derg*, 31(1), 23-6.
- Berktaş S, Çam M, 2020. Nane (*Mentha piperita* L.) distilasyonundan arta kalan hidrosolün kek üretiminde değerlendirilmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Derg*, 24(1), 17-25.
- Boyraz MÜ, Dörtbudak MY, Dörtbudak MB, 2019. Investigation of non-alcoholic steatohepatitis in *Labido chromis caeruleus* and *Xiphophorus hellerii*. *Eurasian J Vet Sci*, 35(1), 49-55.
- Çolak Y, Tuncer İ, 2010. Nonalkolik karaciğer yağlanması ve steatohepatit. *İst Tıp Fak Derg*, 73(3).
- Erer H, Kiran MM, Çiftçi MK, 2020. Veteriner Genel Patoloji, In: *Dejenerasyonlar ve metabolizma bozuklukları*, Ed; Kiran MM, Yedinci Baskı, Atlas Kitabevi, Konya, Türkiye, pp; 104-105.
- Ergün L, Aştı RN, Ergün E, 2001. Bıldırcının (*Coturnix coturnix japonica*) karaciğer sinuzoidal hücreleri üzerinde elektron mikroskopik çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 48(03), 213-218.
- EU, 2018. Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on Veterinary Medicinal Products and Repealing Directive



- 2001/82/EC. Retrieved 28/12/2020, <http://data.europa.eu/eli/reg/2019/6/oj>.
- FDA, 2017. FDA Reminds Retail Establishments of Upcoming Changes to the Use of Antibiotics in Food Animals. Silver Spring, MD: US Food and Drug Administration.
- Ghasemi M, Veldkamp T, VanKrimpen M, Ebrahimnezhad Y, et al., 2020. Determining tolerance of Japanese quail to different dietary fat peroxidation values by supplementation with Rosemary and Aloe Vera on performance and meat quality. *Anim Feed Sci Technol*, 267, 114574.
- Gören B, Fen T, 2005. Non-alcoholic fatty liver disease. *Tur Klinik J Med Sci*. 25(6), 841.
- Gurbuz Y, Ismael A, 2016. Effect of peppermint and basil as feed additive on broiler performance and carcass characteristics. *Iran J Appl Anim Sci*, 6(1), 149-156.
- Gücin Z, Geçer M, 2020. Nonalkolik steatohepatitler (27 olguda histolojik özellikler, grade ve stage değerlendirilmesi), *İst Tıp Fak Derg*, 4, 5-9, 2020
- Gül M, Tekce E, 2018. Yemlerde Mikrobiyolojik Kontaminasyonlar, In: Hayvan Beslemede Mikroorganizmaların Etkinliği, Ed; Seven PT, Türkiye Klinikleri, Ankara, Türkiye, pp;24-32.
- Hamedi S, Shomali T, Ghaderi H, 2017. Effect of dietary inclusion of *Mentha piperita* L. on histological and histomorphometrical parameters of the small intestine in broiler chickens. *Organic Agriculture*, 7(2), 105-110.
- Hashemi SR, Davoodi H, 2012. Herbal plants as new immunostimulator in poultry industry: a review. *Asian J Anim Vet Adv*, 7(2), 105-116
- Jacobsen M, Jaspers V, Ciesielski TM, Jenssen BM, et al., 2017. Japanese quail (*Coturnix japonica*) liver and thyroid gland histopathology as a result of in ovo exposure to the flame retardants tris (1, 3-dichloro-2-propyl) phosphate and dechlorane plus. *J Toxic and Env Health, Part A*, 80(9), 525-531.
- Jaspers VL, 2015. Selecting the right bird model in experimental studies on endocrine disrupting chemicals. *Frontiers in Env Sci*, 3, 35.
- Julian RJ, 2005. Production and growth related disorders and other metabolic diseases of poultry—a review. *The Vet J*, 169(3), 350-369.
- Kara M, Erdal M, 2014. Sıklığı artan bir halk sağlığı sorunu: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 13(1), 65-76.
- Karan M, Baygeldi SB, Özkan ZE, Timurkaan S, et al., 2018. Japon bıldırcınlarının (*Coturnix coturnix japonica*) karaciğerinin morfolojik yapısının incelenmesi. *Sağ Bil Vet Der Fırat Üniv*, 32 (3), 209-212.
- Karadaş E, Özer H, Beytok E, 1999. Rendering yağı içeren yemle beslenen broiler piliçlerde “karaciğer-böbrek yağlanması sendromu” üzerinde patolojik ve biyo-kimyasal araştırmalar. *Tr J Vet Anim Sci*, 23, 93-104.
- Kılıç A, 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fak. Derg*, 10 (13), 37-45.
- Kılıçoğlu B, Uyarlar C, Tunç AC, Başer DF, et al., 2017. Taylara oral olarak uygulanan bitkisel yağ ekstraktı karışımının (nane, kekik, anason) immun sistem üzerine etkisi. *Kocatepe Vet J*, 10(4), 287-94.
- Koplay M, Sivri M, Erdogan H, Nayman A, 2015. Importance of imaging and recent developments in diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*, 7(5), 769.
- Kron G, 2014. Animal husbandry, In: *The Oxford Handbook of Animals in Classical Thought and Life*, Ed; Gordon LC, Oxford University Press, Oxford, United Kingdom, pp; 109-135.
- Kumar V, Abbas, AK, Fausto N, Aster JC, 2014. Robbins and Cotran pathologic basis of disease, Professional edition e-book, In: *General pathology*, Ed; Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Elsevier health sciences, Canada, pp; 8-12.
- Nayak P, Kumar T, Gupta AK, Joshi NU, 2020. Peppermint a medicinal herb and treasure of health: A review. *J Pharm Phytochem*, 9(3), 1519-1528.
- Nowakiewicz A, Zięba P, Gnat S, Matuszewski Ł, 2020. Last call for replacement of antimicrobials in animal production: Modern challenges, opportunities, and potential solutions. *Antibiotics*, 9(12), 883.
- Osman KM, Kamal OE, Deif HN, Ahmed MM, 2020. Phoenix dactylifera, mentha piperita and montanide™ ISA-201 as immunological adjuvants in a chicken model. *Acta tropica*, 202, 105281.
- Satman İ, Kocabay G, 2006. Diyabet ve karaciğer yağlanması. *Tur Klinik J Med Sci*, 26(2), 176-188.
- Sonsuz A, 2007. Nonalkolik karaciğer yağlanması. *Ü Cerrahpaşa Tıp Fak Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri*, 58, 91-8.
- Sonsuz A, Baysal B, 2011. Karaciğer yağlanması ve nonalkolik steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji*. 15(2), 98-106.
- Stringaro A, Colone M, Angiolella L, 2018. Antioxidant, antifungal, antibiofilm, and cytotoxic activities of *Mentha* spp. *Essential Oils Medicines Basel, Switzerland*, 5(4), 112.
- Şevik İ, 2019. Graviola (*Annova muricata* L.) bitkisinin uçucu bileşiklerinin kompozisyonu ve antioksidan aktivitesinin tayini. Yüksek lisans tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Smith J, Gheyas A, Burt DW, 2016. Animal genomics and infectious disease resistance in poultry. *Rev Sci Tech*, 35(1), 105-119
- Toprak D, 2011. Hepatosteatoz (Fatty Liver Disease). *The JI of Tur Family Phys*, 50-57.
- Uysal AR, 2005. Metabolik sendrom ve hepatosteatoz. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(1), 53-57.
- Vargas-Sánchez RD, Torrescano-Urrutia GR, Ibarra-Arias FJ, Portillo-Loera JJ, et al., 2018. Effect of dietary supplementation with *Pleurotus ostreatus* on growth performance and meat quality of Japanese quail. *Livest Sci*, 207, 117-125.
- Wilkinson N, Dinev I, Aspden WJ, Hughes RJ, et al., 2018. Ultrastructure of the gastrointestinal tract of healthy Japanese quail (*Coturnix japonica*) using light and scanning electron microscopy. *Animal nutrition*, 4, 378-387.



Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak

Tasarım: Mustafa Ünal Boyraz, Besime Daş, Akın Yiğın, Aydın Daş

Denetleme/Danışmanlık: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak, Akın Yiğın

Veri Toplama ve/veya İşleme: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak, Akın Yiğın, Besime Daş, Aydın Daş, Şevki Çadıcı

Analiz ve/veya Yorum: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak

Kaynak Taraması: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak, Şevki Çadıcı

Makalenin Yazımı: Mustafa Ünal Boyraz, Muhammet Bahaeddin Dörtbudak,

Eleştirel İnceleme: Muhammet Bahaeddin Dörtbudak, Akın Yiğın, Besime Daş, Şevki Çadıcı

Etik Onay

Sunulan çalışma, 2018/03 karar sayılı Siirt Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınmış olan onay ve izinle yürütüldü.

CITE THIS ARTICLE: Boyraz MÜ, Dörtbudak MB, Daş B, Yiğın A, Çadıcı ŞM, Daş A, 2021. Bildirgin (*Coturnix coturnix japonica*) yemine büyüme destekleyicisi olarak artan oranda nane yağı (*Mentha piperita*) ilavesinin karaciğer histolojisine etkilerinin ışık mikroskopik incelenmesi. *Eurasian J Vet Sci*, 37, 2, 62-70

