

ESVCN İŞLEMLERİ

# Sı çanlarda fulvik ve hümik asitlerin performans, bağı şı klı k tepkisi ve tiroid fonksiyonu üzerine etkisi

TARAFINDAN Vucskits<sup>1</sup>, I. Hullar<sup>1</sup>, A. Bersé nyi<sup>1</sup>, E. Andrá sofszky<sup>1</sup>, M. Kulcsá r<sup>2</sup> ve J. Szabo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hayvan Yetiştiriciliği, Beslenme ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi Bölümü, Veterinerlik Fakültesi, Szent Istva'n Üniversitesi, Budapeşte, Macaristan ve

<sup>2</sup> Jinekoloji Bölümü, Szent Istva'n Üniversitesi, Budapeşte, Macaristan

## Anahtar

Kelimeler hümik madde, fulvik asit, hümik asit bağı şı klı k tepkisi, tiroid fonksiyonu, sı çan

## Yazı şma Andrá's

Valentin Vucskits, Hayvan Yetiştiriciliği, Beslenme ve Laboratuvar Hayvan Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Fakültesi, Szent Istva'n Üniversitesi, Istva'n Str. 2. H-1078 Budapeşte, Macaristan. Tel: +36 1 413 6240; Faks: +36 1 413 6241; E-posta: vucskits.andras@aotk.szie.hu

Geliş tarihi: 24 Aralık 2009; kabul tarihi: 9 Nisan 2010

## Özet

Hümik asit (HA) ve fulvik asidin (FA) sı çanlarda üretim parametreleri, bağı şı klı k yanıtı ve tiroid fonksiyonu üzerindeki etkisi iki deneyde araştırıldı. İlk deney: kontrol veya %0,1, %0,2, %0,4, %0,8 HA veya FA takviyeli diyetler. İkinci deney: kontrol ve %0,4 HA veya FA takviyeli diyetler. Her iki denemede de besleme periyodu 26 gün sürmüştür. Üretim parametrelerinde önemli bir değişiklik gözlenmedi. HA veya FA takviyeli diyetlerdeki sı çanların ovalbümin antikor titresi, kontrole (%100) göre doza bağı mlı (%0.4 takviyede) ve anlamlı ( $p < 0.05$ ) artış (sı rası yla %350 ve %418) gösterdi. FA ile desteklenmiş sı çanlarda doza bağı plazma TSH artışı ( $r = 0.99$ ) ve T4/T3 oranı nda azalma ( $r = 0.97$ ) gözlemlendi. İkinci deney: Hem FA hem de HA, 14. günde (ortalama değerler: kontrol: 685.79; FA: 1131.37; HA: 1055.6099) ve 26. günde (kontrol: 544.31; FA: 1969.83; HA: 1600.00) bağı şı klı k tepkisini uyardı. Lenfosit stimülasyon testi ile anlamlı bir fark görülmedi. İleum ve dalaktaki 'B' bağı mlı lenfoid dokularının çapı, hem FA hem de HA ile tedavi edilen hayvanlarda önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) daha büyüktü. Hümik asit ve FA takviyesi, güçlü hümoral bağı şı klı k uyarımı ile sonuçlandı. Verilerimiz ayrıca hümik maddelerin hafif hipotiroid etkisinden FA içeriğinin sorumlu olduğunu göstermektedir.

## Giriş

Hümik maddeler (HS'ler), linyit, çim, toprak, içme suyu vb.'de bulunabilen çok yaygın organik maddelerdir (Andersen ve diğerleri, 2005). Ölü bitki ve hayvan dokularını organik maddelerinden mikrobiyal aktivite ile üretilirler (Herzig ve ark., 2001).

Hümik maddelerin kimyasal olarak homojen olmadığı nı bilmek önemlidir. Hümik asitlerin en aktif iki fraksiyonu hümik asit (HA) ve fulvik asittir (FA). Hümik

asit, alkali koşullar altında suda çözünür ve 5000–100 000 Da moleküler ağı rlı ğa sahiptir.

Hümik asit bağı rsaktan zayı f bir şekilde emilir (%1-5). Fulvik asit, tüm pH koşullarında suda çözünür ve düşük moleküler ağı rlı ğı nedeniyle (yaklaşık 2000 Da), bağı rsak sisteminden iyi emilir ve saatler içinde vücuttan atılır (Islam ve ark., 2005).

Islam ve ark. (2005) ve Van Rensburg'un (2005) doktora tezi, hümik maddelerin kimyasal özellikleri ve biyolojik aktivitesi

aşağıdaki gibi özetlenebilir. Hümik maddeler olabir canlı bir organizmanı n hemen hemen tüm kimyasal bileşikleri ile reaksiyona girer.

İnorganik katyonlar hümik maddelere iyonik, kompleks, şelatlı ve polar adsorpsiyonel bağlarla bağlanabilir. Ana reaktif gruplar, hümik maddelerin asidik karboksil ve hidroksil gruplarıdır.

Biyolojik sistemlerde elektron ve oksijen transfer molekülleri olarak görev yaparlar. Bu yetenek, FADH2 ve NADH koenzimlerine benzer şekilde hücrelerde katalizör görevi görmelerini sağlar. Hümik maddelerin yukarıda belirtilen özellikleri, rapor edilen büyüme teşvik edici etkileri için bazı açıklamalar verebilir.

Büyüme destekleyici etkiler esas olarak kümes hayvanları nda araştırılmıştır. Menefee Humate'in (HA %60, FA %26; <http://www.rockymtn.bioproducts.com>) kümes hayvanları nı n canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı (FCR) üzerindeki olumlu etkisi Bailey ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. (1996), Parks (1998), Eren ve ark. (2000) ve Kocabağlı ve ark. (2002). Öte yandan Yalçın ve ark. (2005), yumurtacı bıldırcınlarda diyetteki humatın büyüme teşvik edici herhangi bir etkisini tespit edememiştir.

Schumacher ve Gropp (2000) tarafından sütten kesilen domuzlarda büyüme destekleyici bir etki bildirilmemiştir.

HS'lerin ağırlıklı düzenleyici etkisi uzun zamandır bilinmektedir. Turba ekstraktları, çeşitli durumları tedavi etmek için banyolarda kullanılmıştır (Brandt, 1964; Eichelsdörfer, 1976; Kloßking, 1994). Birinci Dünya Savaşı'nda yara enfeksiyonlarını önlemek için turba özleri kullanıldı (Haanel, 1924). Hümik maddelerin antimikrobiyal (Cloete ve ark. 1990; Van Rensburg ve ark. 2000), antiinflamatuar (Van Rensburg ve ark. 2001) ve antiviral (Thiel ve ark. 1981) etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Van Rensburg ve ark. (2002) HA, hem immün sistemi uyarıcı hem de antiviral özelliklere sahiptir.

Dos Santos ve ark. (2007), hümik maddelerin farelerde oral uygulama yoluyla 512 mg/kg konsantrasyona kadar toksik olmadığı nı bulmuşlardır. Ancak önceki çalışmalarda (Delange, 1988; Huang ve Fung, 1991; Huang ve diğerleri, 1994; Herzog ve diğerleri, 2001) HS'lerin hipotiroid etkisi olduğu bildirilmiştir. Hümik maddeler ve hümik maddelerin parçalanması ndan kaynaklanan kimyasal bileşikler (resorsinol, orsinol, floroglusinol vb.) endemik guatrın etiolojisinde önemli rol oynayabilir (Herzig ve ark. 2001). Hümik maddelere doğal guatrojenler denilebilir (Delange, 1988; Huang ve Fung, 1991). Huang ve ark. (1994), hümik maddelerle birlikte düşük iyot konsantrasyonu içeren diyetlerin sıçan serumundaki T4'ü önemli ölçüde azalttığı nı ve T3 konsantrasyonunu arttırdığı nı göstermiştir. Herzog ve ark. (2001), yeterli iyot içeren (%90.04 kuru maddede 0.5 mg iyot/1 kg) %3 HA (sodyum humat) takviyeli diyetle beslenmenin olduğunu bulmuşlardır.

fekal iyot atılımını önemli ölçüde artırdığı ve kan serumunda önemli ölçüde daha yüksek T3 konsantrasyonu ile sonuçlandı. Yazarlar tarafından verilen bu fenomenlerin açıklaması, hümik maddelerin diyetteki iyotun biyoyararlanımını, kullanımı ve tutulmasını azalttığı şeklindedir (Huang ve diğerleri, 1994; Herzog ve diğerleri, 2001).

Bilimsel literatürdeki tüm veriler temel alındığı ndan HA ve FA içeren ürün veya malzemelerin farklı rasyonları nda, deneylerimizin amacı, hümik maddelerin (FA ve/veya HA) hangi bileşen/bileşenlerinin büyüme teşviki, ağırlıklı tepkisi üzerinde bildirilen etkilerden sorumlu olduğunu belirlemektir. ve tiroid fonksiyonunun yanısıra etkili doz.

#### Hayvanlar, malzemeler ve yöntemler

##### Deney 1 Yetmiş

iki sütte kesilmiş, Wistar CRL(WI) BR, erkek, SPF sıçan kullanıldı. 4 gün sonra adaptasyon hayvanları, vücut ağırlıklarına göre rastgele dokuz diyet tedavisi grubuna ayrıldı. Diyetler Amerikan Beslenme Enstitüsü'nün (Reeves, 1997) AIN-93G formülüne göre oluşturuldu. Diyetin tipik analizi Tablo 1'de gösterilmektedir. Bir grup kontrol diyeti aldı, 4-4 tedavi grubu FA veya HA takviyeli (her biri sırasıyla %0.1, %0.2, %0.4 ve %0.8) diyetler aldı. Deneme yemleri 26 gün boyunca beslendi. Hayvanlar, 24°C ortam sıcaklığı nda ayrı kafeslerde barındırıldı. Su ve diyetler deney boyunca ad libitum olarak verildi. Canlı ağırlık ve yem tüketimi haftada üç kez ölçüldü. Beslenme periyodunun ikinci gününde hayvanlara ovalbumin (0.2 ml ovalbümin, 0.4 ml (tam Freund adjuvanı ve 0.4 ml fosfat tamponlu solüsyon (PBS)/100 g vücut ağırlığı, ip) ile aşılandı. deneme, fareler öldürüldü (90 mg/BW CP Ketamin ve 0.5 mg/BW Medetomidin) ve deliriler.

Hem FA hem de HA, ORGANIT H-8200 Veszpre'm, József Attila tarafından geliştirildi. 34 Macaristan ve linyitten çıkarılmıştır. HA ve FA'nın ekstraksiyon süreci şu şekildeydi: Macaristan'ın Bakony tepelerindeki Dudar köyünün yanında çıkarılan orijinal malzeme Dudarite (leonardit) ile muamele edildi.

Tablo 1 AIN-93G'nin tipik analizi (büyüme için saflaştırılmış diyet)

Protein, %	18.7
Şişman, %	7.0
Lif, %	5.0
karbonhidrat, %	64.7
Metabolize edilebilir enerji, kcal/g	3,97

alkali ekstraksiyonu (%10 Dudarite içeren toz, 60°C'de %2 NaOH çözeltisi içinde eritilir) 2 saat.

Bir sonraki adı m, %3 hidrojen peroksit oksidasyonuydu. Bu işlemden sonra, süpernatant asitle muamele edildi (% 5 HCl oksitlenmiş çözeltiye konur). Bu süreçte HA fraksiyonu çökelir, FA fraksiyonu süpernatanda kalır. FA'nı n saflaştırılması için reçine kolon ayrımı kullanıldı. Bu işlem sırasında FA hümk olmayan maddelerden (amino asitler, peptitler, şekerler vb.) ayrıdır. Düşük pH'ta, FA reçine üzerinde adsorbe olur, ancak hümk olmayan maddeler kolondan geçer. Yukarıda bahsedilen standartlaştırılması süreçle, kimyasal olarak saf HA ve FA, kontaminasyon olmadan (metaller, amino asitler, şekerler, vb.) üretilebilir.

Plazma örnekleri alınarak hormon testleri yapılmaya kadar -20 C'de saklandı. T4 seviyeleri, Institute of Isotopes'in (Budapeşte, Macaristan) insan kullanımı için geliştirilmiş, biraz modifiye edilmiş ve daha önce sı çan plazması nı da test etmek için doğrulanmış 125I-T4 coted-spec.-RIA kiti ile belirlendi. Test içi ve testler arası varyasyon katsayıları (CV), her test çalışması na düşük (ortalama: 10.542 nmol/l) ve yüksek (ortalama: 85.73 nmol/l) kontrol plazması nı n 3-5 paralel eklenerek belirlendi.

Sı rası yla % 12,53-10,54 ve % 4,23-6,72 idi.

Testin hassasiyeti 0,46 nmol/l idi. T3 konsantrasyonları, Institute of Isotopes'in sı çan plazması için onaylanmış insan 125I-T3 kaplı RIA kiti ile test edildi. Testin hassasiyeti 0,18 nmol/l idi. Testler arası ve testler arası CV, düşük (ortalama: 0,561 nmol/l) ve yüksek (ortalama: 2,619 nmol/l) numunelerde sı rası yla %10 ve %8'in yanı sıra %10 ve %7'nin altındaydı.

İki tahlil sisteminin hepsinde, seri olarak seyreltilmiş sı çan numunelerinin bağlanma paterni, standart eğrilerine paralel ve eklenen T4 ve T3 sı çan plazması nı n geri kazanımı, %96 ile %105 arası nda değişti. Plazma örneklerinin rTSH konsantrasyonları Amersham Bioscience RPA554 kiti (Uppsala, İsveç) ile belirlendi.

Örneklerin antikor titreleri Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı 'nda ELISA ile analiz edildi. Slayt 12 · 8'in yuvaları, karbonat tampon çözeltisi (0.05 mol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 0.05 mol NaHCO<sub>3</sub> karışımı; pH 9.6) kullanılarak ovalbümin (1:10 000 seyreltme) ile kaplandı. Testi doğrulamak için pozitif ve negatif serum örnekleri kullanıldı. Örneklerin (1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12 800, 1:25 600, 1:51 200, 1:102 400) seyreltilmesi için ELISA kiti yı kayı cı -seyreltici (PBS) kullanıldı. Seyreltilmiş numuneler slaytları n kuyucukları na uygulandı. 90 dakikalık inkübasyon süresinden sonra (37°C'de) lamlar ELISA kiti yı kayı cı -dilüer solüsyonu ile üç kez durulandı,

daha sonra 200 ul konjugat (DAKO anti-sı çan IgG) uygulandı. İyot başına ikinci inkübasyonun ardından, slaytlar tekrar üç kez durulandı. Yüz mikrolitre sübstrat (tetrametilen-benzidin) kuyucuklara bir belirteç olarak uygulandı. Reaksiyon 50 ul 4 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solüsyonu ile durduruldu. Sonuçları n değerlendirilmesi Multiskan MS Primer EIA V.1.8-0 cihazı ve yazılı mı ile 450 nm'de gerçekleştirilmiştir.

## Deney 2

Otuz adet 8 haftalık Wistar CRL:(WI) BR, dişi, SPF sı çan kullanıldı. 4 günlük adaptasyondan sonra hayvanlar, vücut ağırlıkları na göre rastgele üç diyet tedavi grubuna (her grupta 10 hayvan) ayrıldı. Diyetler deney 1'deki gibi formüle edildi. Bir grup kontrol diyetini aldı, 1-1 tedavi grubu sı rası yla FA %0.4 veya HA %0.4 takviyeli diyetler aldı. Barınak, yem ve içme suyu yukarıdaki deney 1'deki gibi sağlandı. Deneyin ikinci gününde hayvanlar, Freund'un tamamlanmamış adjuvanı na dahil edilen ovalbümin ile aşılandı (hayvanlara 150 ug ovalbümin, 150 ul tamamlanmamış Freund adjuvanı 150 ul PBS içeren süspansiyon sc enjekte edildi). Deneyin 14. gününde ileri ELISA testleri için kuyruk arterinden kan örnekleri alındı. 26. günde hayvanlar öldürüldü (90 mg/BW CP Ketamin ve 0.5 mg/BW Medetomidin) ve ileri ELISA testi için kan örnekleriyle kanları alındı ve histometrik analiz için dokular çıkarıldı.

Numunelerin antikor titre belirlenmesi, aşağıdaki serum dilüsyonları (1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1: 6400, 1:12 800, 1:25 600, 1:51 200, 1:102 400, 1:204 800).

Hücresel bağışıklık tepkisi uyumlu olarak incelendi Nochta ve ark. (2008).

Histometrik analiz Merkezi Veterinerlik Enstitüsünde gerçekleştirildi. Duodenum, jejunum, ileum ve dalak örnekleri %10 nötr tamponlu formalin solüsyonunda fikse edildi, dehidrasyon, gömme, hematoksilen-eozin boyaması Sheenan ve Hrapchak (1980) tarafı ndan açıklanan protokole göre yapıldı. İleumun lenfoid folikülleri (Payer yamaları) ve 'T' bağımlı peri-arteriyolar lenfoid hücre bölgesinin ve 'B' bağımlı marjinal hücre bölgesinin boyutunun ortalama olarak temsil edildiği dalak numunelerinde histometrik analiz yapılmıştır. her nesnenin 10-10 ölçüm değeri.

Deneyel verilerin istatistiksel analizi için Cochran testi, anova ve post hoc LSD kullanıldı.

Bu çalışmada Macar Bilimsel Veteriner Odası Hayvan Kullanımı ve Bakımı İdari Danışma Kurulu tarafından onaylanmıştır ve deney hayvanlarını kullanımı na ilişkin Avrupa Birliği direktiflerine uygundur (CECAE, 1992).

## Sonuçlar

### Büyüme parametreleri

Kontrol değerleri ile ilgili olarak, FA veya HA takviyesi, yem alımını, kilo alımını ve FCR'yi önemli ölçüde etkilemedi (Tablo 2).

### bağışıklık tepkisi

İlk denemede, hem FA (%418 antikor titresini, kontrolün göreceli %'si olarak ifade edilir;  $p < 0.05$ ) hem de HA (%350 antikor titresini, kontrolün göreceli %'si olarak ifade edilir;  $p < 0.05$ ) tedavisi, önemli anti vücut titresini artırmaya sonuçlandı. %0.4 dahil etme düzeyinde (Tablo 3). 14 günlük ikinci denememizde FA (%165)

Tablo 2 Yem alımı, ağırlık artışı ve yemden yararlanma oranı (ortalama  $\pm$  SEM)

	Yem tüketimi (g/100 g VA/gün)	Kilo almak	Beslemek dönüşüm oranı (fiyoyun)
Kontrol	18,15 $\pm$ 0,88	6,07 $\pm$ 0,46	3,04 $\pm$ 0,11
FA %0,1	17,32 $\pm$ 0,71	5,57 $\pm$ 0,39	3,16 $\pm$ 0,13
FA %0,2	17,93 $\pm$ 0,54	6,01 $\pm$ 0,30	3,01 $\pm$ 0,10
FA %0,4	16,63 $\pm$ 0,43	5,53 $\pm$ 0,28	3,04 $\pm$ 0,13
FA %0,8	16,68 $\pm$ 0,52	5,08 $\pm$ 0,21	3,31 $\pm$ 0,11
HA %0,1	17,37 $\pm$ 0,43	5,43 $\pm$ 0,32	3,24 $\pm$ 0,11
HA %0,2	18,09 $\pm$ 0,66	6,14 $\pm$ 0,39	3,00 $\pm$ 0,13
HA %0,4	18,51 $\pm$ 0,42	6,30 $\pm$ 0,28	2,96 $\pm$ 0,09
HA %0,8	18,64 $\pm$ 0,91	6,15 $\pm$ 0,48	3,08 $\pm$ 0,10

Tablo 3 Deney 1'in serum numunelerinin antikor titreleri

	günlük 2 (ortalama $\pm$ SEM)	Kontrole göre (%)
Kontrol	12,93a $\pm$ 0,53	100,0a $\pm$ 30,79
FA %0,1	13,52 $\pm$ 0,40	127,0 $\pm$ 28,85
FA %0,2	13,50 $\pm$ 0,66	187,0 $\pm$ 103,17
FA %0,4	15,14b $\pm$ 0,45 $\pm$	418,6b $\pm$ 293,9 $\pm$
FA %0,8	0,41	92,17
HA %0,1	14,22 $\pm$ 0,64	270,6 $\pm$ 74,42
HA %0,2	14,14 $\pm$ 0,50	216,2 $\pm$ 55,57
HA %0,4	14,77b $\pm$ 0,47 $\pm$	350,0b $\pm$ 168,34 $\pm$
HA %0,8	0,71	63,57

Aynı sütunda farklı üst simgeler taşıyan ortalama değerler önemli ölçüde farklılık gösterir ( $p < 0.05$ ).

ve HA (%154) ovalbümin tehdidine karşı antikor titresini hafifçe artırdı. Bu değerler, deneyin 26. gününde kontrole göre FA'da %362'ye ve HA ile tedavi edilen sıçanlarda %294'e yükseldi (ortalama: kontrol: 544.31; FA: 1969.83; HA: 1600.00)

(Tablo 4). Lenfosit uyarıcı testte ise gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Histometrik analiz (Tablo 5), ileumda, Payers yamalarındaki lenfoid foliküllerin germinal merkezinin boyutunun FA ve HA ile tedavi edilen hayvanlarda 800-900  $\mu$ m ve hayvanlarda 300-400  $\mu$ m olduğunu göstermektedir. kontrol fareleri (Resim 1;  $p < 0.05$ ).

Dalağın lenfoid agregatlarındaki 'B' bağımlı marjinal lenfoid hücre bölgesinin ortalama kalınlığı FA ve HA destekli gruplarda 151-200  $\mu$ m, kontrol grubunda 100-150  $\mu$ m idi ( $p < 0.05$ ) (Resim 1). FA ve HA takviyeli gruplarda, histolojik incelemelerde germinal merkez de tespit edilebildi.

### Tiroid fonksiyonu

Hümkik asidin plazma örneklerinin TSH, T3, T4 konsantrasyonları ve T4/T3 oranı üzerinde ne anlamlı ne de doza bağlı bir etki olmamıştır (Tablo 6). FA takviyesi, plazma TSH konsantrasyonunu doza bağlı bir şekilde artırdı ( $R = 0.99$ ) (Tablo 6). FA dozu ile T3 veya T4 plazma konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 6).

T4/T3 oranı, diyet FA'nın dahil edilme oranı ( $R = 0.97$ ) ile negatif bir korelasyon gösterdi (Tablo 6). Plazmanın T3 ve TSH veya T4 ve TSH konsantrasyonu arasında hiçbir korelasyon tespit edilememiştir; ancak plazma TSH ile T4/T3 oranı arasında negatif bir korelasyon ( $R = 0.93$ ) bulundu.

### Tartışma

Birinci deneyde FA veya HA dozunun bağımlı olarak büyüme parametrelerini etkileyip etkilemediği sorusu test edildi. Yem alımı, canlı ağırlık artışı veya FCR için önemli bir değişiklik kaydedilmedi. Bu sonuçlar Yalçın ve ark. (2005), diyet %0,15 Farmagu "lato" r Dry Plus eklendiğinde, hümkik maddelerin yumurtacı bıldırcınların performansını etkilemediğini bulan ve ayrıca hümkik maddelerin etkili olduğunu bildiren Schumacher ve Gropp'un (2000) bulgularıyla aynı fikirde olan süttan kesilen domuzlarda büyümeyi teşvik edici bir etki olmamıştır. Bununla birlikte, daha yüksek HS'ler içermesi - %0,5 ile Menefee Humate, Bailey ve ark. (1996) kanatlılarda, %1.0 Menefee Humate by Parks (1998) türkiyede, %0.25

Tablo 4 Deney 2'nin serum numunelerinin antikor titreleri

	Kontrol	fulvate	Humate	Kontrol	fulvate	Humate
	14 gün			26 gün		
geometrik ortalama	685.79	1131.37	1055.60	544.31	1969.83	1600.00
Kontrol günlüğüne	100.00	164.97	153.92	100.00	361.89	293.94
göre 2 ± SEM	9,42 ± 0,49	10,14 ± 0,43	10,0 ± 0,6	9,24 ± 0,52	10,9 ± 0,76	10,64 ± 0,61

Tablo 5 İleum ve dalaktaki 'B' hücre bağı mli lenfoid dokuları n çapı

'B' hücrelerine bağı mli lenfoid dokunun çapı	Kontrol	fulvate	Humate
	İleum		
İleum	150a	300-400a	850-900b
Dalak	100-200b	850-900b	100-

Aynı sütunda farklı üst simgeler taşıyan ortalama değerler önemli ölçüde farklılık gösterir (p < 0.05).

Farmagu" lato" r Dry Plus, Eren ve ark. (2000) piliçlerde, %0.25 Farmagu" lato" r Dry Plus by Kocabağlı et al. (2002) piliçlerde – önemli büyüme destekleyici etki tespit edildi. Bulguları mı za ve literatürdeki verilere dayanarak, düşük veya yüksek dozlarda FA veya HA ile beslenen SPF fareleri, herhangi bir performans yararı (yem alımı, vücut ağırlığı artışı, FCR) göstermedi; ortam koşulları ne FA ne de HA'nın doğrudan büyümeyi teşvik edici etkisi yoktur. Aynı zamanda, çiftlik ortamlarıyla ilgili çalışmaları mı z için deney ortamını n, gözlemlenen farklılıklara kesinlikle katkı da bulunabilecek şekilde büyük ölçüde azaltılmış bir patojen yükü taşıdığı göz önünde bulundurulmalıdır.

Ovalbümin tehdidine karşı antikor titresindeki sapmayı inceledikten sonra, hem HA hem de FA'nın, %0.4 takviyede sı çanların bağı mli k tepkisini (kontrol değerine göre sı rası yla %250 ve %318) uyardığı sonucuna varılmıştı r. FA (r = 1) durumunda şaşı rtıcı derecede güçlü olan, HA'nın (r = 0.86) dahil edilme seviyesinin %0.4'e varan bir polinom doza bağı antikor titre artışı saptandı .

İlk deneyimizin bulgularına dayanarak, FA ve HA takviyesinin bağı mli uyarıcı diyet seviyesinin anlamlı (p < 0.05) %0.4 olduğu söylenebilir. İkinci denememizde FA ve HA'nın bağı mli uyarıcı etkisini doğrulayabildik (Tablo 4).

Joone ve ark. (2003), lenfosit uyarıcı test ile gruplar arası nda fark tespit edemedik.

Tablo 6 Deney grupları nın T3, T4, T4/T3 ve TSH plazma konsantrasyonları (ortalama ± SEM)

TSH	T3	T4	T4/T3
	/ ml nmol/l		
Kontrol	4,09 ± 1,24	2,18 ± 0,27	80,88 ± 15,56
FA %0,2	5,79 ± 2,04	2,39 ± 0,26	83,58 ± 15,26
FA %0,4	5,50 ± 1,05	2,05 ± 0,25	68,44 ± 14,60
FA %0,8	6,32 ± 2,93	2,17 ± 0,13	68,72 ± 17,49
HA %0,1	5,50 ± 2,26	2,18 ± 0,37	72,39 ± 13,41
HA %0,2	5,19 ± 1,44	2,36 ± 0,53	92,49 ± 18,44
HA %0,4	3,33 ± 0,92	2,34 ± 0,33	92,06 ± 9,36
HA %0,8	4,50 ± 2,11	2,35 ± 0,47	80,83 ± 15,46
			39,75 ± 5,82

Sonuçları mı z, FA ve HA'nın sadece bağı mli k tepkisini arttı rmakla kalmayı p, aynı zamanda zamanı da uzattığı nı göstermektedir, bu nedenle, deneyin 26. gününde, kontrol grubunun antikor titresi, 14. gün numunelerinin değerine göre (20.63) azalmıştı r. , oysa hem FA hem de HA, plazmanın antikor konsantrasyonunu arttı rdı (sı rası yla +%74,11 ve +%51,57) (Şekil 1). HS'lerin bağı mli k tepkisi üzerindeki etki mekanizması ile ilgili olarak, Joone ve ark. (2003), kömürden elde edilen oksihumatin, artan IL-2 üretimi ve IL-2 reseptörünün lenfositler üzerindeki ekspresyonu yoluyla lenfositlerin proliferatif tepkisini arttı rdığı nı ve bunun da TH1 hücrelerinin aktivitesinin artmasıyla sonuçlandığı nı bulmuşlardı r.

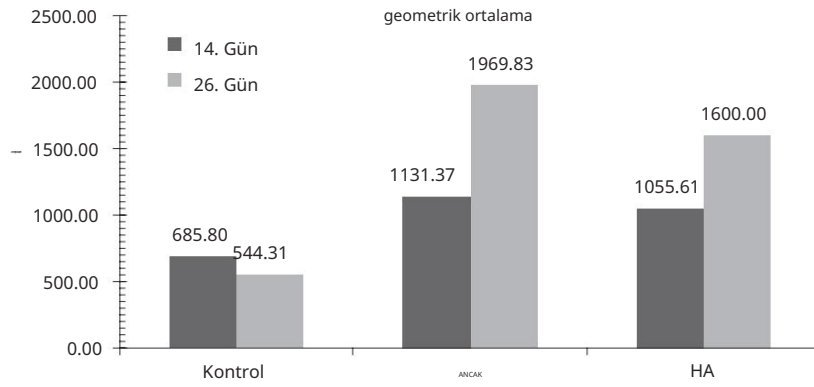
Histometrik sonuçları mı za dayanarak, dalağı n 'B' bağı mli alanlarını n (marjinal lenfoid hücre bölgesi), histolojik olarak saptanabilen germinal merkezin boyutunda ve germinal merkezin çapını n iki kat arttı rdığı nı söyleyebiliriz. FA ve HA ile desteklenmiş gruplarda ileumdaki lenfoid foliküllerin sayısı ndaki artışı, artan lenfoblast proliferasyonundan kaynaklanı r, bu da hem FA hem de HA'nın güçlü bir hümmoral immün uyarıcı etkiye sahip olduğu anlamına gelir (bkz. Şekil S1). Histolojik ve ELISA incelemelerinin sonuçları nı bir araya getirdiğimizde, hem FA hem de HA'nın güçlü hümmoral immün uyarıcı lar olduğunu ve ayrıca sistemdeki antikorların kalıcılığını arttı rdığı nı söyleyebiliriz.

Performans parametreleri ve FA ile HA'nın humoral bağışıklık tepkisi üzerindeki etkisi hakkındaki verilerimize dayanarak, Bailey ve ark. (1996), Parks (1998), Eren ve ark. (2000) ve Kocabağlı ve ark. (2002) gelişmiş 'stand by' durumundan temel olarak humoral immün yanıtın (en önemli bağışıklıkta) sorumludur. Patojen yükünün optimal ortam koşullarına göre çok daha yüksek olduğu çiftlik koşullarında

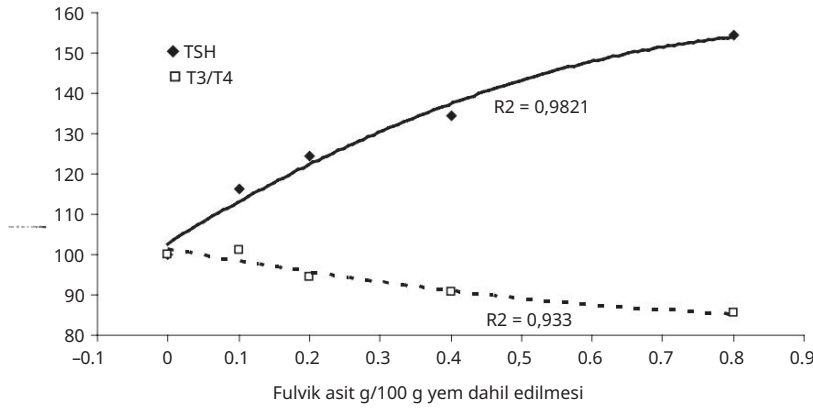
durumlarında, gelişmiş bir bağışıklık tepkisi yeteneği, üretim parametrelerinde önemli bir iyileşmeye neden olabilir, çünkü fakültatif patojenlerin ve subklinik hastalıklarının olumsuz etkisini büyük ölçüde azaltır.

kolaylaştırır.

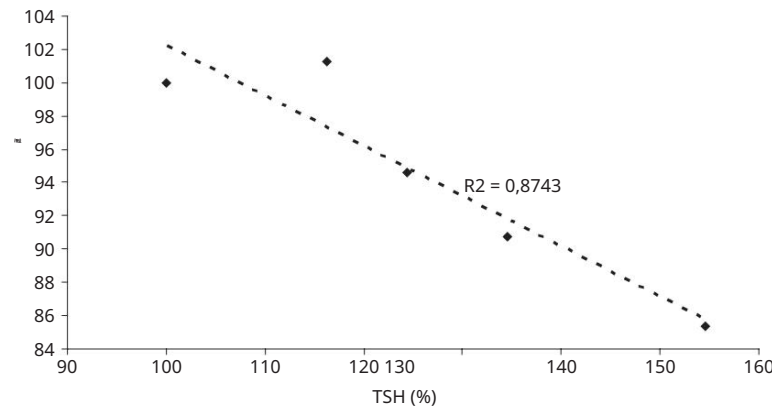
Diyette hümkik maddelerin bildirilen yan etkilerinden biri hipotiroid etkisidir (Delange, 1988; Huang ve Fung, 1991; Huang ve diğerleri, 1994). Verilerimizin istatistiksel analizi, HA durumunda anlamlı bir etkinin gözlemlenemeyeceğini gösterdi.



Şekil 1 14. ve 26. günlerde bağışıklık yanıtının yoğunluğu (ikinci deney).



Şekil 2 FA'nın doza bağlı etkisinin plazma TSH konsantrasyonu ve T4/T3 oranı üzerindeki korelasyonu.



Şekil 3 TSH ve T4/T3 oranı arasındaki korelasyon.

plazma TSH, T4 veya T3 konsantrasyonunda; Bununla birlikte, FA dozu ile arasındaki korelasyon

plazma TSH seviyesi (Şekil 2) önemlidir ( $p < 0.05$ ;  $R = 0.99$ ).

FA dozu ile kan plazması nın T3 veya T4 konsantrasyonu arasında bir korelasyon bulunmadı; bununla birlikte, T4/T3 oranı, diyetteki FA seviyesi ile anlamlı ( $p < 0.05$ ) negatif korelasyon ( $R = 0.97$ ) gösterdi (Şekil 2). Bu nedenle, plazma TSH ile T4/T3 oranı ( $R = 0.93$ ) arasında negatif bir korelasyon bulunması şaşırtıcıdır (Şekil 3).

Verilerimiz, Herzig ve diğerlerinin bulgularını daha fazla değerlendirmemize izin veriyor. (2001). Sodyum-humatla beslemenin (sodyum humat/HuNa'nın HA içeriği %61.9'du, FA içeriği bildirilmemiştir) takviyeli diyetin diyetdeki iyot konsantrasyonunu ve aynı zamanda idrardaki iyot konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığını gösterdiler. domuzda kayıpları. Bizim deneyimizde doza bağlı olarak plazma TSH seviyesini yükselten ve T4/T3 oranını azaltan HA değil sadece FA idi. Sonuçlarımız, hümkik maddelerin hipotiroid etkisinin daha derinden anlaşılması için bileşenlerinin (HA ve FA) etkisinin ayrı ayrı araştırılması nın faydalı olduğunu göstermektedir. Kandaki belirli bir iyot fraksiyonunun iyot-FA şelat formunda bulunduğunu ve bu şelattan tiroid hücreleri tarafından iyi yararlanması varsayabiliriz. Sonuçlarımızıza göre, FA bir guatrojen bileşiği gibi davranabilir; ancak bu etki hafiftir ve diyetteki FA konsantrasyonu ile artar.

Sonuç olarak, FA ve HA'nın incelenen parametreler üzerindeki etkilerinin tamamen aynı olmadığını söyleyebiliriz. Etkilerin farklı olması, önceki çalışmaların bazen çelişkili sonuçlarını sorumlu nedenlerinden biri olabilir. Bu nedenle, önceki deneylerde kullanılan hümkik maddelerdeki (farklı kaynaklardan, örneğin çim, linyitten elde edilen) HA ve FA dengesi benzer olmayabilir. Hümkik maddelerin (FA ve HA) etkilerinin kesin mekanizmaları nın açıklanması için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Ayrıca hümkik maddeler ve bileşenlerinin (FA ve HA) hayvan performansı (yem alımı, canlı ağırlık artışı, FCR) ve bağışıklık tepkisi üzerindeki olası pozitif etkisinin değerlendirilmesinde yan etkilerinin (örn. hafif doz-FA'nın ilgili hipotiroid etkisi) de dikkate alınmalıdır.

## Teşekkür

Macar Bilimsel Araştırma Fonu'nun (OTKA, T 049116) mali desteği minnetle kabul edilir.

## Destek Bilgisi

Ek Destekleyici Bilgiler bu makalenin çevrimiçi sürümünde bulunabilir.

Şekil S1 İleum detayı, kontrol grubu. Soliter lenfatik nodül normaldir. H-E., çubuk: 75 İm (sol üst). Deney (FA) grubunun ileumunun detayı. Lenfatik nodüllerdeki lenfoblastları içeren germinal merkez genişlemiştir. H-E., çubuk: 100 İm (sağ üst). Kontrol farelerinin dalağı nın detayı. Periarteloar lenfoid tabaka ve marjinal lenfoid bölge (lenfoblastları içeren) dardır. H-E., çubuk: 50 İm (sol alt). Deney (HA) grubundaki sıçanların dalağı nın detayı. Periarteloar lenfoid tabaka ve marjinal lenfoid bölge (lenfoblastları içeren), kontrol H-E ile karşılaştırıldığında genişlemiştir, çubuk: 75 İm (sağ alt).

Lütfen dikkat: Wiley-Blackwell, yazarlar tarafından sağlanan herhangi bir destekleyici bilginin içeriğinden veya işlevinden sorumlu değildir. Herhangi bir soru (eksis malzeme dışında) makalenin ilgili bölümüne yönlendirilmelidir.

## Referanslar

- Şu adreste bulunabilir: <http://www.rockymtnbioproducts.com/pdf/How%20Menefee%20Humates%20Work,%20by%20Rocky%20Mountain%20Bio%20Products.pdf> (erişim tarihi 19 Haziran 2010).
- Andersen, S.; Hvingel, B.; Kleinschmidt, K.; Jørgensen, T.; Laurberg, P., 2005: Geçiş halindeki bir Arktik toplununun 50-69 yaşındaki sakinlerinde iyot atılımındaki değişiklikler ve geleneksel Inuit gıdaları nın tüketim sıklığı nın bir biyobelirteç olarak iyot atılımı. *American Journal of Clinical Nutrition* 81, 656-663.
- Bailey, CA; Beyaz, KE; Donke, SL, 1996: Piliçlerin performansı üzerinde Menefee HumateTM'nin değerlendirilmesi. *Kanatlı Bilimi* 75 (Ek 1): 84 (Özet).
- Brandt, H., 1964: Dejeneratif Tedavi Salisilatlı hümkik asit banyoları ile omurga ve eklem hastalıkları. *Tıptaki Gelişmeler* 82, 110.
- CECAE, 1992: Hayvanların Etik Kontrolü Komitesi Deneyler: hayvan kullanımı ve bakımı için protokol (Macarca). *Macar Veteriner Dergisi* 47, 303-304.
- Cloete, TE; Siyah, H.; Cronje, İ; Dekker, J., 1990: Endüstriyel bakterisitler olarak oksitlenmiş kömür ürünleri. Üçüncü Uluslararası Gaz, Petrol, Kömür ve Çevresel Biyoteknoloji Sempozyumu, New Orleans, Louisiana, 3-5 Aralık.
- Delange, F., 1988: Guatr etiyolojisinde iyot eksikliğinden farklı guatrojenik faktörlerin rolü. *Annales d'Endocrinologie* 49, 302-305.



- Dos Santos, A.; Botero, WA; Bellin, IC; Oliveira, L. C.; Rocha, JC; Mendonca, AGR; Godinho, AF, 2007: Humik maddeler ve metalik iyonlar: hümik maddeler ve bunları n olası terapötik uygulamaları üzerine seçici bir çalışma. Brezilya Kimya Derneđi Dergisi 18, 824-830.
- Eichelsdörfer, D., 1976: Tıpta Moor. İçinde: K İlahi (ed.) Moor ve turba bilimi. Schweizerbart, Stuttgart, s. 239-257.
- Eren, M.; Deniz, G.; Gezen, S. S.; Tu"rkmen, I. İ., 2000: Broiler yemlerine katılan humatların besi performansi, serum mineral konsantrasyonu ve kemik ku"lu"u zernie etkileri. Ankara E"niversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 47, 255-263.
- Haanen, BF, 1924: Turba hakkı nda gerçekler. Madenler Marka Yayınları, Can. Bölümü Madenler, Ottawa, s. 614.
- Herzig, I.; Pisari kova', B.; Kurska, J.; Bendova', J., 2001: Hümin bileşiklerinin iyot kullanımı ve tutulması ve tiroid bezinin işlevi üzerindeki etkisi. Veterinerlik Çekçe 46, 61-64.
- Huang, TS; Fung, JL, 1991: Hümik ile iyot bağlanması asit. Çevresel Toksikoloji ve Kimya 10, 179-184.
- Huang, TS; Lu, FJ; Çay, CW; Chopra, IJ, 1994: Hümik asitlerin tiroid fonksiyonuna etkisi. Endokrinolojik Araştırma Dergisi 17, 787-791.
- İslam, KMS; Schumacher, A.; Gropp, JM, 2005: Hayvancılıkta hümik asit maddeleri. Pakistan Beslenme Dergisi 4, 126-134.
- Joone, GK; Dekker, J.; van Rensburg, CE, 2003: Oksihumatin immün sistemi uyarıcı özelliklerinin araştırılması. Doğal Araştırma Dergisi. C, Journal of Biosciences 58, 263-267.
- Klo"cking, R., 1994: Muhtemel terapötikler olarak hümik maddeler. İçinde: N. Sensei, TM Milano (editörler) Küresel Ortamdaki Humik Maddeler ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. Elsevier Science B.V, Amsterdam, Hollanda, s. 1254-1268.
- Kocabağlı, N.; Alp, M.; Acar, N.; Kahraman, R., 2002: Rasyona humat ilavesinin broyler büyümesi ve karkas verimi üzerine etkileri. Kümes Hayvanları Bilimi 81, 227-230.
- Maruz kalan, I.; Tuboly, T.; Halas, V.; Babinszky, L., 2008: Farklı seviyelerde mannan-oligosakkaridin etkisi süttten kesilmiş domuz yavruları nda bazı immünolojik değişkenler üzerine takviye. Hayvan Fizyolojisi ve Hayvan Besleme Dergisi. doi: 10.1111/j.1439-0396.2008.00835.x.
- Parks, CW, 1998: Menefee Humate kullanımı TM içinde hindi tomları için tipik ve düşük kaba proteinli diyetler ve yardımcı substrat ve besin kaynağı olarak polen çöpü ile değiştirilmiş petrolle kirlenmiş toprağı n biyoremediasyonunda. Yüksek lisans tezi, North Carolina Eyalet Üniversitesi, Raleigh, NC.
- Reeves, PG, 1997: AIN-76A kemirgen diyetindeki iyileřtirmeler olarak AIN-93 diyetlerinin bileşenleri. Beslenme Dergisi 127, 838S-841S.
- Schumacher, A.; Gropp, JM, 2000: Humik asitlerin süttten kesenlerin sağlıklı durumu ve performansı üzerindeki etkisi. Beslenme Fizyolojisi Derneđi Tutanakları 9, 77.
- Sheenan, D.; Hrapchak, B., 1980: Histoteknoloji Teorisi ve Uygulaması, 2. baskı. Batelle Press, Yoksulluk.
- Thiel, KD; Helbig, B.; Kloecking, R.; Wurtzer, P.; Spro"ssig, M.; Schweizer, H., 1981: Amonyum humatı n in vitro aktivitelerinin ve tip 1 ve tip 2 insan herpes virüsüne karşı enzimatik olarak oksitlenmiş klorojenik ve kafeik asitler. Eczane 36, 50-53.
- Van Rensburg, CJ, 2005: Piliçlerde oksihumatin aflatoksikoz üzerindeki iyileřtirici etkisi. Doktora tezi, Pretoria Üniversitesi; řu adreste mevcuttur: <http://upetd.up.ac.za/tez>.
- Van Rensburg, CEJ; van Straten, A.; Dekker, J., 2000: Oksifulvik asidin antimikrobiyal etkinliğinin in vitro araştırılması. Antimikrobiyal Kemoterapi Dergisi 46, 853-854.
- Van Rensburg, CEJ; Malfeld, SCK; Dekker, J., 2001: Oksifulvik asidin topikal uygulaması, farelerde kutanöz immün yanıtı baskı lar. İlaç Geliřtirme Araştırması 53, 29-32.
- Van Rensburg, CEJ; Smith, TL; van Rensburg, EJ; Schneider, J., 2002: Oksihumatin antiHIV özelliklerinin araştırılması. Kemoterapi 48, 13843.
- Yalçın, S.; Ergün, A.; Erol, H.; Yalçın, S.; Özsoy, B., 2005: Yumurtacı bıldırcın yemlerinde l-karnitin ve humatın kullanımı. Macar Veterinerlik Yasası 53, 361-370.