



**ANADOLU MERİNOSU KUZU RASYONLARINA
FARKLI ORANLARDA İLAVE EDİLEN GRAVİOLA
YAĞ EKSTRESİNİN BESİ PERFORMANSI VE
ADİPOKİN, SEREBRAL, KARDİYAK, BAĞIRSAK
İLE MİTOKONDRIYAL FONKSİYON YANITININ
SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Gökşad Cemil KOTAN

Doktora Tezi

Organik Tarım İşletmeciliği

Ana Bilim Dalı

Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

2024

(Her Hakkı Saklıdır)

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ ANA BİLİM DALI
ORGANİK TARIM İŞLETMECİLİĞİ DOKTORA PROGRAMI

**ANADOLU MERİ NOSU KUZU RASYONLARINA FARKLI ORANLARDA
İLAVE EDİLEN GRAVİOLA YAĞ EKSTRESİNİN BESİ PERFORMANSI VE
ADİPOKİN, SEREBRAL, KARDİYAK, BAĞIRSAK İLE MİTOKONDRIYAL
FONKSİYON YANITININ SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Gökşad Cemil KOTAN

Danışman: Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

BAYBURT- 2024

KABUL VE ONAY

Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR danışmanlığında, Gökşad Cemil KOTAN tarafından hazırlanan “Anadolu Merinosu Kuzu Rasyonlarına Farklı Oranlarda İlave Edilen Graviola Yağ Ekstresinin Besi Performansı ve Adipokin, Serebral, Kardiyak, Bağırsak ile Mitokondriyal Fonksiyon Yanıtının Sirkadiyen Değişimi Üzerine Etkisi” başlıklı bu çalışma, Savunma Tarihi tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL

Üye : Prof. Dr. Fatih GÜRBÜZ

Üye : Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Üye : Doç. Dr. Murat GENÇ

Üye : Doç. Dr. Hilal ÜRÜŞAN ALTUN

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Murat KUL
Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR danışmanlığında hazırlamış olduğum “Anadolu Merinosu Kuzu Rasyonlarına Farklı Oranlarda İlave Edilen Graviola Yağ Ekstresinin Besi Performansı ve Adipokin, Serebral, Kardiyak, Bağırsak ile Mitokondriyal Fonksiyon Yanıtının Sirkadiyen Değişimi Üzerine Etkisi” başlıklı doktora tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

08.08.2024

Gökşad Cemil KOTAN

ÖN SÖZ

Doktora eğitim süresi boyunca yardımlarını esirgemeyen, süreç boyunca bütün çalışma ve uğraşlarını bırakarak zaman ayıran, saygıdeğer danışman hocam Sn. Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Eğitim dönemi süresince katkıları için başta Prof. Dr. Vecihi AKSAKAL ve Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalı hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, istatistiksel analizlerle ilgili Doç. Dr. Emre TEKCE hocama desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Desteklerini hiç esirgemeyen eşim ve aileme sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunuyorum.

Gökşad Cemil KOTAN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ANADOLU MERİNOSU KUZU RASYONLARINA FARKLI ORANLARDA İLAVE EDİLEN GRAVİOLA YAĞ EKSTRESİNİN BESİ PERFORMANSI VE ADİPOKİN, SEREBRAL, KARDİYAK, BAĞIRSAK İLE MİTOKONDRIYAL FONKSİYON YANITININ SİRKADİYEN DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gökşad Cemil KOTAN

Bayburt Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Bayburt-2024, Sayfa: 106

Sirkadiyen ritim, 24 saatlik bir döngü boyunca fizyolojik süreçleri içeren organizmanın yaşadığı fiziksel, zihinsel ve davranışsal değişikliklerdir. Sirkadiyen ritim, enerji metabolizması, uyku-uyanıklık döngüsü, vücut sıcaklığının düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik süreçler ile fizyolojik sistemlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Sirkadiyen ritim, yaşamın her aşamasında mevcut olup hayvanların endokrin sistemi, sindirim sistemindeki fizyolojik rolü ve büyüme performansı ile yakından ilişkili olması nedeniyle hayvanların sağlıklı büyümesi ve gelişimi için kritik öneme sahiptir. Işık döngüsündeki değişiklikler, yetersiz aydınlatma, yem ve su kısıtlaması, yüksek sıcaklık, hastalıklar gibi stres faktörleri sirkadiyen ritim bozukluğuna yol açan başlıca etmenlerdir. Sirkadiyen ritim bozukluğu, kuzuların büyüme ve gelişiminde yavaşlama, iştah metabolizmasını etkileyerek yem tüketiminde azalma, üreme performansında düşüş, davranış bozukluklarına (aşırı hareketlilik) ve immun sistemde zayıflama neticesinde hastalıklara yol açabilmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkiler, endokrin sistem üzerinden hormon salınımı ile sirkadiyen ritim üzerinde düzenleyici etkiye sahiptirler. Mucizevi besin olarak atfedilen Graviola (*Annona muricata L.*), antioksidan, antimikrobiyal ve antienflamatuvar, antihelmintik, antipiretik, sedatif, antispazmodik etkileriyle geleneksel tamamlayıcı tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen graviola yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisinin incelenmesidir. Bu kapsamda çalışmanın hayvan materyalini 2.5 aylık yaşta 48 adet Anadolu Merinosu ırkı erkek kuzu oluşturmaktadır. Çalışma her grupta 12 adet hayvan olacak şekilde 1 kontrol (G0), 3 kuzu besi denemesi (G200, G400 ve G600) olmak üzere 4 gruptan oluşmaktadır. Çalışmanın grupları ise kuzu besi rasyonlarına graviola yağ ekstresi ilavesine göre sırasıyla G0 (kontrol, graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup), G200 (200 ppm oranında ilave edilen grup), G400 (400 ppm oranında ilave edilen grup) ve G600 (600 ppm oranında ilave edilen grup) şeklinde oluşturulmuştur. Çalışma 2023 yılı Mart-Mayıs ayları arasında, 10 gün süreyle adaptasyon ve

60 gün süre ile besi denemesi olmak üzere toplamda 70 gün sürmüştür. Araştırma süresince doğal fotoperiyot altında, gece muayenesini kolaylaştırmak için 2 lüksten daha az şiddetli loş ışık sürekli olarak açık kalmıştır. Besi performansı üzerine Graviola yağı ekstresi etkisini incelediğimizde dönemsel olarak farklılıklar olsa da, 0-60 günlerde yem tüketimi üzerine etkisinin olmadığı ($p>0,005$) kontrol grubuna kıyasla canlı ağırlık artışı (CAA) üzerine etkisinin olmadığı ancak canlı ağırlık (CA) G400 ppm, yemden yararlanma oranı (YYO) üzerine ise G200 ppm dozunun etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Sonuç olarak G400 dozu 60. günde graviola yağı ekstresi uygulamasının güvenli olmasının yanı sıra sirkadiyen ritim düzenleyicisi protein BMAL1 ve melatonin hormonu ile vücut kondüsyon skoru (VKS) düzenleyici rolü irisin hormonu düzeyleri üzerinde etkili olduğu, en yüksek canlı ağırlık düzeyi üzerinde etkili ve faydalı olabileceği kanaatine varılmıştır. Sirkadiyen değişimi incelemek amacıyla araştırmanın 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 zaman dilimlerinde kuzuların *vena jugularis*'inden kan serum örnekleri alındı. Alınan kan numunelerinden elde edilen serum örneklerinde apelin, irisin, visfatin, melatonin, Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Beyin ve kas ARNT-benzeri protein 1 (BMAL1), Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein-1 (BMCP1), Mitokondriyal-türevli peptid (MOTSc), Kardiyak troponin I (cTnI), Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-1), Glukagon-Benzeri Peptid-2 (GLP-2) düzeyleri ELİSA yöntemiyle incelendi. Serum örnekleri, analiz gerçekleşinceye kadar -80 C°'de saklandı. Çalışmaya ait veriler IBM SPSS 22 Statistics programında verilerin normal dağılımı kontrol edilerek ortalama ve standart hata olarak belirtilmiştir. Elde edilen veriler general lineal model multivariate (apelin, irisin, visfatin, melatonin, BDNF, BMAL1, BMCP1, MOTSc, cTnI, GLP-1, GLP-2) analizi yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkları karşılaştırmak için Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanarak istatistik önemlilik değeri p değeri $<0,05$ anlamlı olarak kabul edildi. Deneme çalışma BMAL1 (saat: 13:00), BMCP1, GLP1, GLP2, irisin, MOTSc, visfatin, melatonin (saat 01:00) değerleri üzerine incelendiğinde G400 katkı dozunda saat 19:00'da 60 günde etkili olurken, apelin (saat 19:00), cTnI (saat 13:00 ve 07:00'de) G600 dozunda saat 13:00'de 60 günde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. BDNF üzerine G200 dozunda saat 19:00 ile 13:00'de 60 günde elde edilirken, canlı ağırlık üzerine G400 dozunda ve canlı ağırlık artışı linear olarak artış göstererek 60. günde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, apelin hormon düzeyinin ölçülmesi, glukoz, insülin ve enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle beslenmenin etkisi; irisin, VKS düzenleyici rolü nedeniyle beslenmeye bağlı canlı ağırlık ve VKS'nin değerlendirilmesi, melatonin, sirkadiyen ritim düzenleyici hormon olması nedeniyle sirkadiyen, BDNF, serebral yanıtın incelenmesi, MOTSc ve BMCP1, mitokondriyal fonksiyon değerlendirilmesinde, cTnI, kuzularda miyokardiyal hasarın belirlenmesinde kardiyak yanıtın değerlendirilmesi, GLP-1 ve GLP-2'nin bağırsak yanıtının incelenerek gastrointestinal sistemin değerlendirilmesine katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz. Ancak, bu alanda daha kapsamlı ve moleküler düzeyde araştırmaların yapılmasının gerekli olduğu, sirkadiyen ritim düzenleyicisi BMAL1'in sirkadiyen ritim süreçlerinin değerlendirilerek beslenme programlarının oluşturulması, etkinliğin incelenmesinde ve besi performans yönetimi süreçlerinde katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Sirkadiyen ritim, apelin, irisin, visfatin, graviola, kuzu besisi.

ABSTRACT

PH. D. THESIS

EFFECT OF GRAVIOLA FAT EXTRACT ADDED IN VARIOUS RATIOS TO ANATOLIAN MERINO LAMB RATIONS ON FATTENING PERFORMANCE AND CIRCADIAN CHANGE OF ADIPOKINE, CEREBRAL, CARDIAC, INTESTINAL AND MITOCHONDRIAL FUNCTION RESPONSE

Gökşad Cemil KOTAN

Bayburt University

Institute of Graduate Studies

Department of Organic Agriculture Management

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Bülent BAYRAKTAR

Bayburt-2024, Pages: 106

Circadian rhythm is the physical, mental and behavioral changes experienced by the organism, including physiological processes throughout a 24-hour cycle. Circadian rhythm plays a key role in the regulation of physiological systems and many physiological processes such as energy metabolism, sleep-wake cycle, and body temperature regulation. Circadian rhythm is present at every stage of life and is critical for the healthy growth and development of animals because it is closely related to the animal's endocrine system, physiological role in the digestive system and growth performance. Changes in the light cycle, inadequate lighting, feed and water restriction, high temperature, and stress factors such as diseases are the main factors that cause circadian rhythm disorders. Circadian rhythm disorder can lead to slowdown in growth and development of lambs, decrease in feed consumption by affecting appetite metabolism, decrease in reproductive performance, behavioral disorders (hyperactivity) and diseases due to weakening of the immune system. Medicinal and aromatic plants have a regulatory effect on circadian rhythm by releasing hormones through the endocrine system. Graviola (*Annona muricata* L.), attributed as a miraculous food, is widely used in traditional complementary medicine with its antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory, antihelminthic, antipyretic, sedative and antispasmodic effects. This study is to examine the effect of graviola oil extract added to Anatolian Merino lamb rations at different rates on fattening performance and circadian changes in adipokine, cerebral, cardiac, intestinal and mitochondrial function response. In this context, the animal material of the study consists of 48 male Anatolian Merino lambs aged 2.5 months. The study consisted of 4 groups, 1 control (G0), 3 lamb fattening trials (G200, G400 and G600), with 12 animals in each group. The study groups were formed as G0 (control, graviola oil extract not applied group), G200 (200 ppm added group), G400 (400 ppm added group) and G600 (600 ppm added group) according to the graviola oil extract addition to the lamb fattening rations, respectively. The study lasted for a total of 70 days, including 10 days of adaptation and 60 days of fattening trial, between March and May 2023. During the

study, dim light producing less than 2 lux was continuously on to facilitate night examination under natural photoperiod. When we examined the effect of Graviola oil extract on fattening performance, it was determined that although there were differences periodically, it had no effect on feed consumption in days 0-60 ($p>0.005$) and that it had no effect on BWG compared to the control group, but body weight (BW) G400 ppm and G200 ppm doses were effective on feed conversion ratio (FCR) ($p<0.05$). As a result, it was concluded that the application of graviola oil extract at the 60th day of G400 dose is safe, and it is effective on the levels of circadian rhythm regulator protein BMAL1 and melatonin hormone and irisin hormone, which has a regulatory role in body condition score (BCS), and that it may be effective and beneficial on the highest live weight level. In order to examine circadian changes, blood serum samples were taken from the jugular vein of lambs at 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 on the 0th, 15th, 30th, 45th and 60th days of the study. Apelin, irisin, visfatin, melatonin, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), Brain and muscle ARNT-like protein 1 (BMAL1), Brain Mitochondrial Carrier Protein-1 (BMCP1), Mitochondrial-derived peptide (MOTSc), Cardiac troponin I (cTnI), Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1), Glucagon-Like Peptide-2 (GLP-2) levels were examined by ELISA method in serum samples obtained from blood samples. Serum samples were stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. Data belonging to the study were expressed as mean and standard error by checking the normal distribution of the data in IBM SPSS 22 statistics program. The obtained data were analyzed using general linear model multivariate (apelin, irisin, visfatin, melatonin, BDNF, BMAL1, BMCP1, MOTSc, cTnI, GLP-1, GLP-2). To compare the differences between the means, Duncan's multiple comparison test was applied and statistical significance value p value <0.05 was accepted as significant. When the trial study was examined on BMAL1 (time: 13:00), BMCP1, GLP1, GLP2, irisin, MOTSc, visfatin, melatonin (time: 01:00) values, while G400 additive dose was effective at 19:00 in 60 days, apelin (time: 19:00), cTnI (times: 13:00 and 07:00) was effective at G600 dose at 13:00 in 60 days. While BDNF was obtained at G200 dose between 19:00 and 13:00 in 60 days, the best results were obtained in 60 days with G400 dose on live weight and live weight gain increased linearly. In addition, we think that the measurement of apelin hormone level, the effect of nutrition due to its role in glucose, insulin and energy metabolism; the evaluation of live weight and BCS due to its role in BCS due to its regulatory role in BCS; melatonin, circadian due to its role in circadian rhythm regulation hormone, BDNF, examination of cerebral response, MOTSc and BMCP1, evaluation of mitochondrial function, cTnI, evaluation of cardiac response in lambs in determining myocardial damage, and GLP-1 and GLP-2, evaluation of intestinal response may contribute to the evaluation of the gastrointestinal system. However, it is thought that more comprehensive and molecular research is needed in this area, and that the circadian rhythm regulator BMAL1 will contribute to the establishment of nutrition programs by evaluating the circadian rhythm processes, examining the effectiveness and fattening performance management processes.

Keywords: Circadian rhythm, apelin, irisin, visfatin, graviola, lamb fattening.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	II
BEYANNAME.....	III
ÖN SÖZ.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	IX
TABLOLAR.....	XII
ŞEKİLLER.....	XIII
KISALTMALAR.....	XIV
SİMGELER.....	XV
GİRİŞ.....	1
Araştırmanın Konusu ve Problemi.....	1
Araştırmanın Amacı.....	1
Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi.....	2
Beklentiler.....	2
Araştırmanın Sınırlılıkları ve Dezavantajları.....	3
Terimler ve Tanımları.....	3
BİRİNCİ BÖLÜM.....	4
1. KURAMSAL ÇERÇEVE.....	4
1.1. SİRKADİYEN RİTİM.....	4
1.2. ANADOLU MERİONOSU KOYUN IRKI.....	6
1.3. GRAVİOLA (ANNONA MURİCATA).....	7
1.4. ADİPOZ DOKU VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	9
1.5. APELİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	11
1.6. İRİSİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	12
1.7. VİSFATİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	14
1.8. MELATONİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	16
1.9. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	18
1.10. BMAL1 (BEYİN VE KAS ARNT BENZERİ PROTEİN 1) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	20
1.11. BEYİN MİTOKONDRİYAL TAŞIYICI PROTEİN 1 FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	22
1.12. MİTOKONDRİYAL-TÜREVLİ PEPTİD (MOTS-C) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	23
1.13. KARDİYAK TROPONİN I (CTNI) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ.....	25

1.14. GLUKAGON-BENZERİ PEPTİD-1 (GLP-1) HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	27
1.15. GLUKAGON-BENZERİ PEPTİD-2 (GLP-2) HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ	29
İKİNCİ BÖLÜM	31
2. YÖNTEM.....	31
2.1. MATERYAL	31
2.1.1. Araştırma Alanı	31
2.1.2. Hayvan Materyali	33
2.1.3. Yem Materyali	35
2.1.4. Graviola Yağ Ekstresi İçerik Analizi	36
2.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ.....	37
2.2.1. Canlı Ağırlık Artışı Hesaplanması.....	37
2.2.2. Yem Tüketiminin Belirlenmesi	37
2.2.3. Yem Değerlendirme Oranları	37
2.2.4. Nabız, Solunum Sayısı ve Vücut Sıcaklığı Ölçümü.....	37
2.3. SERUM ÖRNEKLERİNİN ALINMASI.....	37
2.3.1. Apelin Hormon Düzeyinin Ölçümü.....	38
2.3.2. İrisin Hormon Düzeyinin Ölçümü	39
2.3.3. Visfatin Hormon Düzeyinin Ölçümü.....	41
2.3.4. Melatonin Hormon Düzeyinin Ölçümü	43
2.3.5. Beyin ve Kas ARNT-Benzeri Protein 1 (BMAL1) Düzeyinin Ölçümü.....	45
2.3.6. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) Düzeyinin Ölçümü.....	47
2.3.7. Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTSc) Düzeyinin Ölçümü.....	48
2.3.8. Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein-1 (BMCP-1) Düzeyinin Ölçümü	50
2.3.9. Kardiyak Troponin (cTnI) Düzeyinin Ölçümü.....	52
2.3.10. Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Hormon Düzeyinin Ölçümü.....	53
2.3.11. Glukagon-Benzeri Peptid-2 (GLP-2) Hormon Düzeyinin Belirlenmesi	55
2.4. İSTATİKSEL ANALİZ	57
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	58
3. BULGULAR.....	58
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	58
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEM TÜKETİM ORANIN DEĞERLENDİRİLMESİ.	58

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK ARTIŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	59
3.4. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEMDEN YARARLANMA ORANIN DEĞERLENDİRİLMESİ	60
3.5. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM APELİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	60
3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM İRİSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	62
3.7. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM VİSFATİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	63
3.8. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MELATONİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	64
3.9. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BDNF DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	66
3.10. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMAL1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	67
3.11. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMCP1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	69
3.12. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MOTSC DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	70
3.13. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM CTNİ DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	72
3.14. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM GLP-1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	73
3.15. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM GLP-2 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	74
3.16. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT NABIZ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ ..	76
3.17. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SOLUNUM SAYISI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	77
3.18. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT VÜCUT SICAKLIĞI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	79
TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	81
KAYNAKÇA.....	88
EKLER	104
EK 1: Deney Hayvanları İle Çalışma İzin Formu	104
EK 2: Çalışma İzin Formu.....	105
ÖZ GEÇMİŞ	106

TABLÖLAR

Tablo 1: Sirkadiyen Saat Genleri.....	4
Tablo 2: Çalışma Günlere Ait İklim Verileri.....	34
Tablo 3: Rasyon Besin Madde İçeriği ve Analizleri (g/kg).....	36
Tablo 4: Graviola Yağ Ekstresi İçerik Analizlerine Ait Ortalama Değerleri (%)	36
Tablo 5: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Değişimi	58
Tablo 6: Çalışma Gruplarına Ait Yem Tüketimi.....	58
Tablo 7: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Artışları.....	59
Tablo 8: Çalışma Gruplarına Ait Yemden Yararlanma Oranı.....	60
Tablo 9: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Apelin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	60
Tablo 10: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum İrisin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	62
Tablo 11: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Visfatin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	63
Tablo 12: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Melatonin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	65
Tablo 13: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BDNF (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD) ..	66
Tablo 14: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BMAL1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	68
Tablo 15: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BMCP1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	69
Tablo 16: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum MOTS-c (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)	70
Tablo 17: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum cTnI (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	72
Tablo 18: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum GLP-1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD) ..	73
Tablo 19: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum GLP-2 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD) ..	75
Tablo 20: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Nabız Değerlerinin Değişimi (Ort±SD).....	76
Tablo 21: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD)	77
Tablo 22: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Vücut Sıcaklığı Değişimleri (Ort±SD)	79

ŞEKİLLER

Şekil 1: Anadolu Merinosu Koyu Irkına Ait Fiziki Özellikleri	7
Şekil 2: Graviola Ağacı Meyvesine Ait Görünüm	8
Şekil 3: Adipoz Doku ve Hücrelerinin Görünümü	10
Şekil 4: Apelin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	11
Şekil 5: İrisin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	13
Şekil 6: Visfatin 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	14
Şekil 7: Melatonin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	16
Şekil 8: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	18
Şekil 9: Beyin ve Kas Arnt Benzeri Protein 1 (BMAL1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	20
Şekil 10: Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein 1 (BMCP1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	22
Şekil 11: Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTSc) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	24
Şekil 12: Kardiyak Troponin I (cTnI) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	25
Şekil 13: Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	28
Şekil 14: Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-2) Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü	29
Şekil 15: Araştırma Alanı Lokasyon Haritası	31
Şekil 16: Araştırma Alanı Besi Denemesinin Gerçekleştiği İşletmenin Görüntüsü	32
Şekil 17: Besi Denemesinin Gerçekleştiği Çalışma Gruplarına Ait Görüntü	32
Şekil 19: Apelin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	38
Şekil 20: İrisin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	40
Şekil 21: Visfatin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	42
Şekil 22: Melatonin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	44
Şekil 23: BMAL1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	45
Şekil 24: BDNF Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	47
Şekil 25: MOTs-C Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	49
Şekil 26: BMCP-1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	51
Şekil 27: cTnI Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	52
Şekil 28: GLP-1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	54
Şekil 29: GLP-2 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması	56

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
AOC	: Asit deterjan fiber (ADF)
BDNF	: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
bHLH	: Basic Heliks-Loop-Heliks
BMAL1	: Beyin ve Kas Arnt-Benzeri Protein 1
BMCP1	: Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein 1
CA	: Canlı Ağırlık
CAA	: Canlı Ağırlık Artışı
cAMP	: Siklik AMP
CLOCK	: Circadian locomotor output cycles kaput
CREB	: cAMP yanıt elemanı bağlayıcı proteini
Cry 1	: Cryptochrome 1
Cry 2	: Cryptochrome 2
cTnI	: Cardiac troponin I
E-box	: Enhancer box
G0	: Rasyonlarına graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup
G200	: Rasyonlarına 200 ppm oranında graviola yağ ekstresi ilave edilen grup
G400	: Rasyonlarına 400 ppm oranında graviola yağ ekstresi ilave edilen grup
G600	: Rasyonlarına 600 ppm oranında graviola yağ ekstresi ilave edilen grup
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptid-1
GLP-2	: Glukagon Benzeri Peptid-2
IL-6	: İnterlökin-6
MOP3	: Members of PAS Superfamily
MOTS-c	: Mitokondriyal Türevli Peptid
PAS	: Per-Arnt-Sim Alanı
Per 1	: Period 1
Per 2	: Period 2
Per 3	: Period 3
RNA	: Ribonükleik Asit
RORα	: Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor-A
T3	: Triiyodotironin
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü
TrkB	: Tropomyosin receptor kinase B
TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
SCN	: Suprakiazmatik Nükleus
VKS	: Vücut Kondüsyon Skoru
NAD+	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NDF	: Nötral deterjan fiber
NMN	: Enampt, Nikotinamid Monokleotid
UCP	: Mitokondriyal Eşleşmeyen Proteinler
UCP1	: Uncoupling Protein 1
YYO	: Yemden Yararlanma Oranı

SİMGELER

%	: Yüzde
µl	: Mikrolitre
µl	: Mikrolitre
°C	: Santigrat Derece
Ca	: Kalsiyum
Cl	: Klorür
Fe	: Demir
g	: Gram
K	: Potasyum
kDa	: Kilodalton
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
ml	: Mililitre
Na	: Sodyum
ng	: Nanogram
ng/ml	: Nanogram/mililitre
P	: Fosfor

GİRİŞ

Araştırmanın Konusu ve Problemi

Karlı ve sürdürülebilir küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde yavru ölümlerinin azaltılması konusu, hayvancılık sektörünün önemli araştırma konusu ve problemleri içerisinde yer almaktadır. Ülkemizde kuzu ve oğlak ölüm oranı, genotip/ırk ve üretim sistemine bağlı olarak %9.50-14.43 oranında olduğu bildirilmektedir. Yavru ölümlerinin azaltılmasına yönelik beslenme stratejileri içerisinde yer alan alternatif uygulamalardan birisi de tıbbi ve aromatik bitkiler yer almaktadır. Araştırmanın konusunu oluşturan mucizevi besin olarak atfedilen Graviola diğer ismiyle tarçın elması, tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen *Annonaceae* familyasına ait meyve veren bir ağaçtır. Graviola, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuvar, antelmintik, antipiretik, sedatif, antispazmodik ve antikonvülsan etkileriyle geleneksel tamamlayıcı tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Sirkadiyen ritim, tüm canlılarda olduğu gibi hayvanların sağlıklı büyümesi ve gelişimi için çok önemlidir. Mevcut araştırmamız kuzu besisinde graviola meyvesi yağ ekstraktlarının kullanımı ile sirkadiyen ritminin düzenlenmesi, kuzuların hormonal dengesini olumlu yönde etkileyerek kuzuların büyüme, gelişme ve verim performansları iyileştirilebilmesi etkisine sahiptir. Hayvan ve insan sağlığına zarar vermeyen beslenme stratejileri içerisinde alternatif yeni tıbbi ve aromatik bitkilerin belirlenerek, kullanımıyla yetiştiriciliğe kazandırılması hedefi ile hayvancılık sektörünün önemli konu ve sorunlardan birisi ele almaktadır.

Araştırmanın Amacı

Sirkadiyen ritim düzenleyici BMAL1, kuzularda sirkadiyen yanıtın incelenmesinde, MOTS-c ve BMCP1 ise mitokondriyal fonksiyonun incelenmesine olanak sağlayan yeni belirteçlerdir. Ayrıca apelin, irisin, visfatin glukoz ve lipid metabolizması ve insülin sekresyonu üzerinde düzenleyici etkisi, cTnI, koyun ve kuzuların yetiştiricilik sürecinde rastlanabilecek şap, akut viral miyokarditis, beyaz kas hastalığı, retiküloperkarditis gibi hastalıklara bağlı kalp kasında şekillenen myokardiyal hasarın şiddeti, süresi ve yaygınlığı karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesine katkı sağlayabileceği ve faydalı olabileceği bildirilen parametredir. Yapılan literatür taramasında anadolu merinosu kuzu rasyonlarında graviola yağ ekstresi kullanımının adipokin (apelin, irisin, visfatin, melatonin), serebral (BDNF), kardiyak (cTnI), bağırsak (GLP-1, GLP-2) ve mitokondriyal fonksiyon (MOTS-c, BMCP1) yanıtın sirkadiyen değişiminin incelendiği araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırmanın amacı, Anadolu merinosu kuzu rasyonlarında antioksidan, antienflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklere sahip graviola meyve yağ ekstresi kullanımının adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ve mitokondriyal

fonksiyon yanıtın sirkadiyen değişimi üzerine etkisinin incelemesidir. Ayrıca bu tez çalışmasında adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ve mitokondriyal fonksiyon yanıtlarının incelenmesi kuzu besisinin 0.,15.,30. ve 45. günlerinde tek bir ölçüm yerine farklı zaman dilimlerinde (07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve 07:00) sirkadiyen değişimlerinin incelenmesine dayalı bir kapsamlı ve karşılaştırma stratejisi ile değerlendirilmektedir.

Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde işletmelerin karlılığı ile sürdürülebilirliğinde en önemli faktörlerin başında kuzu besiciliği gelmektedir. Kuzu besiciliğinde temel prensip, kuzuların genetik yapısı çerçevesinde en kısa sürede en yüksek canlı ağırlığa ulaşması oluşturmaktadır. Bu nedenle, enerji dengesi ve metabolizması konusu beslenme programlarında istenilen performansın sağlanmasında ele alınması gereken önemli konulardır. Adipokinleri oluşturan parametreler apelin, irisin, visfatin düzeyleri besi performansını etkileyen kuzunun fiziksel kondisyonunun değerlendirilmesi ve BDNF serebral, cTnI kardiyak, GLP-1 ve GLP-2 düzeyleri bağırsak yanıt, MOTS-c, BMCP1 mitokondriyal fonksiyon ve kuzuların sağlık durumu hakkında bilgi vermektedir. Araştırmamız sonucunda elde edilen verilerin kısıtlı sayıda literatür bulunan bu alana çok önemli katkı sunacağı düşünülmektedir. Ayrıca küçükbaş hayvancılık sektöründe uygulanan beslenme programlarının oluşturulması ve etkinliğinin değerlendirilmesine de önemli katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

Beklentiler

Kuzu besisi, yeni doğmuş kuzuların sağlıklı bir şekilde büyütülmesi ve geliştirilmesi amacıyla yapılan beslenme ve bakım süreçlerini kapsamaktadır. Bu süreç, kuzuların genetik potansiyelini en üst düzeye çıkarmak için uygun rasyon, çevre ve bakım koşullarının sağlanmasını içermektedir. Sirkadiyen ritim, kuzu besisinde gerçekleşen artan metabolik süreçler ve enerji regülasyonu gibi bir çok fizyolojik sistem ve süreçler için kritik öneme sahiptir. MOTS-c ve BMCP1, enerji metabolizmasında ve mitokondriyal fonksiyonu ile mitokondriyal sağlığın korunmasında kritik rol oynamaktadır. MOTS-c, BMCP1, enerji regülasyonu ile lipid metabolizmasındaki rolü nedeniyle, koyunların sağlıklı bir şekilde kilo alması, mitokondriyal işlevlerin düzgün çalışmasına bağlıdır. Ayrıca, VKS ile MOTS-c ve BMCP1 düzeyleri arasında bir ilişki bulunması nedeniyle mitokondriyal sağlığın korunması, kuzuların besi performansının yanı sıra genel sağlıkları için kritik öneme sahip olacağı düşünülmektedir. İrisin ve visfatin hormonları, kas gelişimi ve yağ yakımı üzerinde olumlu etkiler yaparak büyüme performansını arttırmaktadır. Metabolik süreçlerin sağlıklı bir şekilde korunması, kuzuların daha hızlı büyümesine ve daha kısa sürede hedef kiloya ulaşmasına

yardımcı olmaktadır. Mevcut çalışmamızda kullanılan farklı oranlarda antioksidan içeriği yüksek olan graviola meyve yağ ekstresi kullanımının adipokin (apelin, irisin, visfatin, melatonin), serebral (BDNF), kardiyak (cTnI), bağırsak (GLP-1, GLP-2) ve mitokondriyal fonksiyon (MOTS-c, BMCP1) yanıtının sirkadiyen değişikliklerin incelenmesi yapılan çalışma sonuçlarının besleme programları oluşturulması ile bu alanda gerçekleştirilmesi düşünülen çalışmalar için katkı ve fayda sağlayacağı beklenilmektedir.

Araştırmanın Sınırlılıkları ve Dezavantajları

Araştırmanın sınırlılığı, mevcut araştırma 48 adet kuzu besisi ile ilgili çalışma incelenmiş ve bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir. Sirkadiyen ritim çalışmalarının zorluğu, genellikle biyolojik saatlerin karmaşık yapısından ve çevresel faktörlerin etkilerinden kaynaklanmaktadır. Sirkadiyen ritim çalışmalarda, hormonal değişiklikleri ve metabolizma üzerindeki etkilerine yönelik fizyolojik izahatların tam olarak açıklanabilmesi için daha fazla sayıda örneklem üzerinde ve kapsamlı disiplinler arası çalışmaları gerektirmektedir.

Terimler ve Tanımları

Sirkadiyen Ritim Nedir? Kuzu Besisindeki Rolü Nedir?

Sirkadiyen ritim, yaklaşık 24 saatlik sürede tekrarlanan biyolojik döngülerdir. Uyku-uyanıklık döngüsü, hormon salınımı, metabolizma ve vücut sıcaklığı gibi birçok fizyolojik işlevi etkilemektedir. Sirkadiyen ritimler, çevresel faktörler (ışık, sıcaklık) ve içsel biyolojik saatler tarafından kontrol edilmektedir. Sirkadiyen ritim ile kuzu besisi arasında önemli bir ilişki bulunmaktadır. Beslenme zamanı, sirkadiyen ritimlerinin etkisi altında olup metabolik süreçler bu süreçten etkilenebilmektedir. Bu nedenle, kuzu besisi uygulamalarında sirkadiyen ritimlerin dikkate alınması, hayvanların sağlığı ve büyümesinde kritik bir öneme sahiptir.

Mitokondriyal Fonksiyon Tanımı ve Sağlık İçin Fizyolojik Önemi Nedir?

Mitokondriler, hücrelerin enerji santralleri olarak bilinir ve ATP (Adenosin trifosfat) üretimi için oksidatif fosforilasyon süreci gerçekleştirmektedir. Mitokondriyal fonksiyon, hücrelerde enerji üretimi, metabolizma ve hücresel homeostazın sağlanmasında mitokondrilerin işlevi olarak ifade etmektedir. Mitokondriyal fonksiyonun bozulması, metabolik bozukluklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalık ve bozukluğun ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Bu nedenle, mitokondriyal fonksiyonun korunması, genel sağlık durumu ve fizyolojik işlevler için kritik öneme sahiptir.

BİRİNCİ BÖLÜM

1. KURAMSAL ÇERÇEVE

1.1. SİRKADİYEN RİTİM

Sirkadiyen ritim; dünyanın kendi eksenini etrafındaki 24 saatlik hareketi sırasında canlılar üzerindeki fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal ritimlerin tekrarından oluşan döngülerdir (Finger & Kramer, 2021). Sirkadiyen sistem, hipotalamusun üst kiyazmatik çekirdeğinde (SCN, suprakiazmatik nükleus) bulunan merkezi saat ile karaciğer, pankreas, gastrointestinal sistem, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer vücut dokularında bulunan periferik saatten meydana gelmektedir (Roenneberg & Merrow, 2016). Sirkadiyen saat; BMAL1, CLOCK (Circadian locomotor output cycles kaput), kriptokrom (Cry) ve Period adı verilen dört gen/proteinden meydana gelen bir düzenleyici transkripsiyon ve translasyon feedback döngüsünden oluşur. BMAL1, CLOCK, Per1/2 ve Cry1/2 çekirdek saat genlerini içeren bir transkripsiyonel: translasyonel geri bildirim mekanizması olan moleküler saat tarafından yönlendirilmektedir (Schibler, 2005; Hunt & Sassone-Corsi, 2007; Beckett & Roden, 2009). Sirkadiyen transkripsiyonel düzenleyicileri, RNA polimeraz II alımı ve başlangıcı ile gen ekspresyonu aşamalarının düzenlenmesinde histon modifikasyonlarında yer almaktadır. SCN'de bulunan çekirdek saat genleri, membran depolarizasyonu, hücre içi Ca^{2+} ve cAMP ile aktive edilen kalsiyum/ cAMP yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (CREB) kontrolü altında ritmik olarak eksprese edilmektedir. CREB, Per1 ve Per2 genlerinin kalsiyum/cAMP düzenleyici elemanlarına bağlanarak transkripsiyonu uyarmaktadır (Tablo 1) (Welsh vd., 2010).

Tablo 1: Sirkadiyen Saat Genleri ve Görevleri (Welsh vd., 2010)

Gen	Saat görevi
Per 1	PER/CRY etkileşimi, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü
Per 2	PER/CRY etkileşimi, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü
Per 3	PER/ CRY etkileşimi
Cry 1	PER lerle etkileşim, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü
Cry 2	PER lerle etkileşim, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü
Tim	PER ile dimerize olmak
CLOCK	Transkripsiyon faktörü
BMAL1 (mop3)	Transkripsiyon faktörü

Sirkadiyen ritimler, fizyolojik aktivitelerin endojen otonom osilatörleridir. Sirkadiyen ritim, organizmada hormonların salınımı (Brown & Matveyenko, 2020), uyku-uyanıklık döngüsü (Auger vd., 2015; LaBarbera & Sharkey, 2020), vücut sıcaklığının düzenlenmesi (Cagnacci vd., 1992), beslenme davranışı (Stokkan vd., 2001) ve kan basıncının düzenlenmesi ile metabolik süreçler (Javeed & Matveyenko, 2018) başta olmak üzere birçok fizyolojik süreçte önemli rol alır. Biyolojik ritimler zaman periyodlarına göre, ultradiyen, sirkadiyen, infradiyen, sirkannual ritimler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Ultradiyen ritimler, 24 saatlik zaman periyodu içerisinde birden fazla döngüye sahip ritimlerdir. Kan dolaşımı, mide hareketleri ve uyku evrelerinde gözlenen ritimler başlıca örnekleridir. Sirkadiyen ritimler, ortalama 24 saat süren ritimlerdir ve uyku-uyanıklık döngüsü, vücut sıcaklığının düzenlenmesi, fiziksel ve zihinsel performans süreçlerindeki ritimlerde gözlenmektedir. İnfradiyen ritimler, 24 saatten daha uzun süren ritimlerdir. Bunun en güzel örneği, menstrual döngüde gözlenen ritimdir. Sirkannular ritimler ise yaklaşık 1 yıllık ritimler olup duygu durumlarında gözlenmektedir. Biyolojik ritimlerde döngü süreleri ultradiyan ritimde 20 saatten az; sirkadiyen ritimde 20-28 saat; infradiyan ritimde 28 saatten fazla; sirkaseptan ritimde 7 ± 3 gün; sirkadiseptan ritimde 14 ± 3 gün; sirkavijintan ritimde 21 ± 3 gün, sirkatrivijintan ritimde 30 ± 5 gün, sirkatidal ritimde 11-14 saat; sirkalunar ritimde 26-30 gün; sirannual ritimde 330-400 günlük (yaklaşık 1 yıllık) döngüleri kapsamaktadır (Richter, 1975; Smolensky vd., 1999; Zucker, 2001; Schibler, 2005).

Sirkadiyen ritim, uyku-uyanıklık döngüsü, vücut sıcaklığı, kan basıncının düzenlenmesi, kardiyovasküler fonksiyonlar, melatonin, büyüme hormonu, kortizol, nörotransmitter sekresyonu gibi çeşitli hormonların üretimi ve salınımından sorumludur (Gnocchi & Bruscalupi, 2017; Bjorvatn & Pallesen, 2009; Coiffard vd., 2021). Sirkadiyen ritim bozukluğu, başta endokrin sistem olmak üzere birçok fizyolojik sistem etkilemesinin yanı sıra kanser (Savvidis & Koutsilieris, 2012; Zhao, 2024), tip 2 diyabet (Rutters & Nefs, 2022; Stevens vd., 2024), hipertansiyon (Faraci & Scheer, 2024), obezite (Jesse vd., 2024), metabolik sendrom (Bhatnagar vd., 2024) gibi rahatsızlık ve hastalıkların gelişiminde rol oynamaktadır.

Koyunlar gibi fotoperiyodik hayvanlar, fizyolojilerini ve davranışlarını, esas olarak gün uzunluğundaki değişikliklere bağlı kalarak mevsimlerle senkronize etmektedirler (Giannetto vd., 2010). Işık sinyallerinin iletilmesi, epifiz bezinin innerve edilmesi ile gün ışığında melatonin salgılanmasını baskılayan suprakiazmatik çekirdekten çoklu sinaptik yollar aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Melatonin hormonu, fotoperiyodik hayvanlarda fizyolojik ve davranış değişiklikleri ile mevsimsel döngülerdeki zamanlamayı düzenlemektedir. Koyunlarda, ışık maruziyeti (gün ışığına ve karanlığa maruz kalma süresi), sıcaklık değişimleri,

barınma ortamı, beslenme düzeni (beslenme saatleri), stres (sıcaklık, psikolojik, kuzularda süttten kesmeye bağılı vb.), yaş, cinsiyet, uyku-uyanıklık döngüsü, fiziksel aktivite düzeyi ve hayvanlar arasındaki sosyal etkileşimler gibi başlıca etmenler sirkadiyen ritim oluşumu ve sürekliliğinde önemli rol oynamaktadır (Johnston & Skene, 2015).

1.2. ANADOLU MERİONOSU KOYUN IRKI

Koyun, insanlık tarihi boyunca bütün medeniyetlerin her zaman önemli bir parçası olmuştur. Ayrıca, merayı en iyi şekilde değerlendirmesi ve yılın her döneminde merayı kullanabilmesi ve elverişsiz iklim koşullarına uyum sağlayabilen bir hayvan olmasının yanı sıra et, süt, yün, deri ve gübre açısından gıda endüstrisinden tekstil endüstrisine kadar birçok faydaları ile ekonomik ve sosyo-kültürel açıdan hayvancılık sektöründe önemli bir yere sahiptir. Kuzu etinin, insan sağlığı üzerinde sinir sistemini koruyucu, hafızayı güçlendirici, kan hücresi üretimini destekleyici, cilt, tırnak ve saçları besleyici önemli işlevleri bulunmaktadır. Aynı şekilde kuzu eti B12 ve B1 vitaminleri, demir, çinko, potasyum ve beta-alanin yönünden zengindir (Higuera vd., 2021).

Koyunlar memeli sınıfına dahil olan hayvanlar olup sistematik sınıflandırmadaki yeri aşağıda verilmiştir (Rezaei vd., 2010).

Alem: Animalia

Phylum: Chordata

Subphylum: Vertebrata

Classis: Mammalia

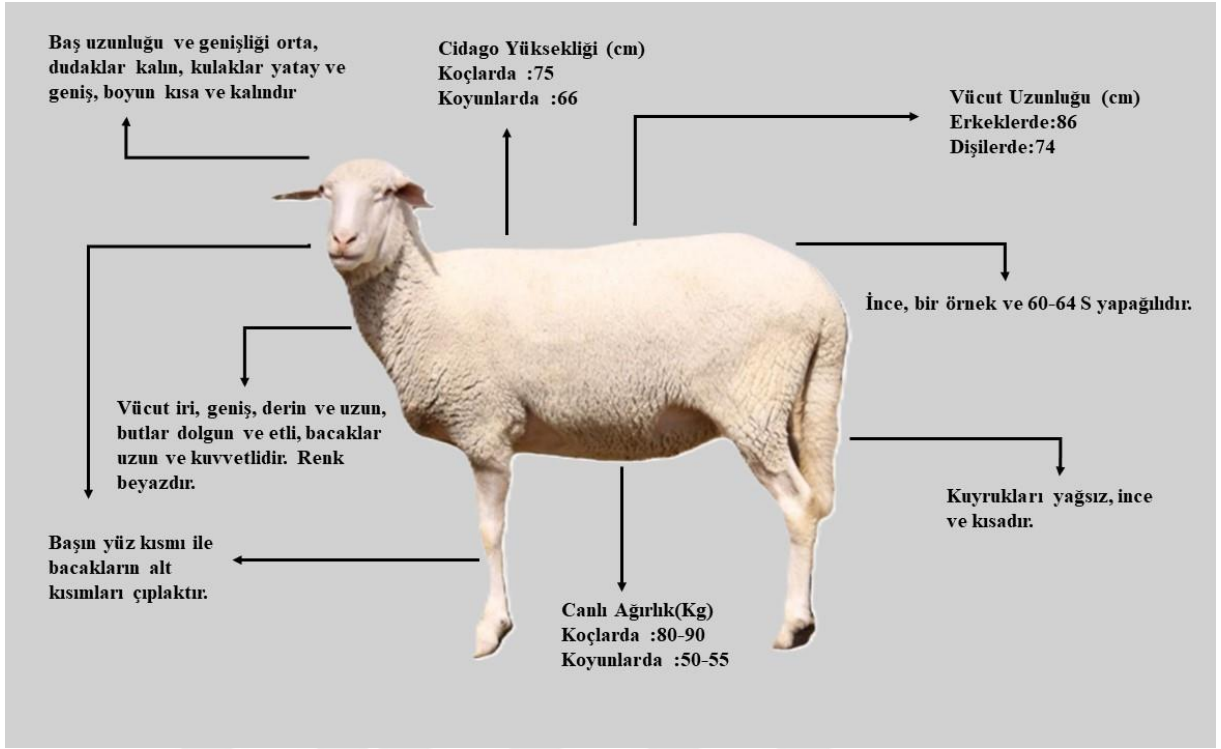
Ordo: Artiodactyla

Familya: Bovidae

Genus: Ovis

Species: Ovis aries

Melez bir koyun ırkı olan Anadolu Merinosu; Alman et Merinosları X Akkaraman melezlemesi sonucunda oluşturulmuştur. Bu ırk genetik olarak, %75-80 Alman Yapağı Et Merinosu, %20-25 de Akkaraman ırklarını barındırmaktadır. Anadolu Merinosu tarihsel olarak ülkemizde kaliteli yapağı ihtiyacını karşılamak amacıyla merinoslaştırma neticesinde geliştirilmiştir. Karacabey merinosu (Türk merinosu), Anadolu Merinosu, Orta Anadolu Merinosu (Konya merinosu), Malya koyunu ve Ramlıç koyunu olmak üzere olarak 5 tip yerli merinos melezi bulunmaktadır (Buğdaycı vd., 2023).



Şekil 1: Anadolu Merinosu Koyu Irkına Ait Fiziki Özellikleri (TURKHAYGEN-I, 2007)

Anadolu Merinosu, değişik çevre koşullarına hızlı adapte olabilen ve meralardan verimli bir şekilde faydalanabilen, sürü halinde sevk ve idare edilmeleri kolay, analık içgüdüleri yüksek bir ırktır. Verim özellikleri açısından kombine (et ve yapağı) verim yönü ile yetiştirilmektedir. Bu ırk, beyaz renk yapağı ile kaplı iri bir vücut yapısına sahip olmakla birlikte yüz ve alt bacaklarında tüy bulunmamaktadır. Hem erkeklerde hem de dişilerde çoğunlukla boynuz yoktur. Başları ortalama uzunluk ve genişlikte olup, geniş ve uzun vücutlarına, kısa fakat kalın bir boyunla bağlıdır. Kalın dudakları ve geniş kulakları bulunmaktadır. Bacakları uzun ve güçlüdür. İnce ve uzun kuyruklarında yağ bulunmamaktadır. 18 aylık yaştan itibaren damızlık olarak kullanılan Anadolu Merinosu'nun koyun başına ortalama süt verimi 70-90 litre, yavru verimi ise 1.4'tür. Erkeklerde 4.3, dişilerde ise 4.1 kg ortalama doğum ağırlığına sahip kuzular günlük 240 g canlı ağırlık artışına sahiptir. İnce yapılı ve tek-tip yapağısı 60-64 S kalınlığında olup 3-3.5 kg ağırlığında yapağı verimi bulunmaktadır (Şekil 1) (TURKHAYGEN-I, 2007).

1.3. GRAVİOLA (ANNONA MURİCATA)

Tarçın elması adıyla da bilinen Graviola (*Annona muricata*; Soursop, guanabana) mucizevi besin olarak adlandırılır. Dünya çapında tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen, *Annonaceae* familyasına ait, yaprak dökmeyen tropikal meyve ağacıdır. Üst tarafı parlak olan kalın yapraklara sahiptir. Yapraklar obovat, basık ve değişik derecelerde sivri uçludur. Graviola meyvesi, koyu yeşil, dikenli ve oval olup, sulu, asidik, beyazımsı ve aromatik

tadı bulunan ve hamursu kıvama sahiptir (Şekil 2) (Moghadamtousi vd., 2015; Coria-Téllez vd., 2018).



Şekil 2: Graviola Ağacı Meyvesine Ait Görünüm (Anonim, 2024)

Graviola Germplasm Resources Information Network (GRIN) (1997)'ye göre sistematik yeri aşağıda verilmiştir.

Alem: Plantae

Phylum: Tracheophyta

Classis: Magnoliopsida

Ordo: Magnoliales

Familiya: Annonaceae

Genus: Annona

Species: A. muricata

Graviola, meyvesi kolaylıkla yenilebilen, su ve posa içeriği yüksek, karbonhidrat, vitaminler ve tuzlar açısından zengin içeriğe sahiptir. Bu yönüyle gıda endüstrisinde jöle, şeker, nektar, reçel ve dondurma üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Coria-Téllez vd., 2018).

Graviola içeriğinde 200 fitokimyasal bileşik bulundurmakla birlikte ana biyoaktif bileşikler, setogeninler, kumarinler ve terpenoidler, alkaloidler, fenolik bileşikler ve seskiterpenlerdir. Antioksidan, antikanser, antitümöral, antidiyabetik, antienflamatuvar, antihipertansif, hepatoprotektif antiprotozoan ve antiülserik, anksiyolitik, antistres,

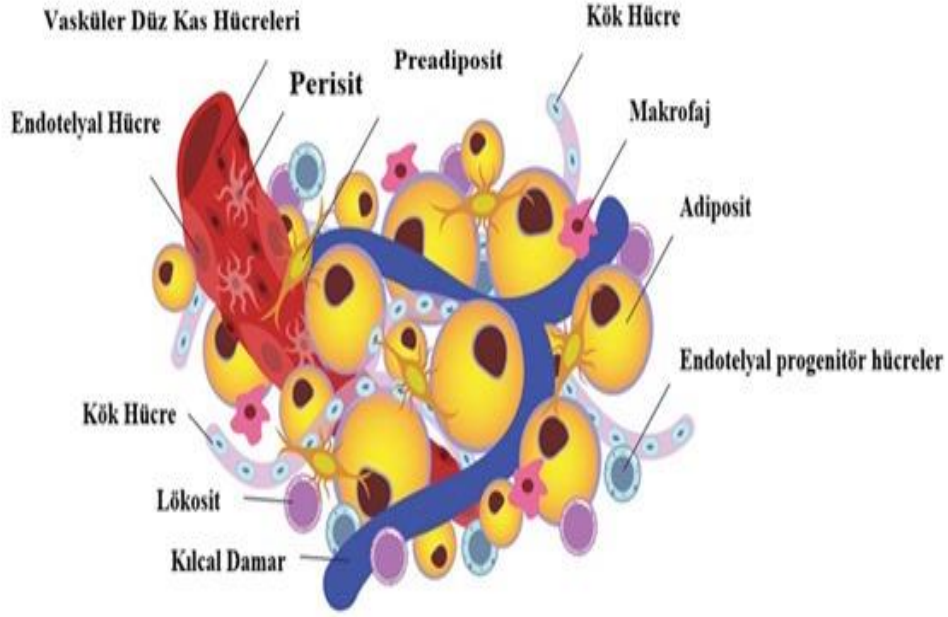
hipoglisemik, kontraseptif ve antiikterik aktiviteye sahiptir (Champy vd., 2005). Graviola meyve içeriği 100 gramında 0.3 g yağ, 17 g karbonhidrat, 1 g protein, 66 kalori (Kcal), Sodyum (Na), 14 mg, Potasyum (K) 278 mg, C vitamini 20,6 mg, Demir (Fe) 0,6 mg, Kalsiyum (Ca) 14 mg, Magnezyum (Mg) (21 mg) içermektedir (Barbosa vd., 1981; Olas, 2023). Graviola yaprakları ise, %25 Ham protein, %21 yağ, % 17 karbonhidrat, % 15 kül, % 22 ham lif, % 89 kuru madde, % 11 nem bulundurur (Usunobun, 2015).

Hayvanlarda kullanımına yönelik literatür sınırlı olmakla birlikte keçilerde *Annona muricata* yaprak küspesi, büyüme performansından ödün vermeden yüksek maliyetli keçi beslemesine alternatif olabileceği bildirilmektedir (Kuka & Anayo, 2017). Bir diğer çalışmada ise broiler yetiştiriciliğinde 40 ml *Annona muricata* yaprak ekstraktının en iyi performansa sahip olduğu bildirilmektedir (Jiwuba vd., 2017). Mevcut çalışmamız, yapılan literatür araştırmasında herhangi bir araştırmaya rastlanılmamış olması nedeniyle ilk olma özelliğine sahiptir.

1.4. ADİPOZ DOKU VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Adipoz doku, adiposit, kondrosit, osteoblast veya miyositlere dönüşebilme kapasitesinde olan preadipositler, mezenşimal hücrelerden farklılaşan lipoblastlar (ya da adipositler), fibroblastlar, immün hücreler, kan damarları ve kollejen lifler tarafından meydana getirilmiş bağ dokusu tipidir (Şekil 3) (Ahima & Flier, 2000).

Adipoz doku yapısal özellikleri yönünden beyaz (uniloküler), kahverengi (multiloküler) ve bej yağ doku olmak üzere 3'e ayrılmaktadır (Bradford & Awad, 2010). Kahverengi yağ doku, termoregülasyon için veya enerji regülasyonu süreçlerinde ısı üretiminde; beyaz yağ doku, uzun süreli sıcaklık altında yağ asitlerinin depolanması ve salınımında, bej yağ doku ise uncoupling protein 1 (UCP1) aracılığıyla termogenezin düzenlenmesi süreçlerinde rol oynamaktadır (Seale & Lazar, 2009; Reis, 2019).



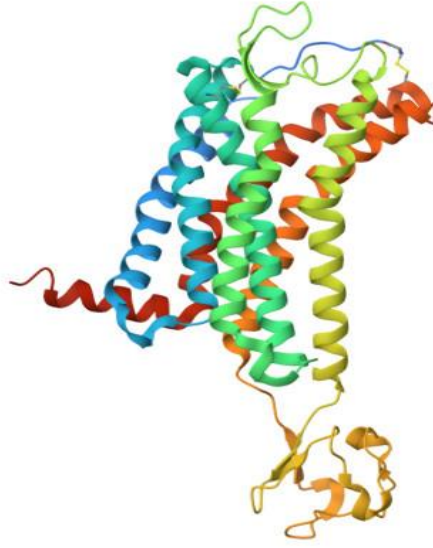
Şekil 3: Adipoz Doku ve Hücrelerinin Görünümü (Zuk vd., 2001)

Beyaz yağ doku, trigliserit metabolizması, lipogenez (yağ asidi sentezi) ve lipoliz (yağ asidi oksidasyonu) yoluyla enerji depolayan ve serbest bırakan unioküler lipid içeren hücrelerden oluşmaktadır. Beyaz yağ doku, salgıladığı adipokinler ile iştah, vücut ağırlığı, anjiyogenezis süreçlerini düzenlemektedir (Frühbeck vd., 2001; Rajala & Scherer, 2003; Trayhurn & Wood, 2005; Rosen & Spiegelman, 2006). Kahverengi yağ dokunun, birçok memeli türünün yeni doğan yavrularının (özellikle kuzular ve buzağı gibi hayvanlarda), küçük memelilerin soğuğa alışmasında ve kış uykusundan uyanma gibi termoregülatör süreçlerde önemli rolü bulunmaktadır (Cannon & Nedergaard, 2004). Kahverengi yağ dokusunun ısı üretimindeki işlevi, mitokondriyal solunum yoluyla gerçekleştirilmektedir. İç mitokondriyal membran boyunca proton gradyanı, adenosin trifosfatın (ATP) üretimi yerine ısı şeklinde dağılmaktadır (Zingaretti vd., 2009).

Adipoz dokudan başta vücudun enerji metabolizması ile metabolik süreçlerde düzenleyici rolü bulunan adipokin adı verilen peptid hormonlar salgılanmaktadır. Adipokinlerin salınımı ve metabolizması sirkadiyen ritim tarafından kontrol edilmektedir (Chua vd., 2013). Buna rağmen, tokluk hormonu olarak bilinen leptin gibi kaç adipokin haricinde, adipokinlerin sirkadiyen değişimi süreçlerine yönelik çok az şey bilinmektedir. Bu tez çalışmasında Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen graviola yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin (apelin, irisin, visfatin), serebral (BDNF), kardiyak (cTnI), bağırsak (GLP-1, GLP-2) ile mitokondriyal fonksiyon (MOTSc ve BMCP1) yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisinin incelenmesi hedeflenmiştir.

1.5. APELİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Apelin, G proteinine bağlı reseptör APJ'nin endojen bir ligandı olarak adipoz dokudan salgılanan yakın zamanda keşfedilmiş bir adipokindir (Tatemoto vd., 2001). Apelin, APJ aktivasyonu yoluyla hücre içi sinyal yolunu uyarır ve G proteini aracılığıyla da sinyal yolunun düzenlenmesinde önemli rol oynar (O'Carroll vd., 2013). Apelin, preproapelinin enzimatik hidrolizi neticesinde aktif formlara dönüşmektedir. Apelin-10, apelin-11, apelin-12, apelin-13, apelin-15, apelin-17, apelin-19 ve apelin-36 gibi izoformları bulunmaktadır (Şekil 4) (Kurowska vd., 2018).



Şekil 4: Apelin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024a)

Apelin'in, sıvı elektrolit dengesi, glikoz ve yağ metabolizması ve kardiyovasküler fonksiyon, immün sistem dahil olmak üzere çok çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda ve süreçlerde önemli rolü bulunmaktadır (Gourdy vd., 2018). Antikanser, antienflamatuar, antioksidan, antiapoptoz, otofaji düzenleyici ve nöroprotektif etkiye sahiptir. Apelin/APJ sistemi, merkezi sinir sistemi ve periferik dokularda, özellikle kalp, akciğer ve böbrekte ve yoğun olarak adipoz dokuda eksprese edilmektedir (Cheng vd., 2012; Masoumi vd., 2020; Wang vd., 2022).

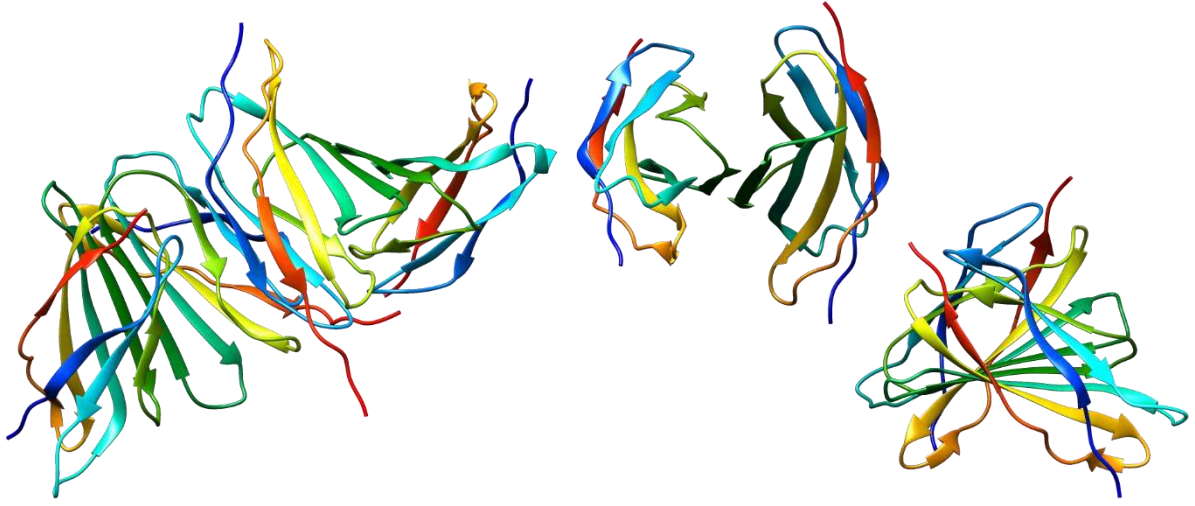
Apelin hormonun sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü ise sıvı elektrolit dengesi ile beslenme davranışını kontrol eden paraventriküler, supraoptik ve arkuat çekirdek ile pineal bezde ve diğer ekstra hipotalamik beyin alanlarında yaygın bulunmasıyla ilişkilendirilmektedir (Schwartz vd., 2000; Reaux vd., 2001). Besin alımının kontrolünde apelinergic sistemin sirkadiyen yapıları etkilediği bildirilmektedir. Diğer taraftan sirkadiyen ritim düzenleyici bir hormon olan melatonin hormonu ile apelin hormonunun etkileşimi üzerinden sirkadiyen ritim fizyolojisi üzerinde etkili olduğu bildirilmektedir (Zhang vd., 2019).

Bayraktar vd. (2020a), Akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına koyunlarına ait kan serumlarında apelin hormon düzeyi üzerine laktasyon, gebelik, cinsiyetin etkisinin belirlenmesi amacıyla VKS'leri farklı (<2 , $3-3.5$ ve ≥ 4) olan Akkaraman Kangal ve Morkaraman ırklarına ait gebe, gebe olmayan koyunlar ve koçların apelin hormon düzeylerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda koçlarda ırklara göre VKS'lerinde farklılık olduğu, ırk ile VKS arasında interaksiyonun önemli olduğunu, laktasyondaki koyunlarda apelin seviyesinin vücut kondisyon skorlarına göre değişmediğini ($p>0,05$) ancak ırklara göre farklılık gösterdiğini ($p<0,05$) gebe koyunlarda ırklara göre bir değişme göstermediği ($p>0,05$) ifade etmişlerdir. Ayrıca, apelin hormonun cinsiyet, VKS, ırkın cinsiyete ve ırkın vücut kondisyon skoru interaksiyonu önemli olduğu sonucunu bildirmişlerdir.

Bayraktar vd. (2020b), VKS (<2 , $3-3.5$ ve ≥ 4) farklı olan Morkaraman ve Akkaraman Kangal ırkı koyunlarda laktasyon, gebelik dönemlerindeki Maedi-Visna enfeksiyonu yönünden serum apelin hormon düzeyi değişimini inceledikleri araştırmalarında apelin seviyesinin ırklar arasında, laktasyon ve gebelik döneminde bulunan koyunlar ve koçlar arasında istatistiksel olarak farklılık gösterdiğini ($p<0,05$) ve ırk ve cinsiyet interaksiyonu ile ırk, cinsiyet ve BCS üçlü interaksiyonları önemli olduğunu tespit etmişlerdir ($p<0,05$). Maedi-visna enfeksiyonu görülen koyunların serum apelin hormon düzeylerinde azalma, enfeksiyon tespit edilen laktasyondaki koyunların koçlara göre virüse yakalanma riski oranının 0.37 kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir ($p<0,05$).

1.6. İRİSİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

İrisin, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör gama koaktivatörü 1-alfanın (PGC-1 α) uyarılması ve fibronektin tip III alanı içeren protein 5'in (FNDC5) proteolitik bölünmesi yoluyla esas olarak egzersiz ve soğuğa maruz kalma sonrasında iskelet kasından salınan bir miyokindir (Şekil 5) (Boström vd., 2012; Staiger vd., 2013).



Şekil 5: İrisin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024b)

İrisin hormonu öncüsü olan FNDC5 geni tarafından kodlanan beyinde ve iskelet kasında eksprese edilen transmembran proteinidir (Boström vd., 2012). İrisin, beyaz adipositlerin ve miyosit ve hepatositler de dahil olmak üzere diğer hücrelerin reseptörlerine bağlanarak PPAR- α ekspresyonunu artıran (Perakakis vd., 2017) ve UCP1 ekspresyonunda artış sayesinde termogenez üzerinde ve glikoz ve lipid homeostazisinin düzenlenmesinde rolü bulunan bir adipokindir (Puigserver vd., 1998; Castillo-Quan, 2012). Bu hormonun, kas büyümesi ve adipoz doku metabolizması üzerinde düzenleyici rolü nedeniyle günümüzün önemli hastalık ve rahatsızlıkları olan obezite, diyabet ve metabolik sendrom, metabolik ve kas bozukluklarının etiyolojisi ile ilişkili olmasının yanı sıra terapötik etkili bir potansiyele sahip olduğu bildirilmektedir (Sanchis-Gomar vd., 2012; Choi vd., 2013; Moreno-Navarrete vd., 2013; Park vd., 2014).

İrisin hormonun sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü ise, beyin çeşitli bölgelerinden BDNF üretimini uyarılması ile gerçekleştirilmektedir. Sirkadiyen saat, BDNF için retinohipotalamik sinapsta fotik uyarıların geçişinde önemli rol oynamaktadır. İrisin salınımının düzenleyicisi olan peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör gama koaktivatörü 1-alfa (PGC-1 α) aynı zamanda sirkadiyen saatin önemli bir unsuru olarak da görev yapmaktadır (Liu vd., 2007). PGC-1 α 'nın uyarılması ise, BMAL1 ve CLOCK genlerinin ekspresyonunu ve translasyonu ile gerçekleşmektedir (Liu vd., 2007; Miyazaki vd., 2011).

Bayraktar ve Tekce (2021), Anadolu Merinosu koyunlarında irisin hormon yanıtı üzerinde VKS, laktasyon, gebelik, yaş ve cinsiyetin etkisinin incelendikleri araştırmalarında laktasyon ve gebelik döneminde ortalama serum irisin hormon düzeyleri en düşük VKS<2 grubunda, en yüksek ise VKS ≥ 4 gruplarında bulunan koyunlarda tespit etmişlerdir. Farklı yaş ve cinsiyet gruplarında ise en düşük ortalama serum irisin hormon düzeyleri VKS<2 grubunda

bulunan genç kuzu ve toklularda iken, en yüksek düzey ise VKS $\geq$ 4 grubunda yaşı koyun ve koçlarda tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Yosae vd. (2020), metabolik olarak sağlıklı obez (MUO) ve metabolik olarak sağlıklı obez (MHO) bireylerde serum irisin düzeylerini inceledikleri araştırmalarında, metabolik sendromlu obez bireyler (n=51) ve normal kilolu metabolik sendromu olmayan bireylerde (n=51) üzerinde serum irisin düzeyleri MUO, MHO ve obez olmayan metabolik açıdan sağlıklı katılımcılarda sırasıyla 2.91 ± 1.6 , 3.14 ± 1.4 ve 4.47 ± 3.23 (ng/mL) (P = 0.001) olarak belirlenmiştir. Çalışma neticesinde MetS olan/olmayan obez hastaların irisin düzeyleri normal kilolu katılımcılara göre daha düşük düzeyde olduğu sonucunu bildirmişlerdir.

1.7. VİSFATİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Nampt/PBEF/visfatin, nikotinamid'den nikotinamid adenin dinükleotid (NAD⁺) biyosentezindeki ilk adımı katalize ederek hücrelerinin büyümesi, apoptoz ve anjiyogenezini düzenleyen adipoz dokudan salgılanan bir adipokindir (Şekil 6) (Fukuhara vd., 2005). Visfatin, organizma da adipoz doku, kas doku, kondrositler ve amniyotik epitel hücreleri gibi çok çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilmektedir (Ognjanovic vd., 2005).



Şekil 6: Visfatin 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024c)

Visfatin, enerji metabolizması, insülin duyarlılığı, inflamasyon ve üreme fonksiyonu gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rolü bulunan bir adipokindir (Tanaka & Nabeshima, 2007; Campos vd., 2008). NAD⁺, metabolizma, sirkadiyen ritim, inflamasyon ve yaşlanmada

önemli bir rol oynayan önemli bir biyosentetik substrattır. Nampt aracılı NAD⁺ biyosentezi ve Sirtuin 1 (SIRT1) aracılığıyla glikoz ve lipid metabolizması üzerinde düzenleyici etkisi bulunmaktadır (Revollo vd., 2007; Nakahata vd., 2009).

Visfatin, insülin salgısının düzenleyicisinden birisi olup, metabolik aktiviteye bağlı olarak gıda alımını etkilemektedir (Benedict vd., 2012). Metabolik stres, visfatin düzeyindeki azalma neticesinde insülin salınımı olumsuz etkilemektedir (Kover vd., 2013). Yüksek insülin yanıtına yol açan canlı ağırlık artışı ile metabolizmadaki değişikliklere bağlı olarak serum visfatin düzeyleri etkilenmektedir (Krzyzanowska vd., 2006). Visfatin, kas ve yağ hücrelerinde glikoz emilimini uyarır ve hepatosit glikoz salınımını azaltarak, pre-adiposit sentezini arttırmaktadır (Fukuhara vd., 2005; Hug & Lodish, 2005). Osteoblastlarda ise insülin salınımını uyararak matriks mineralizasyonunu desteklemektedir (Xie vd., 2007). Ayrıca pro-inflamatuar sitokin görevi ise inflamasyonda tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve İnterlökin-6 (IL-6) gibi diğer sitokinlerin ekspresyonunu uyararak lökositlerin inflamatuvar bölgelere göçünü teşvik etmesiyle sağlamaktadır (Moschen vd., 2007). Visfatin hormonun sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü ise uyku/uyanıklık döngüsüne bağlı sirkadiyen ritim göstermekle birlikte glikoz homeostazisi üzerinde düzenleyici bir etkisi bulunmaktadır. Aynı zamanda visfatin hormonu, enerji regülasyonu süreçleri ile istirahat ile fiziksel aktivite döngüsünde sirkadiyen bir geri bildirim döngüsüne aracılık etmektedir (Ramsey vd., 2009; Benedict vd., 2012).

Poręba vd. (2024), 132 erkek ve 153 kadın olmak üzere 285 diyabetli birey üzerinde visfatin ve nistatin gen varyantlarının tam metabolik sendrom veya bileşenlerinin ortaya çıkışı üzerindeki etkisini değerlendirdikleri araştırmalarında, visfatin AA genotipi (rs 4730153), AG ve GG genotiplerine kıyasla tip 2 diyabetli hastalarda glukoz konsantrasyonu veya farmakolojik tedavi ile pozitif bir ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir. rs 4730153'teki visfatin polimorfizmi uygunsuz glukoz düzeyi ile ilişkili olabileceği ve rs 1330'daki nesfatin polimorfizmi metabolik sendromla ilişkili olabileceği sonucuna vardıklarını bildirmişlerdir.

Kabir vd. (2018), aşırı kilolu ve görünüşte sağlıklı bireylerde serum visfatin düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı hedefledikleri araştırmalarında, aşırı kilolu bireylerde serum visfatin düzeyinin (7.4 ng/ml) de kontrollere (4.2 ng/ml) göre anlamlı derecede yüksek düzeyde tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

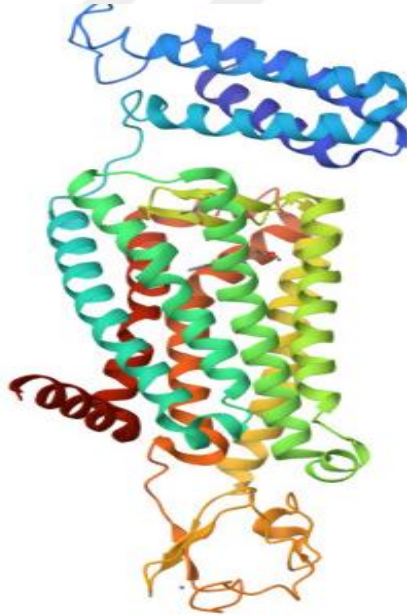
Oki vd. (2007), serum visfatin konsantrasyonları ile sistemik inflamasyon belirteçleri olarak bilinen interlökin-6 (IL-6), C-reaktif protein (CRP) ile insülin direnci arasındaki ilişkiyi inceledikleri araştırmalarında, serum visfatin seviyeleri ile IL-6 veya CRP arasında anlamlı pozitif korelasyon (sırasıyla $r = 0.271$, $P < 0.001$; $r = 0.118$, $P < 0.05$) tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Wang vd. (2007), insülin direncine ve hiperlipidemiye yatkın olan bireylerde serum visfatin ve lipit metabolizması arasındaki bağlantıyı inceledikleri araştırmalarında, visfatinin tüm vücut yağlanmasıyla ilişkisi yoktu ancak HDL-kolesterol ile pozitif ve trigliseritlerle negatif korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Visfatin düzeyinin, diyabetik olmayan beyaz ırktan kişilerde faydalı lipit profilinin bir göstergesi olduğu sonucunu bildirmişlerdir.

1.8. MELATONİN HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Melatonin (N-acetyl-5-meth-oxytryptamine), nitrojen atomuna bağlı hidrojenlerden birinin bir etil grubu ile değiştirilmesiyle asetamid sınıfının bir üyesi ve epifiz bezinden salgılanan sirkadiyen ritim üzerinde düzenleyici etkiye sahip bir hormondur (Şekil 7) (Poeggeler vd., 2002).

Melatonin, uyku/uyanıklık döngüsü, sirkadiyen ritim düzenlemesinin yanı sıra serbest radikallerin uzaklaştırılmasındaki rolü ile immün sistemi uyarıcı ve sitoprotektif ajan olarak görev yapmaktadır. Melatonin, dolaşım kanında çoğunlukla hepatik P450 monooksijenazlar tarafından 6-hidroksillenir ve son olarak 6-sülfatoksimelatonin olarak atılmaktadır (Karasek & Reiter, 2002). Memelilerde gece melatonin salgılanmasının süresindeki değişiklikler nöroendokrin yolla iletilerek üreme, gıda alımı, yağlanma ve vücut sıcaklığı dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçleri düzenlemektedir (Badness vd., 1993).



Şekil 7: Melatonin Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024d)

İnsan, at, koyun ve keçi dahil olmak üzere çeşitli memeli türlerinde bireyler arasında gece plazma melatonin konsantrasyonlarında büyük bir değişkenliğe sahiptir (Piccione vd., 2013). Epifiz bezindeki melatonin üretimi yaşla birlikte giderek azalır. Bu nedenle yaşlı

hayvanlarda ve yaşı insanlarda organizmanın kullanabileceği melatonin seviyeleri genç bireylerden çok daha azdır (Reiter, 1995). Melatonin düzeylerinin azalması, yaşlanmada kolayca fark edilebilecek sonuçlarla birlikte bu etkilerde de azalmaya yol açmaktadır (Karasek, 2007). Koyunlarda yaşlanma sırasında üreme aktivitesinde bir azalma gözlenmekte ve bu azalma melatonin uygulamasıyla düzeltilebilmektedir. Ancak, hayvancılıkta koyunların kısa ömürlü olması nedeniyle bu etkiler kolayca tespit edilememektedir (Forcada vd., 2007).

Melatonin hormonun sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü ise sirkadiyen ritimin düzenlenmesini sağlamaktadır. Memelilerde fotoperiyodik sinyal, retinadan multisinaptik bir yolla epifiz bezine iletilmektedir (Piccione vd., 2008). Işık koşullarındaki değişiklikler, epifiz hormonu melatonin'in ritmik olarak sentezlenmesini sağlamaktadır (Goldman, 2001). İndolaminin sentezi ve salgılanması hem kanda hem de beyin omurilik sıvısında geceleri yüksek, gündüzleri ise düşük seviyelerde olmak üzere sirkadiyen bir ritmi izlemektedir (Simonneaux & Ribelayga, 2003).

Carcangiu vd. (2013), farklı yaştaki koyunlarda kısa fotoperiyotlar sırasında melatoninin günlük paternini araştırdıkları araştırmalarında doğal ışık koşullarında tutulan ve yaşlarına göre üç ayrı gruba ayrılan 30 Sarda koyunu kullanmışlardır. Çalışmada, 21 Aralık'tan (12:00 saat) başlayarak 22 Aralık'a (10:00 saat) kadar 22 saat boyunca her 2 saatte bir kan örnekleri alınmıştır. Çalışma neticesinde günün saati ve yaşı serum melatonin düzeyi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Serum melatonin düzeyinin 8-9 yaşında yer alan Grup 3'te bulunan koyunlarda, Grup 1 ve 2'ye göre istatistiksel olarak daha düşük düzeyde ($p<0,05$) olduğunu bildirmişlerdir.

Carcangiu vd. (2014), tarafından at, koyun ve keçilerde melatoninin sirkadiyen ritmini değerlendirmek ve bu ritmikliği aynı koşullar altında karşılaştırmayı hedefledikleri araştırmalarında 5 dişi safkan, 5 dişi Sarda koyunu ve 5 dişi Sarda keçisini açılır pencereli kutularda barındırmışlardır. Çalışma süresince hayvanlar doğal bir fotoperiyod ve iç ortam sıcaklığı ($16-20^{\circ}\text{C}$) altında tutulmuştur. Çalışma grubunda yer alan hayvanlardan kan örneklerini ise 48 saatlik süre boyunca her 2 saatte bir toplamışlardır. Çalışma neticesinde, üç türde gece akrofazıyla birlikte sirkadiyen melatonin ritmini gösterdiğini ve akrofazın koyun ve keçilerde, atlardan yaklaşık 2 saat önce başladığını belirtmişlerdir. Ayrıca 61.20 ± 7.57 ve 83.60 ± 7.26 ritimleri arasında yüksek bir sağlamlık gösterdiğini tespit ettiklerini, melatonin salgılanmasında her türün kendine has özelliklerinin bulunduğunu ve farklı türlerde sirkadiyen saatin araştırılmasında dikkate alınması gerektiğini kanaatini bildirmişlerdir.

1.9. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR (BDNF) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Beyin Türetilmiş Nörotrofik Faktör (BDNF), beyin gelişimi sırasında nöronların büyümesinde, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında nöroprotektif etkiye sahip sinaptik plastisitede rol oynayan önemli bir nörotrofik faktördür (Şekil 8) (Lewin & Barde, 1996). BDNF, beyin, hipokampus, korteks, amigdala ve striatum ve hipotalamusta eksprese edilmektedir (Edelmann vd., 2014). Kan-beyin bariyeri tarafından kan akışından korunmayan hipotalamik nöronlardaki aktiviteye bağlı olarak BDNF salınması, kandaki BDNF düzeyine katkıda bulunmaktadır. BDNF, lokal olarak etki gösterebildiği gibi, kan dolaşımına yayıldıktan sonra beyinden uzaktaki diğer organların fonksiyonlarını etkileyerek de genel olarak etki de gösterebilmektedir (Brigadski & Leßmann, 2020). BDNF salınımı, egzersiz, hipoksi, stres, epileptik nöbetler ve iskemi gibi fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerden etkilenmektedir (Giannopoulou vd., 2018; Lippi vd., 2020).



Şekil 8: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024e)

BDNF'nin, glukoz metabolizmasını, enerji harcamasını ve gıda alımını etkileyerek iştah baskılayarak kilo kaybını tetiklediği (Wang vd., 2007; Wang vd., 2010), lokomotor aktiviteyi (Naert vd., 2006) ve metabolizma hızını artırdığı bildirilmektedir (Wang vd., 2007). BDNF, enerji dengesini düzenlerken melanokortin (Xu vd., 2003; Tsao vd., 2008), leptin (Wang vd., 2007), kortikotropin salgılayan hormon (CRH) dahil olmak üzere diğer birçok nöropeptitle etkileşime girmektedir. BDNF'nin sirkadiyen ritimdeki fizyolojik rolü ise, sirkadiyen sistemin güçlü bir modülatörü olmasıdır. SCN içinde ritmik olarak salınmakla birlikte, ışık sirkadiyen ritimlerin fazını değiştirdiğinde seviyeler subjektif gece boyunca yükselir, ancak saat mekanizmasının subjektif gün boyunca düşük kalmasını sağlamaktadır (Liang vd., 1998a).

BDNF, memelilerde ana sirkadiyen saatin merkezi olan suprakiazmatik çekirdekte (SCN) (Liang vd., 1998a) yüksek düzeyde eksprese edilir (Alderson vd., 1990). BDNF'nin SCN içindeki ekspresyonu ritmiktir; en yüksek mRNA ekspresyonu biyolojik gece boyunca ve en yüksek protein ekspresyonu biyolojik gün boyunca gerçekleşmektedir (Liang vd., 1998b).

Przybył vd. (2021), BDNF'nin merinos koyunlarında 10 µg/480 µl/gün ve 60 µg/480 µl/gün dozunda intraserebroventriküler infüzyon uygulaması yapılarak somatotrofik eksenin hormonlarını düzenleyici rolünü inceledikleri araştırmalarında, koyunların mediobazal hipotalamusunda büyüme hormonu salgılayan hormon (GHRH) mRNA ekspresyonunda doza bağlı bir artışa neden olduğu ortaya çıktığını, BDNF uygulaması, hipofizde büyüme hormonu (GH) mRNA ekspresyonunu ve GH nabız amplitüdünü ve plazmasındaki ortalama GH konsantrasyonunu arttırdığını tespit etmişlerdir. BDNF infüzyonundan sonra dişi koyunlarda somatotropik eksen aktivitesinin yukarı regüle edildiğini ve BDNF'nin olgun koyunlarda somatotropik eksen birlikt oluşturur GH ve GHRH hormonların salınımının düzenlenmesinde rol oynadığını bildirmişlerdir.

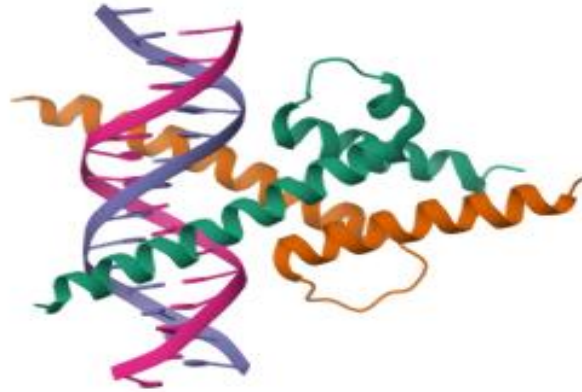
Roszkowicz-Ostrowska vd. (2022), koyunlarda hippocampal cornu ammonis (CA1) alanında kinurenik asitin BDNF-tirozin reseptör kinaz B (TrkB) sinyalleme ve baz eksizyon tamiri (BER) enzimatik aktivitesi üzerindeki merkezi uyarıcı etkisini inceledikleri araştırmalarında, üçüncü beyin ventrikülüne 20 µg ve 100 µg enjekte edilen kinurenik asitin CA1 alanındaki BDNF ve TrkB mRNA bolluğunu farklı şekilde artırdığını; ayrıca yüksek doz BDNF doku konsantrasyonunu artırdığını, 20 µg doz uygulamasının 8-oksoguanin glikosilaz (OGG1), N-metilpurin DNA glikosilaz (MPG) ve timin DNA glikosilaz için mRNA ekspresyonunu artırdığını ve 1,N6-etenodeoksiadenosin ve 3,N4-etenodeoksi-sitosinin onarımını uyardığını tespit etmişlerdir. Çalışma neticesinde kinurenik asitin beyin hücrelerindeki potansiyel nörotrofik ve nöroprotektif etkileri, BDNF-TrkB ve BER yollarının uyardığını bildirmişlerdir.

Abazari-Kia vd. (2015), koyunlarda iki farklı kültür koşulunda embriyonik gelişimin ve apoptotikle ilişkili gen ekspresyonunun BDNF tarafından düzenlenmesindeki rolünü inceledikleri araştırmalarında, BDNF'nin koyunlarda oositlerin gelişimsel yeterliliği üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. İn-vitro olarak gerçekleştirilen çalışmada farklı konsantrasyonlarda (0, 10 ve 100 ng/mL) BDNF uygulamasına bağlı olarak, mayotik olgunlaşma, hücre içi glutatyon seviyeleri, partenogenetik aktivasyon sonrası embriyonik gelişim potansiyeli, blastosistlerdeki toplam ve apoptotik hücre sayısı, blastosist hücrelerinde Bax ve Bcl-2 genlerinin ekspresyonu belirlediklerini, stressiz durumda 100 ng/mL konsantrasyonda BDNF IVM düzeyini arttırdığını belirlemişlerdir.

Colitti (2015), koyunların meme bezlerinde prepubertal dönemden involüsyona kadar sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF ve bunların yüksek afiniteli tirozin kinaz reseptörleri TrkA ve TrkB'nin dağılımı immünohistokimyasal yöntemle araştırdıkları araştırmalarında, NGF ve BDNF protein ekspresyonları, prepubertal dönemde ve gebelikte bezlerin gelişimi sırasında güçlü iken, laktasyon ve involüsyon sırasında azaldığını belirlemişlerdir. BDNF, prepubertal aşama ile karşılaştırıldığında 60 günlük laktasyonda ve yine hamilelik ile 30 günlük laktasyon dönemi arasında önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışma neticesinde, gelişmekte olan meme bezinin hem stromal hem de parankimal hücrelerinde lokalize olan ekspresyonlar, laktasyon sırasında esas olarak salgı hücrelerinin apikal tarafında düzenlendiğini, meme bezinde gerçekleşen laktasyon sürecinde yer alan sayısız diğer moleküler sinyaller arasında, nöropeptitlerin ve bunların reseptörlerinin lokal üretiminin, meme biyolojisindeki potansiyel rolünün anlaşılmasına katkı sağlayabileceği kanaatini belirtmişlerdir.

1.10. BMAL1 (BEYİN VE KAS ARNT BENZERİ PROTEİN 1) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

BMAL1 (Beyin ve kas arnt benzeri protein 1), biyolojik saatin transkripsiyon/translasyon feedback döngüsünün merkezinde yer alan bir Basic Heliks-Loop-Heliks (bHLH)/Per-Arnt-Sim (PAS) alanı transkripsiyon faktörü ve sirkadiyen saatin çekirdek bileşenini oluşturan bir transkripsiyonel aktivatör proteindir (Şekil 9) (Lee vd., 2008).



Şekil 9: Beyin ve Kas Arnt Benzeri Protein 1 (BMAL1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024f)

BMAL1 fonksiyonundaki sorunlar, çeşitli psikiyatrik, onkogenik, nörodejeneratif rahatsızlıklar ile endokrin ve metabolizma bozukluklarla ilişkilidir (Akladiou vd., 2018; Hasegawa vd., 2019; Liu vd., 2023). BMAL1, kasın yapısı, fonksiyonu ve metabolizmasında rolü bulunmaktadır. BMAL1'in kaybı, lif tipi kaymalar, mitokondri azalması, mitokondriyal

solunumun bozulması, sarkomerik yapının değişmesi ve fonksiyonun zayıflaması dahil olmak üzere kasta ciddi patolojik sorunlara neden olmaktadır (Andrews vd., 2010; Dyar vd., 2014). BMAL1 proteinin sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü, sirkadiyen ritmin önemli bir düzenleyicisidir. BMAL1, CLOCK geni tarafından kodlanan protein ürünü ile bir heterodimer oluşturmaktadır. Bu heterodimer, transkripsiyonlarını etkinleştirmek için genleri Per 1, Per 2, Per 3, Cry 1 ve Cry 2 gibi E-box elemanlarına bağlamaktadır. PER ve CRY proteinleri CLOCK/BMAL1 heterodimer aktivitesini inhibe ederek negatif feed back döngüsü oluşumuna yol açmaktadır. SCN'de PER-1, PER-2, PER-3, CRY-1, CRY-2, ARNTL/BMAL1 ve CLOCK gibi saat genleri transkripsiyon ve çeviri geribildirim döngülerine katılmaktadır. Özellikle sirkadiyen ritmin ana transkripsiyon faktörü olan CLOCK ve BMAL1 aktive edilerek nükleusta sirkadiyen gen olan E-box'a bağlanarak PER-1, PER-2, PER-3, CRY1, CRY-2'nin ekspresyonlarını uyarmaktadır (Dunlap, 1999; Koike vd., 2012). BMAL1'in translasyon sonrası modifikasyonları, sirkadiyen döngü sırasında CLOCK/BMAL1 kompleksinin transkripsiyonel aktivitesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır (Lee vd., 2008).

Lincoln vd. (2002), yedi saat geni (BMAL1, CLOCK, Per1, Per2, Cry1, Cry2 ve CK1ε) 24 saatlik yanıtı hipofiz bezinin SCN ve pars tuberalis'te (PT) yerinde hibridizasyon ile test ettikleri araştırmalarında uzun (16 saat aydınlık/8 saat karanlık) veya kısa (8 saat aydınlık/16 saat karanlık) fotoperiyotlarda tutulan dişi Soay koyunlarından 24 saat boyunca her 4 saatte kan almışlardır. Lokomotor aktivite günlük olup melatonin salgılanması ile ters orantılı olduğunu ve uzun günlerde prolaktin seviyeleri arttığını tespit etmişlerdir. Tüm saat genleri koyun SCN ve PT'sinde ifade edildiğini, SCN'de CLOCK yanıtında BMAL1'e benzer, Per1 ve Per2'deki döngülerle antifazda 24 saatlik bir ritim belirlediklerini; Cry1 ve Cry2'nin düşük genlikli salınımı olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Han vd. (2021) çalışmalarında, altı kanonik saat geninin (CLOCK, BMAL1, Per1, Per2, Cry1 ve Cry2) ekspresyonlarını, beyinde, beyincikte, hipotalamusta, hipofizde, yumurtalıkta, rahimde ve yumurta kanalında, folikül ve luteal fazlarda belirlemişlerdir. Clock ekspresyonu, luteal fazın beyincik, hipotalamus ve uterusunda folikül fazına göre, BMAL1 ekspresyonunun ise luteal fazın hipotalamusunda folikül fazına göre, Per1 ekspresyonunun ise beyin, beyincik, hipotalamus ve luteal fazdaki hipofizde folikül fazına göre Per2 ekspresyonu ise luteal fazın hipotalamus, hipofiz ve uterusunda folikül fazına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde Cry1 ekspresyonu beyinde, serebellumda ve luteal fazın hipotalamusunda folikül fazına göre, Cry2 ekspresyonu ise luteal fazın hipofizinde folikül fazına göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Tüm dokulardaki saat geni ekspresyonu folikül ve luteal fazlar arasında farklılık gösterdiğini tüm saat geni mRNA

seviyelerinin luteal fazdaki yedi doku arasında daha yüksek ekspresyon gösterdiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Han koyunlarında kızgınlık döngülerinin saat geni ekspresyonu ile ilişkili olabileceğini ve saat genleri ile kızgınlık döngüsü arasındaki ilişkiyi geliştirmeye yönelik ileriki çalışmalara temel oluşturabileceği ifade etmişlerdir.

1.11. BEYİN MİTOKONDRIYAL TAŞIYICI PROTEİN 1 FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Beyin mitokondriyal taşıyıcı protein 1 (BMCP1, SLC25A14, UCP5), mitokondriyal eşleşmeyen proteinler (UCP'ler), amino asitler dahil küçük molekülleri iç mitokondriyal membran boyunca proton sızıntılarını katalize eden mitokondriyal taşıyıcıların ailesinin üyesi proteindir (Şekil 10) (Stuart vd., 2001).



Şekil 10: Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein 1 (BMCP1) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024g)

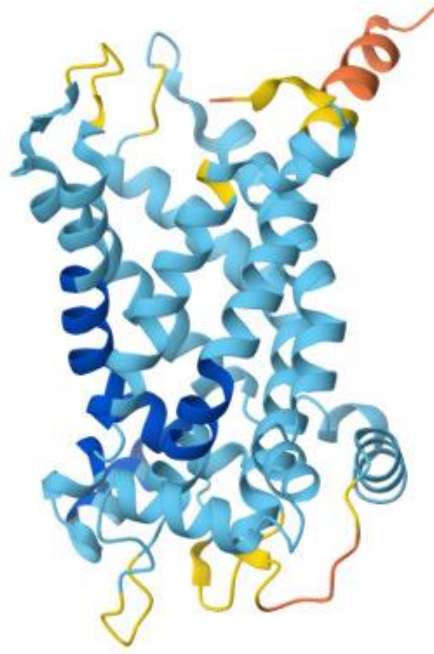
UCP'ler, mitokondrinin iç zarında sentezlenen termogenez, oksidatif stres ve enerji dengesinde mitokondriyal membran fonksiyonunun düzenleyicileridir (Mizuno vd., 2000). UCP1, yenidoğanlarda kahverengi yağ dokusu tarafından yağ asidine bağlı ısı üretiminin ana kaynağı olmakla birlikte (Nicholls & Locke, 1984; Enerback vd., 1997) soğuk stresine verilen fizyolojik yanıt ile ilişkilendirilmektedir (Enerback vd., 1997). UCP2 ise esas olarak belirli hipotalamik çekirdeklerde mevcut olduğu beyin de dahil olmak üzere birçok organda eksprese edilmektedir (Fleury vd., 1997). UCP3, ağırlıklı olarak iskelet kasında ve kahverengi yağ dokusunda bulunmaktadır. UCP2 ve UCP3, %57 ve % 55 oranında UCP1 ile benzerliğe sahiptir (Boss vd., 1997).

BMCP1'in sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü, beyinde yüksek düzeyde ekstrese edilmesi ile birlikte sirkadiyen saat genleri, beyin bölgesindeki nöronal aktivitede ve hücre tipine özgü davranışlarda ritimlerin düzenlenmesinde rol oynamasından kaynaklanmaktadır (Pantazopoulos vd., 2018). Moleküler sirkadiyen saat, beyin ve vücutta binlerce genin ritmik transkripsiyonunu düzenleyerek metabolizma, immun sistem fonksiyonu ve DNA onarımı dahil olmak üzere çok çeşitli süreçlerin transkripsiyonel koordinasyonunu sağlamaktadır (Gerhold vd., 2001). SCN'nin bu birincil hedef lokuslardan kaynaklanan ikincil veya üçüncül sinapslar aracılığıyla beynin tamamıyla iletişim kurabilecek konumdadır. Hedef lokusların birçoğu, beyin omurilik sıvısına veya genel dolaşıma salgılanabilen nöroendokrin hücreleri ve hipotalamik salgılatıcı faktörleri içerir ve beyin ve vücut boyunca yer alan fizyolojik sistemlerle iletişim sağlamaktadır (Horvath vd., 1998; Gerhold vd., 2001).

1.12. MITOKONDRIYAL-TÜREVLİ PEPTİD (MOTS-C) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Mitokondriyal hormon olarak adlandırılan mitokondriyal türevli peptid (MOTS-c, 12S rRNA-c'nin mitokondriyal açık okuma çerçevesi), mitokondriyal DNA'da (mtDNA) kısa açık okuma çerçevesi (sORF) olarak kodlanan 16 amino asitli bir peptittir (Şekil 11) (Lee vd., 2016).

MOTS-c, folat zincirine bağlanır ve onu inhibe eder ve pürin biyosentezini aktive eder ve adenosin monofosfatla aktifleştirilen protein kinazı (AMPK) indükleyerek metabolik homeostaziye düzenler (Kim vd., 2018). MOTS-c, metabolizmayı düzenler ve iskelet kasında glukoz metabolizmasını artırmasıyla obezite, diyabet ve metabolik süreçlerle ilişkisi olduğu bildirilmektedir (Lee vd., 2016). MOTS-c, metabolik homeostazın düzenleyicisi olarak görev yapar ve insülin direncinin gelişmesini önleyici etkiye sahiptir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu metabolik sendrom, nöronal hastalıklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve inflamatuvar bozukluk ve metabolik sağlık sorunlarına yol açmaktadır (Latha Laxmi vd., 2024)



Şekil 11: Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTSC) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024h)

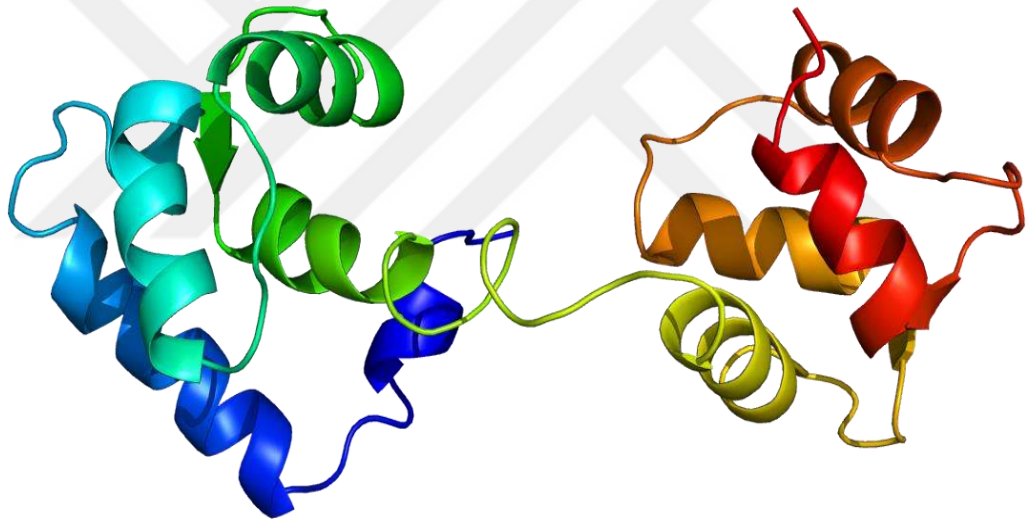
MOTS-c'nin sirkadiyen ritim fizyolojisi üzerindeki rolü ise, mitokondri faaliyetleri, sirkadiyen saat genleri tarafından güçlü bir şekilde kontrol edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. Mitokondriyal fonksiyon, sirkadiyen ritimden büyük ölçüde etkilenir. Sirkadiyen ritim bozukluğu, mitokondriyal canlılığı etkiler ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ile birlikte sirkadiyen ritmi etkilemektedir (Sardon Puig vd., 2018).

Bayraktar vd. (2024), Akkaraman ırkı koyunlarında MOTS-c ve BMCP1 düzeyi üzerinde VKS, laktasyon, gebelik, yaş ve cinsiyetin etkisini incelemişlerdir. Çalışmaya dahil edilen tüm gruplarda yer alan Akkaraman ırkı koyunları VKS'ye ($VKS < 2$, $VKS = 3-3.5$, $VKS \geq 4$) göre 3 gruba ayırmışlardır. Çalışmada 1.grup gebeliğin ilk dönemindeki koyunlar (ilk gebeliğin 100. gününde) ($n=30$), 2.grup erken laktasyon döneminde bulunan koyunlar ($n = 30$), 3.grup farklı yaşta bulunan < 2 (genç) ($n=30$), 2-8 (ergin) ($n=30$), 8> (yaşlı) ($n=30$), erkek ve dişi koyunlar ($n=180$) olmak üzere toplam 240 hayvandan oluşmuştur. Koyunlardan sabah yemlemesi öncesi vena jugularis'ten kan örnekleri alınarak kan serumu örneklerinde ELİSA yöntemiyle MOTS-c ve BMCP1 düzeyleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda laktasyon ve gebelik döneminde ortalama serum MOTS-c ve BMCP1 düzeyleri en düşük $VKS < 2$ grubunda, en yüksek ise $VKS \geq 4$ gruplarında bulunan koyunlarda saptanmıştır. Aynı şekilde farklı yaş ve cinsiyet gruplarında ise en düşük ortalama serum MOTS-c ve BMCP1 hormon düzeyleri $VKS < 2$ grubunda bulunan genç dişi ve erkek koyunlarda tespit edilirken, en yüksek düzey ise $VKS \geq 4$ grubunda yaşlı koyun ve koçlarda ($yaş=8>$) belirlenmiştir. VKS değişimine

bağlı olarak farklı yaş, cinsiyet, gebelik ve laktasyon dönemlerinin serum MOTS-c ve BMCP1 düzeyi üzerine etkisinin olduğunu ($p<0,05$) bildirmişlerdir.

1.13. KARDİYAK TROPONİN I (CTNI) FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Kardiyak troponin I (cTnI), kas kasılmasında adenosin trifosfatın enzimatik hidrolizini engelleyen bir protein olmakla birlikte (Bleier vd.,1998), kalp hasarı saptanmasında yüksek özgüllüğe sahip bir biyobelirteçtir (Şekil 12) (Adams vd., 1993). cTnI, kardiyovasküler hastalıkların önemli bir protein belirteci olarak kabul edilmektedir. Serum cTnI düzeyindeki artış, kardiyomiyosit hasarını yansıtabilir ve kalp yetmezliğinin erken tanısında ve prognostik öneme sahiptir (Peacock vd., 2008). Bakteriyel endokardit, bakterilerin hematogen yayılımı ve endokardiyal tutulum ile başlatılabilmektedir. Bakteriemi ile ilişkili herhangi bir bakteri, uygun koşullar sağlandığında vejetatif endokardite neden olma potansiyeline sahiptir (Markey vd., 2013).



Şekil 12: Kardiyak Troponin I (cTnI) 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024i)

Kuzularda kardiyak problemlere neden olabilen bazı bakteriyel enfeksiyonlar: *Listeria*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* ve *Streptococcus* (Osebold & Cordy, 1963; Wilson & Griffith, 2000), *Mycoplasma ovipneumoniae*, sepsis ve endokardit gibi ciddi kardiyak sorunlara neden olan bakteriyel etken *Pasteurella multocida* (Hussain vd., 2017), Pnömoni ve sekonder kardiyak problemlere yol açan *Mannheimia haemolytica*: açabilmektedir (LaHue & Parish, 2015). Kuzularda kardiyak problemlere neden olabilen bazı viral hastalıklar ise, respiratory syncytial virüs (Garde vd., 2005), adenovirus (Liu vd., 2023), parainfluenza virüsüdür (Hore vd.,1968; Davies vd., 1977). Kuzularda kardiyak problemlere neden olabilen bazı parazitler enfeksiyonlar ise, kistik ekinokokkoz ve kalp kası hasarına neden olan *Cysticercus ovis*

(DeWolf vd., 2012) ve kistik ekinokokkoz ve kardiyak komplikasyonlara yol açabilen *Echinococcus granulosus* neden olabilmektedir (Schantz, 1977). Bu enfeksiyöz etkenler, kuzularda solunum sistemi, sepsisemi, miyokardit, perikarditis ve diğer ciddi kardiyak sorunlara neden olabilmektedir. Dolayısıyla, kuzularda görülen kalp rahatsızlıklarının teşhisi ve tedavisinde bu enfeksiyöz etkenlerin dikkate alınması önemlidir.

cTnI'nin sirkadiyen ritim fizyolojisi ilişkisi ise, kardiyomiyositelerde sirkadiyen saat bulunmaktadır ve kalp atım hızı, kan basıncı gibi kardiyak parametreler üzerinde sirkadiyen değişimden etkilenmektedir (McNamara vd., 2001; Nonaka vd., 2001; Guo & Stein, 2003; Portaluppi vd., 2012). Kardiyovasküler hastalığın patogeneğinde sirkadiyen saatlerin bozulmasının rolü bulunduğu bildirilmektedir. Kardiyak troponin düzeyi ile hs-cTnT düzeyi aynı zamanda sirkadiyen ritmi de ifade edebileceği bildirilmektedir (Wu vd., 2009; Aakre vd., 2014; Klinkenberg vd., 2014).

Başbugan vd. (2010), sağlıklı ruminantlarda kardiyak troponin (cTn I ve cTn T) seviyelerini inceledikleri çalışmalarında, 30 sığır (15 erkek, 15 dişi), 30 Akkaraman koyun (15 erkek, 15 dişi) ve 30 keçi (15 erkek, 15 dişi) olmak üzere her üç türdeki hayvanlar 0-6 aylık, 6-12 aylık ve 12 ay ve üzeri olmak üzere yaş gruplarına göre vena jugularisten kan aldıklarını belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda, cTnI düzeyi sığırlarda 0-0.23 ng/ml (ortalama 0.18 ng/ml), koyunlarda 0-0.21 ng/ml (ortalama 0.15 ng/ml) ve keçilerde de 0-0.24 ng/ml (ortalama 0.20 ng/ml) değerleri arasında olduğu, cinsiyet ve yaş açısından da sığır, koyun ve keçilerde belirtilen sınırlarda olduğu tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Tunca vd. (2009), kuzularda şekillenen beyaz kas hastalığı rahatsızlığında cTnI ve indüklenbilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu belirlemeye yönelik araştırmalarında, sağlıklı kontrol gruplarına göre cTnI (10.49 ± 0.25 ng/ml) düzeyinin daha yüksek olduğunu ve kreatin kinaz (CK) (261.16 ± 38.61 U/l), kreatin kinaz MB (CK-MB) (214.16 ± 12.71 U/l), aspartat aminotransferaz (AST) (125.83 ± 1.05) ve laktat dehidrogenaz (LDH) (228.77 ± 14.86 U/l) olarak tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonucunda beyaz kas hastalığında cTnI antikorunun miyokard hasarının tanısında duyarlı bir test olarak başarıyla kullanılabileceği gösterilmiştir. Beyaz kas hastalığı bulunan kuzularda kardiyak miyositlerde iNOS ekspresyonu, büyük olasılıkla iNOS indüksiyonuna giden sinyal yollarını etkileyerek artırabileceğini bildirmişlerdir.

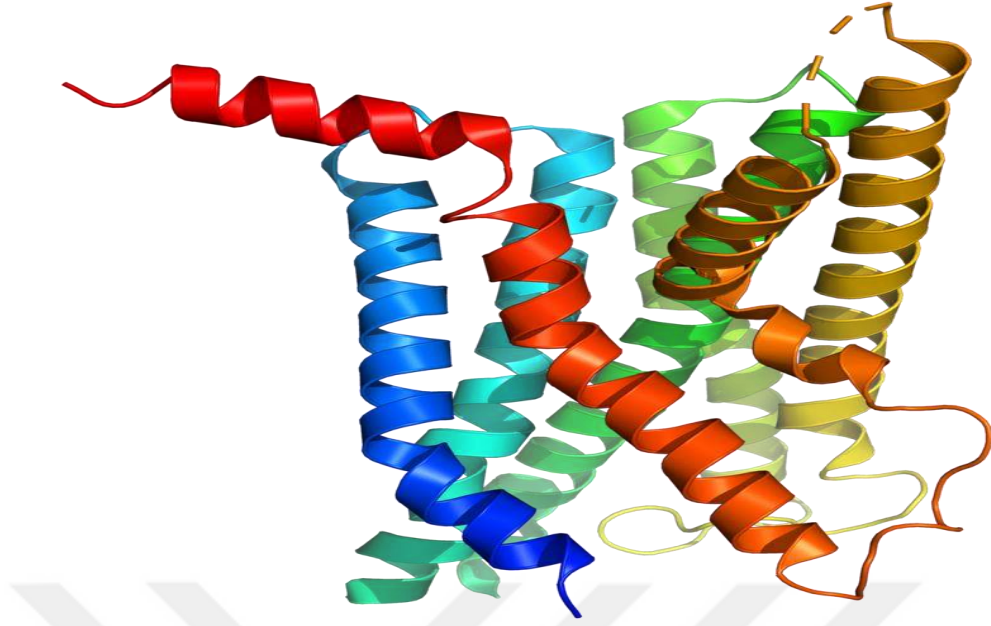
Güneş vd. (2010), beyaz kas hastalığında kuzularda miyokardiyal dejenerasyonun belirlenmesinde cTnI ve kardiyak troponin T (cTnT) düzeylerinin değerlendirilmesinde kullanımının değerlendirdikleri araştırma neticesinde küçükbaş hayvanlarda miyokardiyal hasar için hassas ve spesifik bir belirteç gibi görünmektedir ve veteriner hekimler tarafından kalp hasarını doğrulamak için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Tumer vd. (2022), uterus torsiyonu olan koyunlarda serum cTnI konsantrasyonlarını ve uterus torsiyonu vakalarında serum cTnI konsantrasyonlarının hematolojik ve biyokimyasal değişkenler, uterus torsiyonunun derecesi ve tahmini doğum süresi ile ilişkisini inceledikleri araştırmalarında, uterus torsiyonu (UT, n=14), sezaryen veya manuel yardım gerektiren diğer distosi türleri (OTD, n=11) ve yardımsız vajinal doğum (UVD, n=7) gruplarından oluşan toplam 32 koyun dahil etmişlerdir. Ortalama serum cTnI konsantrasyonu UT grubunda OTD ve UVD gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir (UT:0,507 ng/mL (0.040–18.521); OTD: 0.044 ng/mL (0.016–0.135); UVD:0.036 ng/mL) (0.023–0.059); $p<0.001$). Uterus torsiyonu olgularında serum cTnI düzeyleri serum CK ($r = 0.556$, $p=0.042$), AST ($r = 0.613$, $p = 0.022$) ve LDH aktiviteleri ($r=0.609$, $p=0.024$) ve uterus torsiyon derecesi ($r=0.563$, $p=0.036$) ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışma neticesinde uterus torsiyonunun serum cTnI düzeyinde bir artışa yol açtığını gösterdiğini, cTnI'nin miyokarddan dolaşıma salınmasına katkıda bulunan olası faktörleri ve uterus torsiyonunda miyokardiyal hasarın geri dönüşümlü veya geri döndürülemez olup olmadığını araştırmak için daha ileri araştırmalar yapılmasına yönelik kanaatini bildirmişlerdir.

1.14. GLUKAGON-BENZERİ PEPTİD-1 (GLP-1) HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1), bağırsak L hücreleri tarafından üretilen 30 amino asitli bağırsak fonksiyonunda rolü bulunan bir inkretindir (Holst, 2007). Gıda alımına yanıt olarak pankreas β hücrelerinden insülin salınımını uyarır ve glukoz homeostazisinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 13) (Drucker & Nauck, 2006).

Proglukagondan türetilen glukagon, glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve glukagon benzeri peptid-2 (GLP-2), oldukça homologdur ve birçok metabolik yolun ve fizyolojik sistemin düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar. Langerhans adacıklarındaki pankreas alfa (α) hücreleri tarafından salgılanan glukagon, glikoz metabolizmasının iyi bilinen bir düzenleyicisidir (Kieffer & Francis Habener, 1999).



Şekil 13: Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024j)

GLP-1, glukoz homeostazisinde önemli bir rol oynar ve glukozun indüklediği insülin sekresyonunu artırarak glukagon sekresyonunu inhibe ederek tokluk faktörü olarak da görev yapmaktadır. GLP-1, iştah üzerinde etkili ve kan glukoz düzeyinin düzenleyicisidir (Drucker, 1998; Holst, 1999). GLP-1 sirkadiyen ritim fizyolojisindeki rolü ise bağırsak ile birlikte çekirdek saat geni BMAL1 tarafından düzenlenen fizyolojik bir sirkadiyen salınım ritimine sahiptir (Biancolin vd., 2020).

Martin vd. (1996) koyunlarda intravenöz somatostatin-28 infüzyonunun glukozla uyarılan ve GLP-1 ile güçlendirilmiş insülin sekresyonu üzerindeki etkilerini inceledikleri araştırmalarında S28 infüzyonu aynı zamanda beslenen koyunlarda glikoza bağımlı insülinotrofik polipeptit (GIP) ve GLP-1'in dolaşımdaki düzeylerini de önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

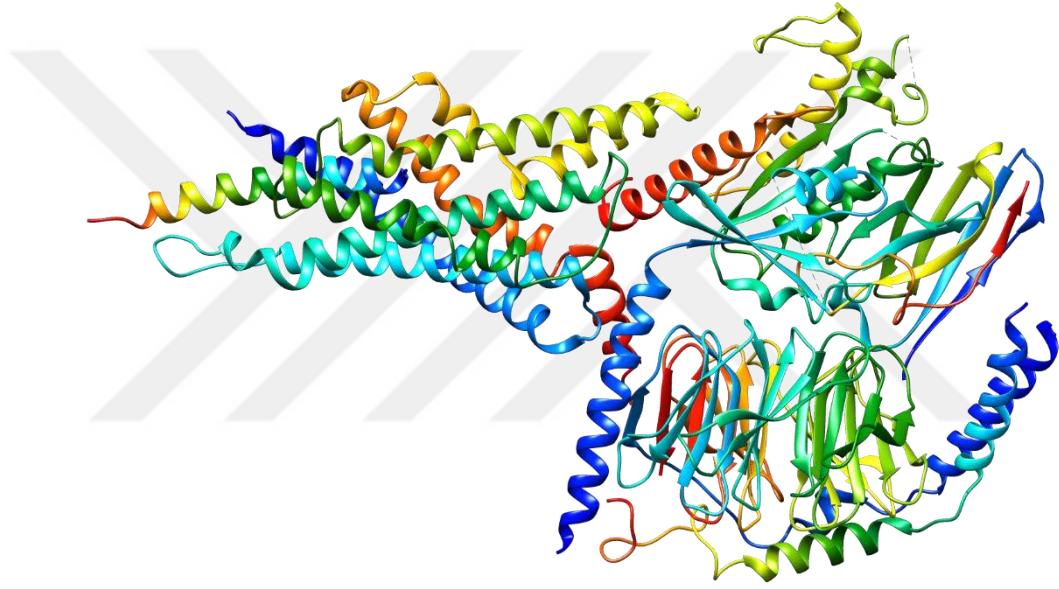
Zheng vd. (2024), Hu koyunlarının besisinde farklı asit-baz özelliklerine sahip protein olmayan azotun yem alımı, işkembe fermantasyonu, besin sindirimi ve antioksidan kapasite üzerine etkilerini inceledikleri araştırmalarında, üre grubunda serum GLP-1, peptid YY, toplam protein ve globulin düzeyleri amonyum klorür grubuna göre daha düşük düzeyde belirlediklerini ($p < 0.05$) ifade etmişlerdir.

Arbabi vd. (2021), ovariektomize koyunlarda östrojen ve progesteron hormonu kısıtlamasıyla GLP-1 ve GnRH'nun salgılanması üzerindeki rolünü inceledikleri araştırmalarında, östrusun luteal fazındaki üç koyunun hipotalamisindeki kisspeptin ve NPY

hücrelerinde GLP1R ekspresyonu üzerinde etkili olduğunu, reseptör GNRH1 veya NPY eksprese eden nöronlarda eksprese edilmediğini tespit etmişlerdir. GLP-1'in, GnRH salgılanmasını uyarılmasında GnRH nöronlarının salgılanmasında düzenleyici rolü olabileceği sonucuna vardıklarını ifade etmişlerdir.

1.15. GLUKAGON-BENZERİ PEPTİD-2 (GLP-2) HORMON FİZYOLOJİSİ VE SİRKADİYEN RİTİM İLİŞKİSİ

Glukagon benzeri peptid 2 (GLP-2), bağırsağın mukozal enteroendokrin L hücrelerinden salgılanan, bağırsak ve beyinde prohormon konvertaz 1/3 aracılı proglukagonun posttranslasyonel proteolitik bölünmesi sonucu olarak üretilen 33 amino asitli bir peptid olup bağırsak fonksiyonunda rolü bulunan bir hormondur (Şekil 14) (Lovshin & Drucker, 2000).



Şekil 14: Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-2) Hormonu 3 Boyutlu Molekül Yapısının Görünümü (PDB, 2024k)

GLP-2'nin etkileri, G proteinine bağlı reseptör süper ailesinin yeni bir üyesi glukagon benzeri peptid-2 reseptörü (GLP-2R) tarafından gerçekleştirilmektedir. GLP-2, etkisini GLP-2R'ye bağlanarak göstermesi 7 dakikalık bir yarılanma ömrüne sahiptir (Hartmann vd., 2000). GLP-2, siklik AMP üretimi, hücre içi kalsiyum artışı, glikojen sentaz kinaz-3 inhibisyonunda biyolojik etkilerini göstermek için farklı sinyal yolları kullanmaktadır (Lovshin & Drucker, 2000). GLP-2, merkezi sinir sistemindeki reseptörüne bağlanarak, gıda alımı ve melanokortin reseptörü-4 (MC4R) sinyal yoluyla mide boşalmasını engelleyici etki göstermektedir (Sun vd., 2021). GLP-2, bağırsak hasarına yanıt olarak enteroendokrin hücreler tarafından salgılanarak bağırsak büyümesinin fizyolojik düzenleyicisi etmesi nedeniyle bağırsak disfonksiyonu ile karakterize gastrointestinal hastalıkların tedavisinde terapötik etkiye sahip olduğu

bildirilmektedir (Drucker, 2002). GLP-2 hormonun sirkadiyen ritimdeki rolü ise, bağırsak L hücrelerinden eş zamanlı salgılanarak, bağırsak mukozal büyüme, inflamatuvar hasardan sonra bağırsak onarımını destekler, besin emiliminde kapasitesinin artırılmasında bağırsakta bulunan sirkadiyen saat ve ritmik salınımdan etkilenmektedir (Martchenko & Brubaker, 2021).

Taylor-Edwards vd. (2011), GLP-2'nin geviş getirmeyen hayvanlarda ince bağırsak kütlesini ve kan akışını arttırdığını, geviş getiren hayvanlardaki etkisi bilinmemesi üzerine süperior mezenterik arter çevresinde ultrasonik akış probu ve karotid arter ile mezenterik vende kateterler bulunan sekiz Holstein buzağı buzağılarda kontrol grubunda (tuzlu suda %0,5 BSA; n = 4) ve GLP-2 tedavisi uygulanan (BSA'da 50 µg/kg vücut ağırlığı sığır GLP-2; n = 4) 10 gün boyunca her 12 saatte bir deri altından enjekte edilmiştir. Çalışmanın 0. (akut) ve 10 dakika (kronik) dönemlerinde başlangıç (tuzlu su infüzyonu), tedavi (BSA infüzyonu veya saat başına 1000 pmol GLP-2/kg vücut ağırlığı) ve iyileşme (tuzlu su infüzyonu). 11. günde buzağılar, 5-bromo-2'-deoksiüridin (BrdU) enjeksiyonundan 2 saat sonra buzağılar öldürülerek gastrointestinal dokularını tarmışlar ve villus yüksekliğini, kript derinliğini ve BrdU boyamasını belirlemek için epitel örneklerini almışlardır. GLP-2 infüzyonu, üstün mezenterik arter kan akışını 0. günde başlangıç değerinin %175'ine, ancak kronik tedaviden sonra yalnızca %137'sine yükselttiğini belirlemişlerdir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GLP-2, jejunum ve ileumdaki epitelyal kütleyi artırarak ince bağırsak kütlesini %24 oranında artırdığını tespit etmişlerdir. GLP-2'nin ince bağırsak segmentlerinde villus yüksekliğini, kript derinliğini ve BrdU etiketlemesini arttırdığını, GLP-2'nin geviş getiren hayvanlarda ince bağırsak kan akışında ve büyümesinde geviş getirmeyenlerde benzer artışlara neden olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca GLP-2, geviş getiren hayvanlarda ince bağırsak kan akışını artırdığını ancak bu yanıt, 10 günlük GLP-2 uygulamasından sonra zayıfladığını, sığırlarda GLP-2, bağırsak kan akışının ve epitelyal büyümenin düzenlenmesinde önemli bir hormon olabileceği sonucunu bildirmişlerdir.

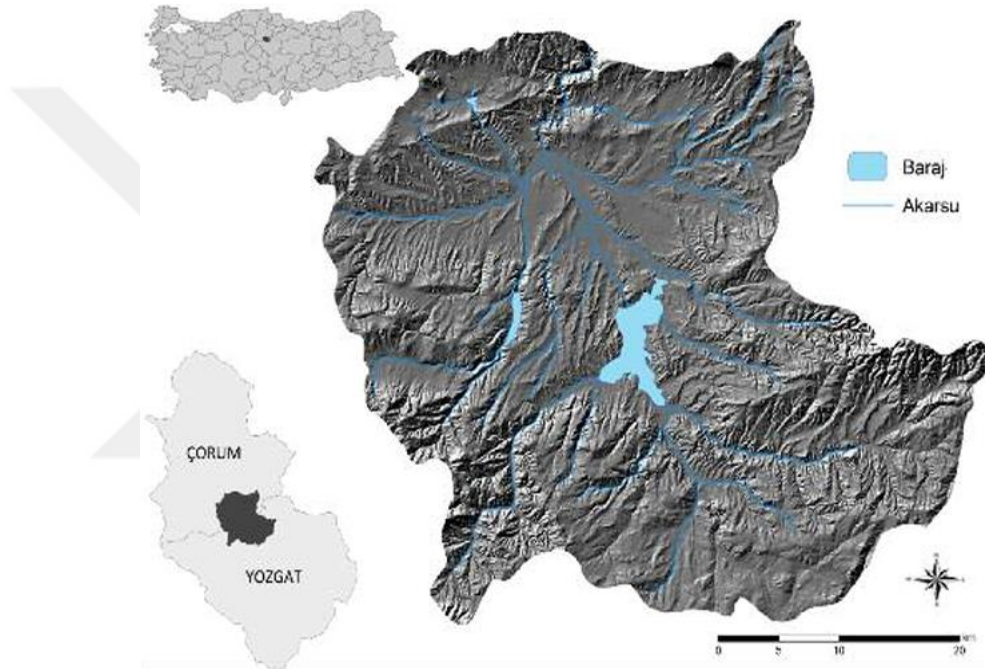
İKİNCİ BÖLÜM

2. YÖNTEM

2.1. MATERYAL

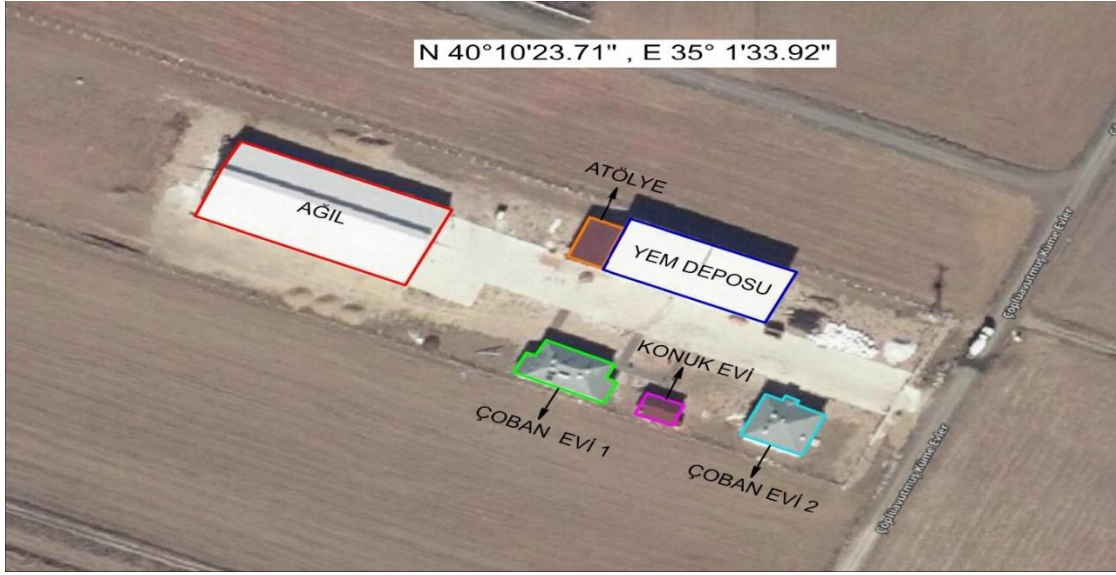
2.1.1. Araştırma Alanı

Bu tez çalışması, Çorum İli Alaca ilçe sınırları içerisinde faaliyet gösteren 500 başlık bir koyunculuk işletmesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 15) (Şekil 16) (40°10'36.3"N; 35°01'46.9"E).



Şekil 15: Araştırma Alanı Lokasyon Haritası

Çalışma 2023 yılı Mart-Mayıs ayları arasında yürütülmüş, 10 gün süreyle adaptasyon ve 60 gün süre ile besi denemesi olmak üzere toplamda 70 gün sürmüştür.



Şekil 16: Araştırma Alanı Besi Denemesinin Gerçekleştiği İşletmenin Görüntüsü

Küçükbaş hayvancılık işletmesinde 200x200x120 cm ebatındaki tesadüf parselleri deneme desenine göre şansa bağlı olarak çalışma gruplarını temsil eden ve her birinde 12 adet kuzu olacak şekilde 4 adet ayrı padok içerisinde yürütülmüştür (Şekil 17). İşletmenin havalandırılmasında, hâkim rüzgârın yönüne ve şiddetine göre hem baca açıklığından hem de açılabilir pencerelerden faydalanılmaktadır. Her bölmeye yem için ayrı ayrı 50x15x15 cm ebatında yemlik yerleştirilmiştir. Suluk olarak ise yine her bölmeye 35 cm derinlikte ve 35 cm çapındaki plastik kovalar kullanılmıştır. İşletmeye ait kapalı alan içerisinde her grup için, hayvan başına minimum 2m² alan düşecek şekilde bölmeler oluşturularak her bölmeye ayrı ayrı yemlik ve suluklar yerleştirilmiştir.



Şekil 17: Besi Denemesinin Gerçekleştiği Çalışma Gruplarına Ait Görüntü

2.1.2. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini, Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü (TİGEM) bünyesinde faaliyet gösteren Polatlı Tarım İşletmesinden temin edilen, entansif şartlarda yetiştirilen ve kayıtları düzenli olarak takip edilen, sütten kesilmiş, klinik olarak sağlıklı görünümüne sahip yaklaşık 2.5 aylık yaştaki 48 adet erkek Anadolu Merinosu ırkı kuzu oluşturmaktadır.

Çalışma, 2023 yılının Mart-Mayıs ayları arasında adaptasyon (10 gün) ve besi deneme (60 gün) süresi olmak üzere 70 gün sürmüştür. Adaptasyon süresi başlangıcında kuzulara iç parazit (Rabenzole) uygulaması yapılmıştır. Denemeye başlamadan önce ve 15 gün sonra olmak üzere iki defa karma aşılı (Tetrandoll – Coglovax) yapılmıştır. Çalışmada hayvanlar randomize olarak seçilen grupların canlı ağırlık ortalaması birbirine yakın olacak şekilde her biri 12 baş erkek kuzudan oluşan 1 kontrol (G0), 3 deneme (G 200, G 400 ve G600) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur (Şekil 18). Kuzu besi rasyonlarına sırasıyla 0 (kontrol), 200, 400 ve 600 ppm düzeyinde graviola yağ ekstreşi ilave edilmiştir. Yemleme sonrasında artan yemler ayrı ayrı tartılarak 15 günlük yem tüketimi hesaplanmıştır. Besi süresince hayvanlara sınırsız (ad-libitum) yemleme uygulanmıştır. Hayvanların önlerinde her zaman temiz su bulundurulmuş ve tüm gruplar aynı şartlar altında çalışmanın son gününe kadar bakım ve beslemeye tabi tutulmuştur. Kuzuların mineral ve tuz ihtiyacının karşılanması amacıyla bütün bölmeler içerisinde yemlik yanında yalama taşı konulmuştur. Sirkadiyen ritmini değerlendirme amacıyla, araştırmanın 0., 15., 30., 45. ve 60. günleri içerisinde 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 zaman dilimlerinde aynı kuzuların boyun toplar damarından (vena jugularisten) kan serum örnekleri alınmıştır. Kan alınan serum örneklerinde serum apelin, irisin, visfatin, melatonin, BDNF, BMAL1, MOTS-c, BMCP1, cTnI, GLP-1 ve GLP-2 hormonu düzeyleri ELISA yöntemiyle incelenmiştir.

Fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değerlendirilmesi amacıyla vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayıları araştırmanın aynı gün ve saatlerinde ölçülmüştür. Nabız ve solunum sayısı stetoskop (Kruuse Stetoskop/DENMARK) yardımı ile sol ön bacağın vücutla birleşme noktasından alınmıştır. Rektal sıcaklık ise 0.1 duyarlılıklaki dijital termometre (Kruuse Veteriner Termometre/DENMARK) kullanılarak belirlenmiştir. Kuzuların, $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, % 50-60 oranında nem, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyod döngüsü içerisinde barındırılarak ad-libitum olarak beslenmeleri sağlanmıştır.

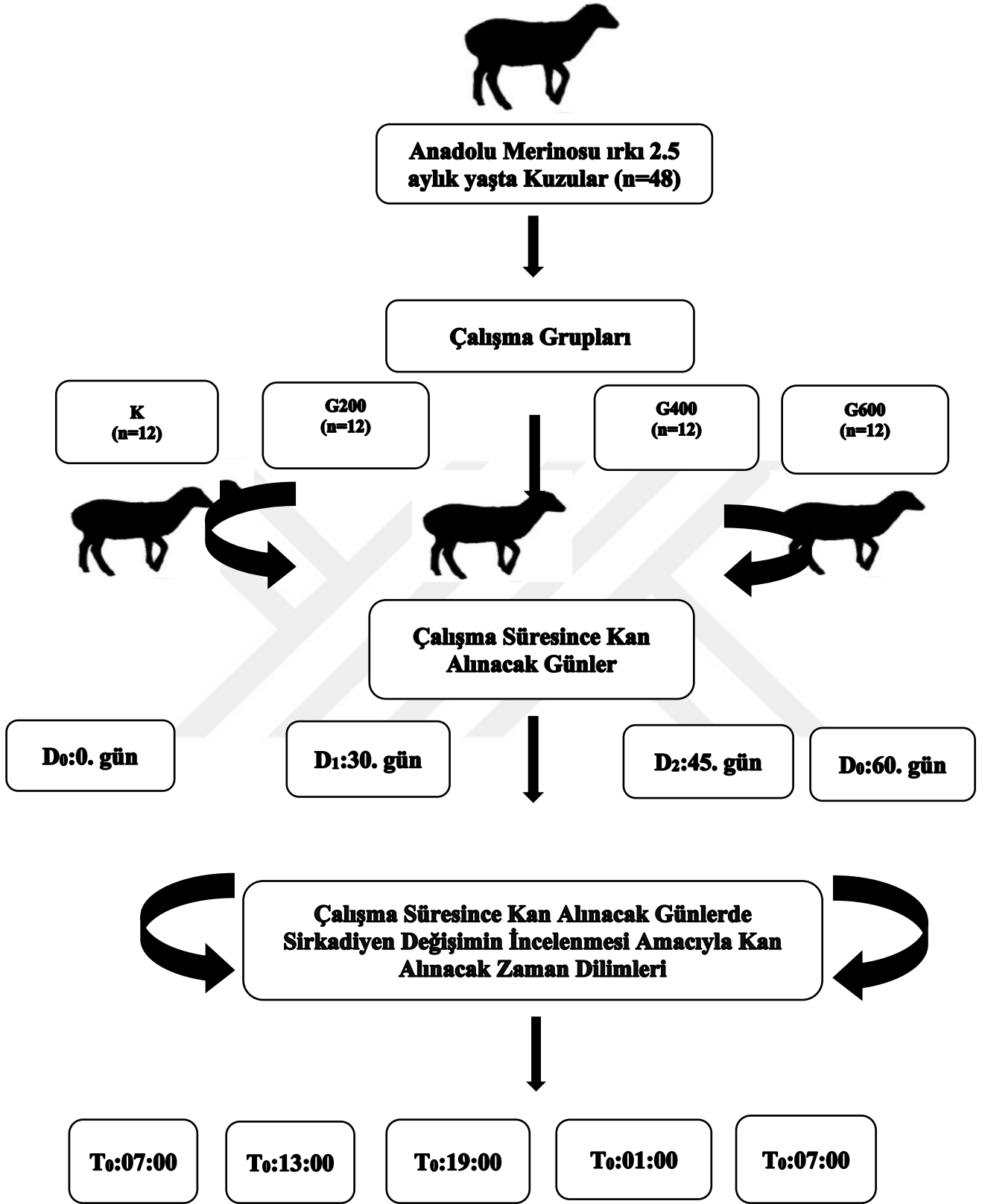
Deneme süresince çalışmanın gerçekleştiği günlere ait sıcaklık, gün doğumu, gün batımı, ışıqlanma süresi, ortalama rüzgar hızı, ortalama bağıl nem bilgilerini gösteren iklim verileri ise Çevre, Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü web

sitesinde yayımlanan hava tahmini raporlarında sunulan verilerden elde edilmiştir (MGM, 2024) (Tablo 2).

Tablo 2: Çalışma Günlerine Ait İklim Verileri

Çalışma Günü	Çalışma Tarihi	Gün Doğumu	Gün Batımı	Işıklanma Süresi	Ort. Rüzgar Hızı (100 m) ve Hakim Yönü	Ortalama Bağıl Nem	Sıcaklık
0.Gün	30.03.2024	06:29	19:02	12:33	25,9 km/s - 220,6 °	67,30%	14°C - 2°C
15.Gün	14.04.2024	06:06	19:18	13:12	8,8 km/s - 209,6 °	68,80%	17°C - 4°C
30.Gün	29.04.2024	05:44	19:33	13:49	13,1 km/s - 339,2 °	78,10%	19°C - 6°C
45.Gün	14.05.2024	05:27	19:48	14:21	9,8 km/s - 357,2 °	83,50%	21°C - 7°C
60.Gün	29.05.2024	05:16	20:02	14:46	17,5 km/s - 31,5 °	54,90%	23°C - 8°C

Mevcut çalışma süreci hayvan refahı ve hakları korunarak etik ilke ve kurallar doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın etik onayı; Etlik Veteriner Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.10.2022 tarihli 2022/27 kararı ile alınmıştır.



Şekil 18: Çalışma Gruplarının Oluşturulmasına Yönelik Bir Görünüm

2.1.3. Yem Materyali

Araştırmada Samsun’da faaliyet gösteren bir firma tarafından hazırlatılarak temin edilen yem materyali kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan yem ham maddelerinin kuru madde, ham

kül, ham protein, ham yağ analizleri AOAC'de bildirilen analiz yöntemleriyle, ham sellüloz ise Crampton ve Maynard göre yapılmıştır (Crampton & Maynard, 1938). Nötral deterjan fiber (NDF) ve asit deterjan fiber (ADF) analizleri ise sırasıyla Van Soest ve ark. ile Goering ve Van Soest'e göre yapılmıştır (Van Soest & McQueen, 1973; Goering & Van Soest, 1970). Çalışma süresi boyunca kullanılan kuzu rasyonlarına ait besin madde kompozisyonları ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Besi süresince kuzuların canlı ağırlık artışları 15 günde bir yapılan kontrol tartımlarıyla ve yem tüketimleri günlük tartımlarla saptanmıştır. Besi başlangıç ve diğer kontrol tartımları aç karnına yapılmıştır. Kuzulara verilen ve artan yemler tartılarak tüm besi süresince yem tüketimleri belirlenmiştir (Tablo 3, Tablo 6).

Tablo 3: Rasyon Besin Madde İçeriği ve Analizleri (g/kg)

İçerik	Miktar
Ham Protein (%)	12,31
Ham Selüloz (%)	5,63
Ham Yağ (%)	3,60
Ham Kül (%)	7,02
Nişasta (%)	39,34
Nem (%)	8,90
Enerji(kcal)	2696

*Taneli Toklu Besi Yemi bileşiminde; Arpa, Mısır, Pamuk Tohumu Küspesi, Melas, Mermer Tozu ve Vitamin-Mineral Premiksi bulunmaktadır.

** Kullanılan rasyonun her 1 kilogramı için vitamin ve mineral değerleri şu şekildedir: Vitamin A 2.500,00 IU, vitamin D3 225,00 IU, demir 60,00 mg, iyot 0,80 mg, kobalt 0,30mg, bakır 3,00 mg, mangan 30,00 mg, çinko 50,00 mg, selenyum 0,30 mg.

2.1.4. Graviola Yağ Ekstresi İçerik Analizi

Graviola meyve yağ ekstresi içerisindeki bileşiklerin konsantrasyonların belirlenmesi, özel bir araştırma laboratuvarında ASU 64 LFGB L 07.00.40, HPLC-UV/FLD metodu ile yapılmıştır (Qi vd., 2016). Graviola yağ ekstresine ait fitokimyasal analizlerine ait ortalama değerleri Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: Graviola Yağ Ekstresi İçerik Analizlerine Ait Ortalama Değerleri (%)

Fitokimyasal Bileşenler	% Bileşim
Asetojenler	25.69
Alkaloidler	15.23
Flavonoidler	13.08
Terpenoidler	0.64
Fenoller	1.37
Tanninler	0.92
İndirgeyici Şekerler	0.26
Diğer Bileşenler	44,18

2.2. ARAŞTIRMA YÖNTEMİ

2.2.1. Canlı Ağırlık Artışı Hesaplanması

Denemede canlı ağırlık artışları, besi döneminin başlangıcında ve sonra 15 günlük periyotlarla bireysel olarak sabah yemlemesinden önce tartılarak belirlenmiştir. Günlük ortalama canlı ağırlık artışı (GOCAA), iki tartım arasındaki fark gün sayısına bölünerek hesaplandı. Tartımlar 50 g'a hassas özel kafesli bir kantarla yapılmıştır.

$$\text{GOCAA, g} = \frac{\text{Periyod Sonu Canlı Ağırlık (kg)} - \text{Periyod Başı Canlı Ağırlık (kg)}}{\text{Gün Sayısı}}$$

2.2.2. Yem Tüketiminin Belirlenmesi

Her gün sabah yemlemesinden önce yemliklerde kalan yemler tartılarak günlük tüketilen miktarları hesaplanmıştır. Her grupta on iki adet hayvan birlikte yemlemeye tabi tutulduğu için günlük tüketilen yem miktarları on iki'ye bölünerek bireysel yem tüketimi tespit edilmiştir.

2.2.3. Yem Değerlendirme Oranları

Çalışmada hayvanların günlük yem tüketimlerinin ve canlı ağırlık artışlarının 60 günlük ortalamaları dikkate alınarak 1 kg canlı ağırlık artışı için gerekli olan yem miktarı hesaplanarak yem değerlendirme oranı tespit edilmiştir.

$$\text{Yem Değerlendirme Oranı (YDO), g} = \frac{\text{Günlük Tüketilen Yem Miktarı, g}}{\text{Günlük Canlı Ağırlık Artışı, g}}$$

2.2.4. Nabız, Solunum Sayısı ve Vücut Sıcaklığı Ölçümü

Fizyolojik parametrelerin sirkadiyen değerlendirilmesi amacıyla vücut sıcaklığı, nabız ve solunum sayıları araştırmanın 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde 07:00, 13:00, 19:00, 01:00, 07:00 saatlerinde ölçülmüştür. Nabız ve solunum sayısı stetoskop (Kruuse Stetoskop/DENMARK) yardımı ile sol ön bacağın vücutla birleşme noktasından alınmıştır. Rektal sıcaklık ise dijital termometre (Kruuse Veteriner Termometre/DENMARK) kullanılarak 0.1 duyarlılıkla belirlenmiştir.

2.3. SERUM ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Serum örnekleri, çalışmaya dahil edilen kuzuların boyun toplardamarından (vena jugularis) antikoagülansız tüplere (Becton Dickinson Co. USA) 5 ml kan örneği alınmıştır. Tüplere aktarılmış olan kan örnekleri soğutmalı santrifüjde (Hettich 38R, Hettich Zentrifugen,

Tuttligen GERMANY) +4 °C’de 3000 devir/dk da 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum örnekleri steril ependorf tüplere aktarılmıştır. Serum örneklerinin aktarıldığı ependorf tüpleri -80°C’ye ayarlı derin dondurucularda muhafaza edilmiştir.

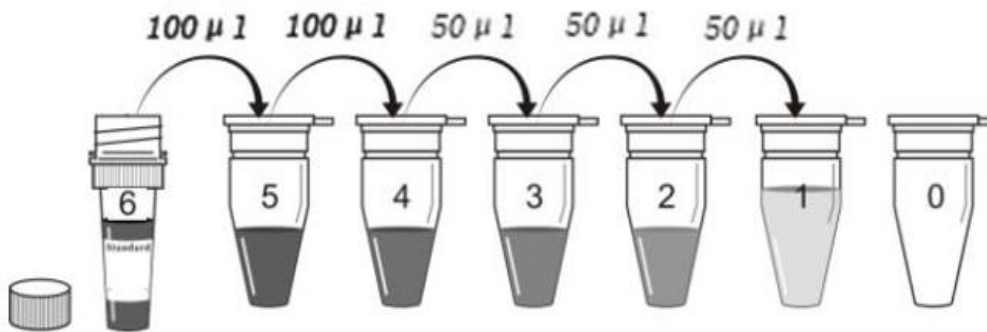
2.3.1. Apelin Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde apelin hormon düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 35 pg/ml-1600 pg/ml ve duyarlılık derecesi ise 16 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Apelin ELISA Kit, Product code: SG-70186, CHINA), determinasyonu 1 µg/L-20 µg/L, intra assay katsayısı % 8.0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışılmıştır.

Serum apelin hormon düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1 x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (1800 pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar % 50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (1800 pg/ml) olarak işlev görür. Numune Seyreltici sıfır standart (boş kuyu) (0ng/ml) olarak işlev görev görür (Şekil 19).



Şekil 19: Apelin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum apelin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37 ° C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15 dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.3.2. İrisin Hormon Düzeyinin Ölçümü

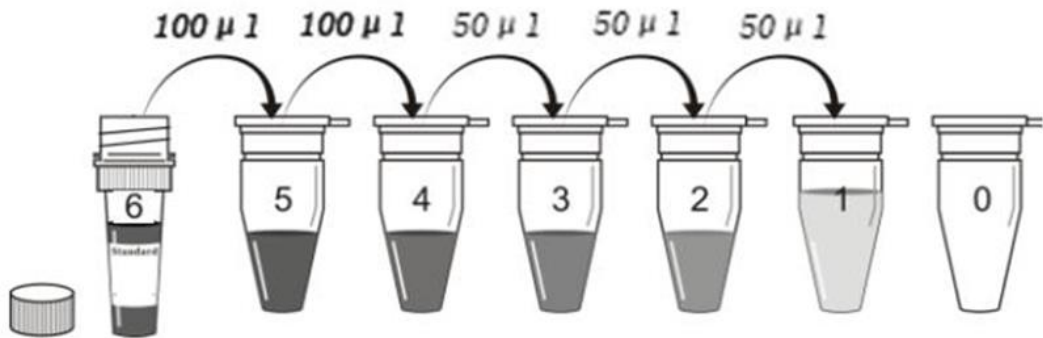
Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde irisin hormon düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.2 ng/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep İrisin ELISA Kit, Product code: SG-70787,

CHINA, determinasyonu 2 ng/ml-90 ng/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum irisin hormon düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (135ng/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 ul alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (135ng/ml) işlevi görevi görür. Numune Seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0ng/ml) olarak işlev görür (Şekil 20).



Şekil 20: İrisin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum irisin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50 µl standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15 dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

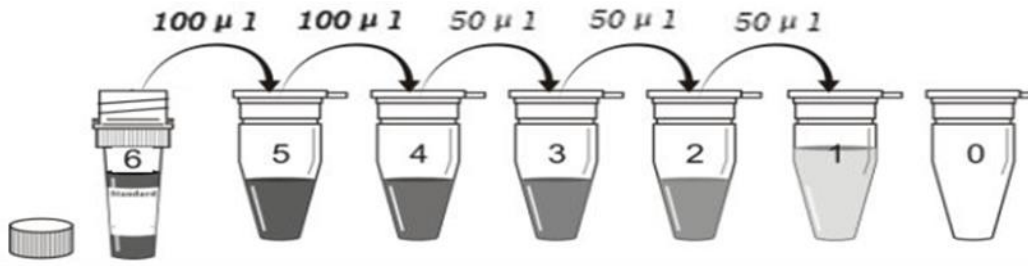
2.3.3. Visfatin Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde visfatin hormon düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.3 µg/L olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Visfatin ELISA Kit, Product code: SG-70723, CHINA, determinasyonu 1 µg/L-20 µg/L, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum visfatin hormon düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (27µg/L) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart görevi görür (27µg/L). Numune Seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0ng/ml) görevi görür (Şekil 21).



Şekil 21: Visfatin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum visfatin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.
2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.
4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.
5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.
6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlerle 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15 dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

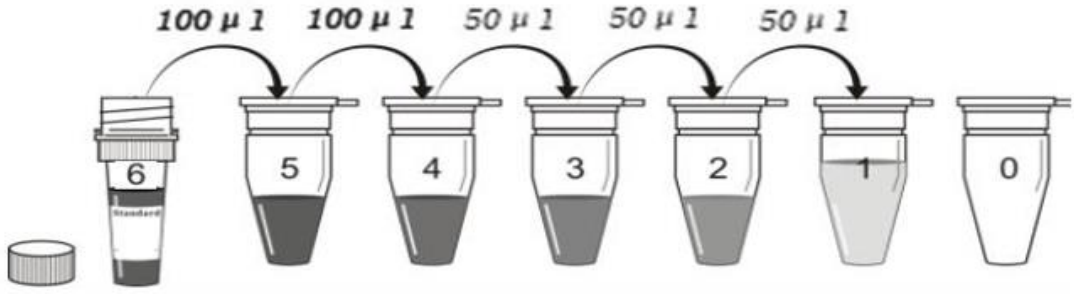
2.3.4. Melatonin Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde melatonin düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.4 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Melatonin ELISA Kit (Product code: SG-70132, CHINA), determinasyonu 2.2 pg/ml-140 pg/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum Melatonin düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (180 pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır (Şekil 22).



Şekil 22: Melatonin Hormon Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum melatonin düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

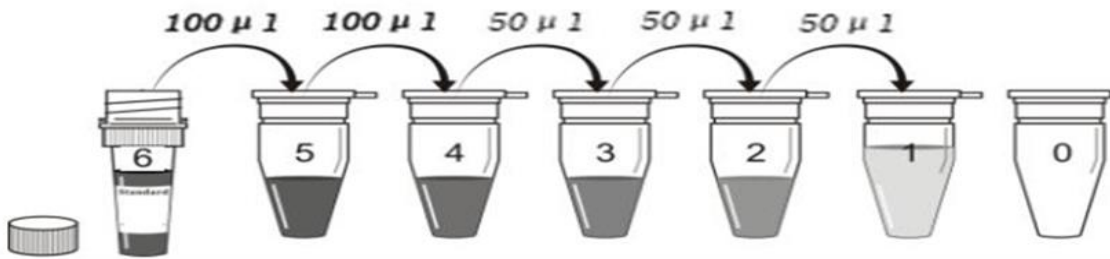
2.3.5. Beyin ve Kas ARNT-Benzeri Protein 1 (BMAL1) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde BMAL 1 düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.1ng/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Brain and Muscle Arnt-Like Protein-1 (BMAL1) ELISA Kit (Product code: SG-70724, CHINA), determinasyonu 0.312ng/ml-20ng/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum BMAL1 düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (22,5 ng/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart yüksek standart görevi görür (22,5 ng/ml). Numune seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0 ng/ml) görevi görür (Şekil 23).



Şekil 23: BMAL1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum BMAL1 düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

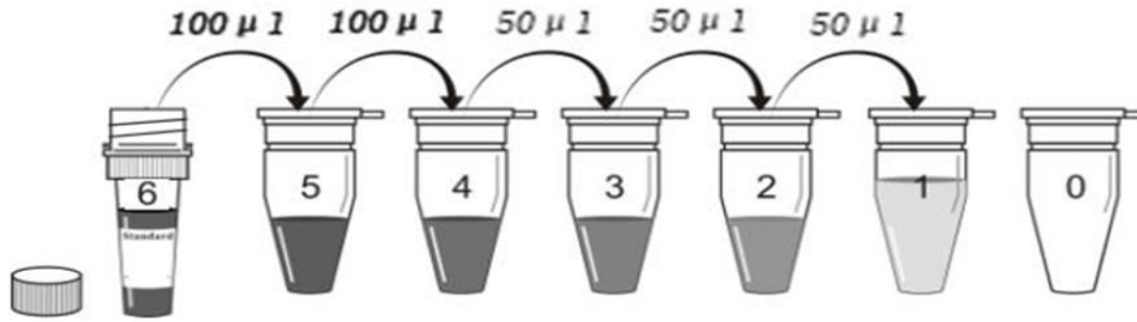
2.3.6. Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör (BDNF) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyunlara ait kan serum örneklerinde BDNF düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 6 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep BDNF ELISA Kit (Product code: SG-70159, CHINA), determinasyonu 33 pg/ml-2000 pg/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum BDNF düzeyinin ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması için kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (2700 pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (2700 pg/ml) olarak işlev görür. Numune Seyreltici, sıfır standart kör kuyu (0 pg/ml) olarak işlev görür (Şekil 24).



Şekil 24: BDNF Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum BDNF düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme

5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50 µl standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15 dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

2.3.7. Mitokondriyal-Türevli Peptid (MOTSc) Düzeyinin Ölçümü

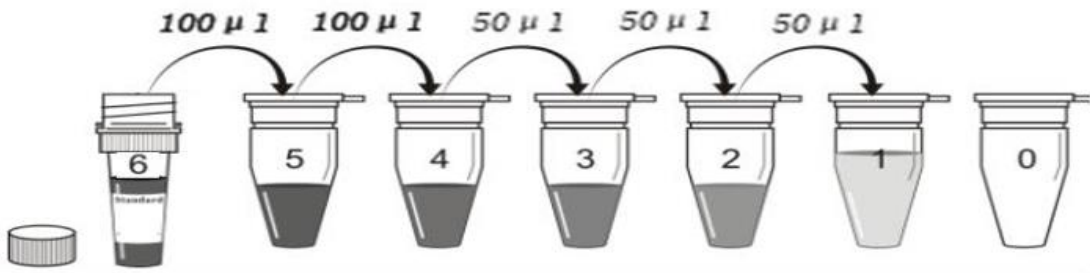
Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde MOTS-c düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 1ng/mL olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep MOTS-c ELISA Kit (Product code: SG-70802, CHINA), determinasyonu 6ng/mL-200ng/mL, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum MOTS-c düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda

kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonunun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (225ng/mL) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (225 ng/mL) görevi görür. Numune seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0 pg/ml) görevi görür (Şekil 25).



Şekil 25: MOTS-c Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum MOTS-c düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlerle 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

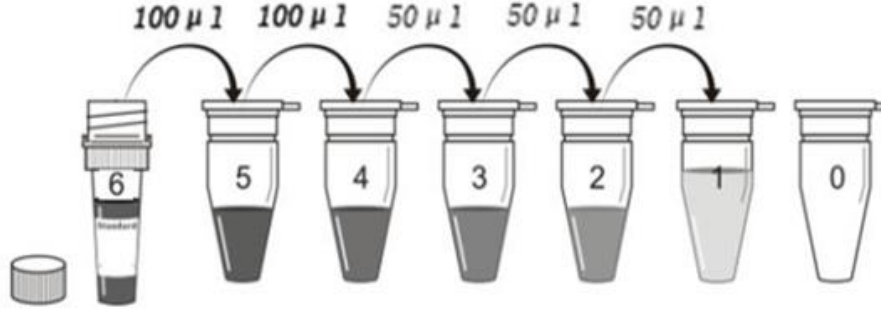
2.3.8. Beyin Mitokondriyal Taşıyıcı Protein-1 (BMCP-1) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde BMCP-1 düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 7.2 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Brain Mitochondrial Carrier Protein 1 (BMCP-1) ELISA Kit (Product code:SG-70775, CHINA), determinasyonu 37.5 pg/ml-1000 pg/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum BMCP-1 düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (1350 pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar %50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır. Seyreltilmemiş standart, yüksek standart (1350 pg/ml) görevi görür. Numune seyreltici sıfır standart (kör kuyu) (0 pg/ml) görevi görür (Şekil 26).



Şekil 26: BMCP-1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum BMCP-1 düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

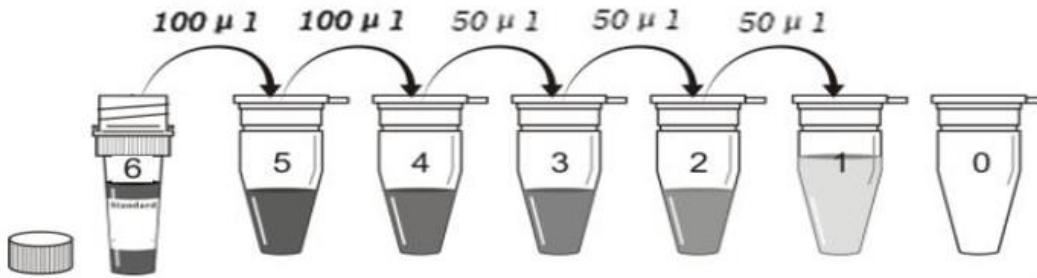
2.3.9. Kardiyak Troponin (cTnI) Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen kuzulara ait kan serum örneklerinde cTn-I düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitinin minimum saptanabilir konsantrasyonu 5 pg/ml olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep cTn-I ELISA Kit (Product code: SG-70118, CHINA), determinasyonu 30.2 pg/ml-1000 pg/ml, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10.0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum cTn-I düzeyi ölçümü ön hazırlık aşamaları,

1. Yıkama solüsyonu hazırlanması: Kitte sağlanan konsantre sıvıda kristal oluşumu gözlemlenir ise oda sıcaklığında hafif çalkalayarak homojenize edilir. Konsantre sıvıda kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılır, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır. 600 ml Yıkama Tamponu (1x) hazırlamak için 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini (30x) deiyonize veya damıtılmış suya seyreltilir.

2. Standartların dilüsyonun hazırlanması: Her tüpte 50 µl standart seyreltici pipetlenerek dilüent sıvı konur. Ardından beşinci tüpte 100 µl standart (1350 pg/ml) solüsyondan pipetlenerek, beşinci tüpten dördüncüye 100 µl azaltılır. Karıştırıldıktan sonra miktar % 50 azaltılır ve 50 µl alınır. 3-2-1 numaralı tüplere sırasıyla bu işlem tekrarlanır (Şekil 27).



Şekil 27: cTnI Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Koyun serum cTnI düzeyi ölçümüne ait işlemler şu şekilde gerçekleştirilmelidir.

1. Tüm reaktifler ile kör ve standart numunelerin analizleri prospektüste belirtildiği şekilde hazırlanır.

2. Kullanılacak kuyucukların sayısını belirlemek için tahlil yerleşim sayfasına bakılmalı ve kalan kuyucukları ve kurutucuyu tekrar poşete koyulur ve ziploc'u kapatılır, kullanılmayan kuyucukları 4°C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyucuğu test etmek için standart 50 µl pipetlenir, numune kuyucuğuna 40 µl numune seyrelticiyi pipetlenir, ardından test numunesi 10 µl ekleyin (numune son seyreltme 5 kattır), numuneyi kuyucuklara pipetlenir, kuyu duvarına mümkün olduğunca dokunulmaması gerekir ve yavaşça karıştırılmalıdır.

4. Standartın test edileceği gözlere 50ul standart, numunelerin test edileceği gözlere 40 µl dilüent eklenir ve üzerine 10 µl serum numunesi eklenir. Böylece numune 5 kat seyreltilmiş olur.

5. Test gözleri yapışkan ışık almayacak bir şekilde bant ya da folyo ile kaplanarak ve 37°C 'de 30 dakika inkübe edilir.

6. Yıkama solüsyonunu hazırlık aşamasında belirtildiği gibi damıtılmış suyla 30 kat sulandırılarak 600 ml yıkama solüsyonu elde edilir.

7. Kapatılmış olan bant-folyo çıkartılır ve test gözleri ters çevrilerek boşaltılır. Yıkama tamponunu her kuyucuğa pipetlenir, 30 saniye bekletilir. Ardından bufferlı yıkama solüsyonu ile 5 sefer doldur-boşalt şeklinde yıkanır.

8. Boş olan kontrol gözü hariç tüm gözlere 50 µl HRP işaretli antikor (konjugat) pipetlene eklenir.

9. Dördüncü basamaktaki işlem tekrarlanır.

10. Altıncı basamaktaki işlem tekrarlanır.

11. Kromojen Solution A'dan 50 µl ve Kromojen Solution B'den 50 µl her test gözüne eklenir ve ışık görmeyecek şekilde test gözleri kapatılır. 15dak 37 C°'de inkübe edilir.

12. Her göze kit içerisinde verilmiş olan 6 ml reaksiyon stop solüsyonundan 50 µl eklenir. Bu aşamada renk maviden sarıya dönmelidir.

13. Hesaplama aşamasında, boş kuyuyu sıfır olarak alınır. Reaksiyon durdurma solüsyonu eklendikten 15 dakika okuma işlemine geçilir. Spektrofotometre test plakasında bırakılan kontrol gözü sıfır olacak şekilde 450 nm dalga boyuna ayarlanarak sonuçlar elde edilir.

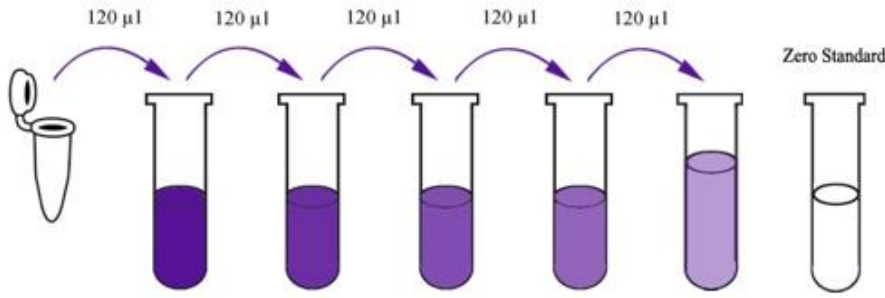
2.3.10. Glukagon-Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Hormon Düzeyinin Ölçümü

Araştırma sonucunda elde edilen koyun serum örneklerinde GLP-1 düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitin minimum saptanabilir konsantrasyonu 0.5 100 pmol/L olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Glucagon-like peptid 1 ELISA Kit, Product code: E022Hu, CHINA, determinasyonu ve 0.27 pmol/L, intra assay katsayısı %8,0, inter assay

katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın kataloğunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

Serum GLP-1 düzeyinin ölçümü için yapılacak olan hazırlık basamakları şu şekildedir;

1. Serumun oda sıcaklığında 10-20 dakika pıhtılaşması için beklenilir. 2000-3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilir.
2. 120 ng/L standart stok çözeltisi oluşturmak için standardın 120 µl'sini (64 pmol/L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırılır.
3. Seyreltme yapmadan önce standardın hafif ajitasyon ile 15 dakika oturmasına izin verilir.
4. 60 ng /L, 30 ng /L, 15 ng /L ve 7,5 ng /L çözeltiler üretmek için standart stok çözeltisini (120 ng/L) 1:2'yi standart seyreltici ile seri olarak seyrelterek yinelenen standart noktalar hazırlanır.
5. Standart seyreltici sıfır standardı (0 ng/L) olarak işlev görür. Kalan solüsyon -20 ° C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanılmalıdır (Şekil 28).



Şekil 28: GLP-1 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Yıkama Tamponu: 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25 kat deiyonize veya damıtılmış suya seyrelterek 500 ml 1xYıkama Tamponu elde edilir. Konsantrede kristaller oluşmuşsa, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır.

Serum GLP-1 düzeyinin ölçümü için yapılacak olan analiz prosedürü basamakları şu şekildedir;

1. Tüm reaktifleri, standart çözeltileri ve numuneleri talimatlara göre hazırlanır. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirilir. Tahlil oda sıcaklığında gerçekleştirilir.
2. Test için gereken şerit sayısını belirleyin. Şeritleri kullanmak üzere çerçevelere yerleştirilir. Kullanılmayan şeritler 2-8 ° C'de saklanmalıdır.

3. Standart kuyuya 50 µl standart eklenir (Standart kuyuya biyotinle antikor eklenilmez, çünkü standart çözelti biyotinle antikor içerir).

4. Numune kuyularına 40 µl numune eklenir ve ardından numune kuyularına 10 µl anti-GLP-1 antikor eklenir, ardından numune kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırılır. Plakayı bir sızdırmazlık maddesi ile örtülür. 37°C'de 60 dakika inkübe edilir.

5. Sızdırmazlık maddesini çıkarın ve plakayı yıkama tamponu ile 5 kez yıkanır. Kuyuları her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslatılır. Otomatik yıkama için her kuyuyu aspire edilir ve yıkama tamponu ile 5 kez yıkanır. Plakayı kâğıt havluların veya diğer emici malzemelerin üzerine kurulanır.

6. Her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi A ekleyin ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37°C'de 10 dakika boyunca yeni bir sızdırmazlık maddesi ile kaplanmış plakayı inkübe edilir.

7. Her kuyuya 50 µl stop (durdurma çözeltisi) ekleyin, mavi renk hemen sarıya dönüşür.

8. Stop çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirlenir.

2.3.11. Glukagon-Benzeri Peptid-2 (GLP-2) Hormon Düzeyinin Belirlenmesi

Araştırma sonucunda elde edilen koyun serum örneklerinde GLP-2 düzeyinin ölçülmesinde kullanılan kitin minimum saptanabilir konsantrasyonu 15-3000 ng/L olarak bildirilmiştir. ELISA kiti türe özgü Sheep Glucagon-like peptid 2 ELISA Kit, Product code: E0214Sh, CHINA, determinasyonu ve 7.86 ng/L, intra assay katsayısı %8,0, inter assay katsayısı %10,0 kullanılarak üretici firmanın katalogunda belirtilen prosedüre uygun olarak çalışıldı.

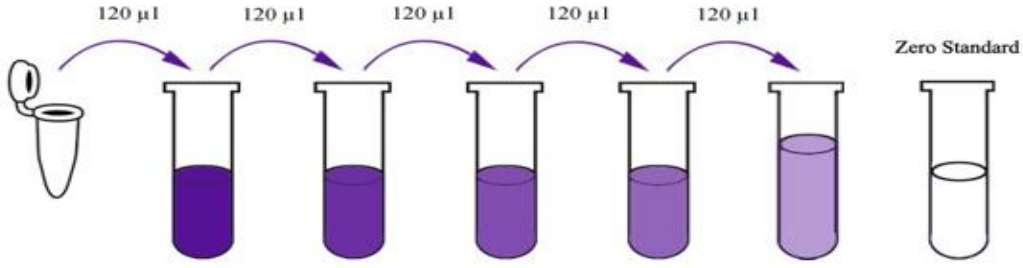
Serum GLP-2 düzeyinin ölçümü için yapılacak olan hazırlık basamakları şu şekildedir;

1. 1600 ng/L'lik standart stok çözeltisi oluşturmak için standardın 120 µl'sini (3200 ng/L) 120 µl standart seyreltici ile sulandırılır.

2. Seyreltme yapmadan önce standardın hafif çalkalama ile 15 dakika çökmesine izin verilir.

3. 800 ng/L, 400 ng/L, 200 ng/L ve 100 ng/L çözeltiler üretmek için standart stok çözeltisini (1600 ng/L) 1:2 standart seyreltici ile seri olarak seyrelterek çift standart noktalar hazırlanır.

4. Standart seyreltici, sıfır standardı (0 ng/L) olarak hizmet eder. Kalan çözelti -20 °C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanılmalıdır (Şekil 29).



Şekil 29: GLP-2 Test Kitinde Standart Dilüsyon Oluşturulması

Yıkama Tamponu: 20 ml Yıkama Tamponu Konsantresini 25 kat deiyonize veya damıtılmış suya seyrelterek 500 ml 1xYıkama Tamponu elde edilir. Konsantrede kristaller oluşmuşsa, kristaller tamamen eriyene kadar hafifçe karıştırılır.

Serum GLP-2 düzeyinin ölçümü için yapılacak olan analiz prosedürü basamakları şu şekildedir;

1. Tüm reaktifleri, standart çözeltileri ve numuneleri talimatlara göre hazırlanır. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirilir. Tahlil oda sıcaklığında gerçekleştirilir.
2. Test için gereken şerit sayısını belirleyin. Şeritleri kullanmak üzere çerçevelere yerleştirilir. Kullanılmayan şeritler 2-8 ° C'de saklanmalıdır.
3. Standart kuyuya 50 µl standart eklenir (Standart kuyuya biyotinle antikor eklenilmez, çünkü standart çözelti biyotinle antikor içerir).
4. Numune kuyularına 40 µl numune eklenir ve ardından numune kuyularına 10 µl anti-GLP-2 antikor eklenir, ardından numune kuyularına ve standart kuyulara 50 µl streptavidin-HRP eklenerek iyice karıştırılır. Plakayı bir sızdırmazlık maddesi ile örtülür. 37 ° C'de 60 dakika inkübe edilir.
5. Sızdırmazlık maddesi çıkarılır ve plakayı yıkama tamponu ile 5 kez yıkanır. Kuyuları her yıkama için 30 saniye ila 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile ıslatılır. Otomatik yıkama için her kuyuyu aspire edilir ve yıkama tamponu ile 5 kez yıkanır. Plakayı kâğıt havluların veya diğer emici malzemelerin üzerine kurulanır.
6. Her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi A ekleyin ve ardından her kuyuya 50 µl substrat çözeltisi B eklenir. Karanlıkta 37 ° C'de 10 dakika boyunca yeni bir sızdırmazlık maddesi ile kaplanmış plakayı inkübe edilir.
7. Her kuyuya 50 µl stop (durdurma çözeltisi) ekleyin, mavi renk hemen sarıya dönüşür.
8. Stop çözeltisini ekledikten sonra 10 dakika içinde 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroparka okuyucu kullanarak her kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) hemen belirlenir.

2.4. İSTATİKSEL ANALİZ

Yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen veriler SPSS 22 istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler Repeated measures testi kullanılmıştır. Diğer parametrelerin analizinde ise one way anova kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma uygulanmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ ve $p < 0.01$ değerleri seçilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + C_e + R_e (R * C * R)_{ej} + e_{ieek}$$

Burada Y_{ijk} bir gözlem, μ genel ortalama, R_i rasyon etkisi, R_e gün etkisi, C_e saat etkisi, $(R * C * R)_{ej}$ etkileşim etkisi ve e_{ijk} deneysel hatadır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. BULGULAR

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen graviola yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisinin incelendiği bu çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ortalama canlı ağırlık değişimleri Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	G0	G200	G400	G600	SEM
Besi Başlangıcı (0. Gün)	23,08±1,15	23,64±0,57	23,55±0,42	23,27±0,39	0,21
15. Gün	27,10±1,10	27,70±0,53	27,70±0,46	27,60±0,36	0,11
30. Gün	31,80±1,10c	32,40±0,58b	33,40±0,40a	33,10±0,36a	0,00
45. Gün	37,70±0,89d	38,40±0,42c	40,10±0,23a	39,60±0,22b	0,00
Besi Sonu (60. Gün)	45,70±0,66d	46,10±0,35c	48,40±0,20a	47,60±0,24b	0,00

*Veriler ortalama standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (P<0,05), *G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda ilk 15 günde elde edilen verilerin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı (p>0,05) diğer günlerde kontrol grubuna kıyasla, özellikle 30. günden sonra en iyi sonuçların G400 grubunda olduğu belirlenmiştir (p<0,05).

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEM TÜKETİM ORANININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ortalama yem tüketimi oranları Tablo 6’da sunulmuştur.

Tablo 6: Çalışma Gruplarına Ait Yem Tüketimi Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	G0	G200	G400	G600	SEM
15. Gün	790±15,39b	810±21,17a	820±17,75a	805±10,48ab	0,02
30. Gün	1007±15,30	1017±31,40	1026±26,84	1034±13,98	0,17
45. Gün	1194±22,03b	1182±19,26b	1237±15,81a	1218±21,73a	0,00
60. Gün	1403±13,85b	1405±15,88b	1434±19,24a	1419±18,50ab	0,01
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	0,72±0,02	0,71±0,03	0,72±0,03	0,71±0,03	0,98

*Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (P<0,05), *G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen graviola yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisini incelediğimiz bu çalışmada 15 günlük periyotlarla değerlendirdiğimizde rasyona Graviola ilavesinin özellikle 400 ve 600 ppm dozunda ilk 45 gün boyunca etkili olduğu son dönemde ise G400 dozundaki gruplarda yem tüketiminin arttığı görülmektedir (p<0,05). Ancak 30. gündeki yem tüketimi verilerinin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı (p>0,05) belirlenmiştir. 0-60 gün aralığında değerlendirdiğimizde rasyona Graviola yağı ekstresi ilavesinin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı (p>0,05) tespit edilmiştir (Tablo 6).

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT CANLI AĞIRLIK ARTIŞLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ortalama canlı ağırlık artışlarına ait oranlar Tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 7: Çalışma Gruplarına Ait Canlı Ağırlık Artışları Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	G0	G200	G400	G600	SEM
15. Gün	0,31±0,03b	0,31±0,03b	0,33±0,02b	0,36±0,02a	0,00
30. Gün	0,33±0,03b	0,33±0,02b	0,40±0,02a	0,39±0,02a	0,00
45. Gün	0,46±0,02b	0,46±0,02b	0,50±0,01a	0,50±0,02a	0,00
60. Gün	0,60±0,02b	0,60±0,01b	0,63±0,02a	0,60±0,01b	0,00
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	0,34±0,03b	0,33±0,01b	0,36±0,02a	0,34±0,02b	0,04

*Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (P<0,05), *G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

Anadolu Merinosu kuzu rasyonlarına farklı oranlarda ilave edilen graviola yağ ekstresinin besi performansı ve adipokin, serebral, kardiyak, bağırsak ile mitokondriyal fonksiyon yanıtının sirkadiyen değişimi üzerine etkisini incelediğimiz bu çalışmada 15 günlük periyotlarla değerlendirdiğimizde rasyona Graviola ilavesinin canlı ağırlık artışı üzerine özellikle G400 ve G600 ppm dozunda rasyona ilave edilmesinin olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir (p<0,05). 0-60 gün aralığında bakıldığında canlı ağırlık artışının an iyi sonuçlarının G400 dozunda etkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 7).

3.4. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT YEMDEN YARARLANMA ORANIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ortalama yemden yararlanma oranları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Çalışma Gruplarına Ait Yemden Yararlanma Oranı Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

Günler	G0	G200	G400	G600	SEM
15. Gün	2,58±0,26a	2,62±0,28a	2,53±0,17a	2,25±0,12b	0,02
30. Gün	3,18±0,16a	3,10±0,30a	2,6±0,13b	2,67±0,13b	0,00
45. Gün	2,6±0,14a	2,61±0,15a	2,45±0,07b	2,44±0,11b	0,02
60. Gün	2,35±0,08	2,34±0,05	2,28±0,10	2,37±0,08	0,23
Besi Başlangıcı-Besi Sonu	2,13±0,20	2,15±0,08	1,98±0,19	2,10±0,17	0,25

*Veriler ortalama±standart sapma olarak sunulmuştur. Aynı satırda farklı üst simgeler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (P<0,05), *G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; SEM: Ortalamanın standart hatası

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu yemden yararlanma oranı bakımından en yüksek skorun rasyona ekstrakt ilave edilen gruplarda olduğu belirlenirken, ilk 15 günde G400 ile G600 dozu etkili iken 15. günden sonra G200 dozu etkili olmuştur (p<0,05). 0-60 gün aralığında bakıldığında yemden yararlanma oranı bakımından rasyona Graviola yağı ekstresi ilavesinin istatistiksel olarak gruplar arasında etkisinin olmadığı (p>0,05) tespit edilmiştir.

3.5. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM APELİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum apelin düzeyleri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Apelin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,711L	0,737k	0,77hj	0,802fg	Gün
	13:00	0,798fgh	0,815ef	0,846d	0,88c	Saat
	19:00	0,842de	0,885c	0,927b	0,957a	G
	01:00	0,751jk	0,778ghj	0,812f	0,826def	Gün*Saat
	07:00	0,753jk	0,778ghj	0,805fg	0,825def	Gün* G
15.GÜN	07:00	0,737lm	0,772jk	0,805gh	0,845def	Saat* G
	13:00	0,828fg	0,862cde	0,879c	0,932b	Gün*Saat* G
	19:00	0,874cd	0,921b	0,946b	1,007a	Main effect means diet

	01:00	0,681n	0,713m	0,752kl	0,777hjk	G0	0,872d
	07:00	0,782hjk	0,795hj	0,841ef	0,884c	G200	0,907c
	07:00	0,811m	0,85kl	0,893gj	0,928ef	G400	0,946b
	13:00	0,873jkl	0,9fgj	0,931ef	0,963d	G600	1,003a
30.GÜN	19:00	0,906fgj	0,941de	0,962d	1,022c	SEM	0,002
	01:00	0,779m	0,799m	0,853kl	1,057b	SAAT	
	07:00	0,842L	0,882gjk	0,913efg	1,13a	07:00	0,873d
	07:00	0,868lm	0,916j	0,96h	0,982gh	13:00	0,981b
	13:00	1,015f	1,056e	1,091d	1,147c	19:00	1,057a
45.GÜN	19:00	1,133c	1,16c	1,19b	1,241a	01:00	0,829e
	01:00	0,814n	0,842mn	0,884kl	0,918j	07:00	0,921c
	07:00	0,903jk	0,952h	1,01fg	1,052e	SEM	0,002
	07:00	0,92lm	0,967k	1,044j	1,134g	GÜNLER	
	13:00	1,148fg	1,177f	1,223e	1,263cd	0.GÜN	0,815e
60.GÜN	19:00	1,237de	1,279c	1,334b	1,372a	15.GÜN	0,832d
	01:00	0,855n	0,868n	0,899m	0,928lm	30.GÜN	0,912c
	07:00	0,948kl	1,037j	1,087h	1,207e	45.GÜN	1,007b
SEM			0,01			60.GÜN	1,096a
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Gün*G, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde en yüksek değerlerin çalışmanın 0., 15., 45. ve 60. günlerinde G600 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00'da ve aynı şekilde 30. günde iise günperiyodunun tamamlandığı saat 07:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir. En düşük ortalama serum apelin değerleri ise G0 doz gruplarında 0., 15., günlerinde gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00 ve 01:00; 30., 45. ve 60. günlerde ise saat 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum apelin düzeyleri sırasıyla 0,87; 0,90; 0,94; ve 1,00 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,81; 0,83; 0,91; 1,00 ve 1,09 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum apelin düzeyleri sırasıyla 0,87; 0,98; 1,05; 0,82 ve 0,92 ng/ml olarak tespit edildi. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama apelin

düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G600 gruplarında, 60. gün ve saat 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 9) ($p<0,05$).

3.6. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM İRİSİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum apelin düzeyleri Tablo 10'da verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Gün*G, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada Gün*Saat*G interaksiyonları incelendiğinde en yüksek değerlerin çalışmanın 0., 15., 45. ve 60. günlerinde G400 ppm doz uygulama gruplarında saat 19:00'da belirlenmiştir. En düşük ortalama serum apelin değerleri ise G0 doz gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 10: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum İrisin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,723k	0,807j	1,082de	0,962g	Gün
	13:00	0,894h	0,956g	1,136bc	1,044ef	Saat
	19:00	1,037f	1,145b	1,22a	1,236a	G
	01:00	0,814j	0,862h	0,959g	0,902h	Gün*Saat
	07:00	0,96g	1,028f	1,139b	1,092cd	Gün* G
15.GÜN	07:00	0,858L	0,922j	1,178cd	1,106e	Saat* G
	13:00	0,905jk	1,016f	1,263b	1,195cd	Gün*Saat* G
	19:00	1,156d	1,212c	1,344a	1,278b	Main effect means diet
	01:00	0,874kl	0,938gj	1,091e	1,038f	G0
	07:00	0,976g	1,05f	1,215c	1,165d	G200
30.GÜN	07:00	0,924L	0,963k	1,249d	1,163ef	G400
	13:00	1,031gj	1,056g	1,367b	1,268cd	G600
	19:00	1,123f	1,183e	1,423a	1,343b	SEM
	01:00	0,858m	1,024gj	1,127f	1,055g	SAAT
	07:00	1,011j	1,035gj	1,294c	1,236d	07:00
45.GÜN	07:00	0,926n	1,027L	1,627c	1,579d	13:00
	13:00	1,11k	1,159h	1,72b	1,626c	19:00
	19:00	1,148h	1,208g	1,776a	1,708b	01:00
	01:00	0,881p	0,917n	1,408e	1,357f	07:00
	07:00	0,973m	1,059L	1,657c	1,618c	SEM
60.GÜN	07:00	1,171m	1,232jkl	1,741bcd	1,705de	GÜNLER
	13:00	1,28gh	1,307g	1,79a	1,748bc	0.GÜN
	19:00	1,212L	1,249hjk	1,747bc	1,703e	15.GÜN
	01:00	1,007p	1,129n	1,632f	1,602f	30.GÜN

07:00	1,219kl	1,263hj	1,772ab	1,731cde	45.GÜN	1,324b
SEM		0,014			60.GÜN	1,462a
					SEM	0,003

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum irisin düzeyleri sırasıyla 1,00; 1,07; 1,39; ve 1,33 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 1,00; 1,08; 1,13; 1,32 ve 1,46 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum irisin düzeyleri sırasıyla 1,14; 1,24; 1,32; 1,07 ve 1,22 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama irisin düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. gün ve saat 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir.

3.7. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM VİSFATİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum melatonin düzeyleri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Visfatın (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,61	0,653	0,7	0,664	Gün
	13:00	0,651	0,694	0,738	0,732	Saat
	19:00	0,713	0,739	0,793	0,762	G
	01:00	0,575	0,607	0,667	0,657	Gün*Saate
	07:00	0,627	0,686	0,725	0,709	Gün* G
15.GÜN	07:00	0,649	0,676	0,764	0,733	Saat* G
	13:00	0,678	0,727	0,807	0,794	Gün*Saate* G
	19:00	0,728	0,768	0,843	0,817	Main effect means diet
	01:00	0,644	0,658	0,732	0,702	G0
	07:00	0,666	0,697	0,798	0,759	G200
30.GÜN	07:00	0,682	0,724	0,823	0,799	G400
	13:00	0,715	0,761	0,873	0,828	G600
	19:00	0,763	0,808	0,905	0,857	SEM
	01:00	0,664	0,688	0,793	0,754	SAAT
	07:00	0,708	0,735	0,836	0,815	07:00
45.GÜN	07:00	0,727	0,753	0,852	0,805	13:00
	13:00	0,765	0,79	0,894	0,849	19:00
	19:00	0,794	0,822	0,938	0,872	01:00
	01:00	0,699	0,709	0,797	0,791	07:00
						0,767c

	07:00	0,753	0,784	0,88	0,826	SEM	0,002
	07:00	0,762	0,769	0,867	0,818	GÜNLER	
	13:00	0,811	0,825	0,888	0,853	0.GÜN	0,685e
60.GÜN	19:00	0,84	0,862	0,983	0,878	15.GÜN	0,732d
	01:00	0,767	0,792	0,824	0,793	30.GÜN	0,777c
	07:00	0,79	0,81	0,877	0,851	45.GÜN	0,805b
SEM		0,011				60.GÜN	0,833a
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum visfatin düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum visfatin düzeyleri sırasıyla 0,71; 0,74; 0,82; 0,78 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,68; 0,73; 0,77; 0,80 ve 0,83 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum visfatin düzeyleri sırasıyla 0,74; 0,78; 0,82; 0,71; 0,76 ng/ml olarak tespit edildi. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum visfatin düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 11) ($p>0,05$).

3.8. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MELATONİN DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum melatonin düzeyleri Tablo 12'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, Gün*Saat etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$); Gün*G, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 12) ($p>0,05$). Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların

0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum melatonin düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 12: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum Melatonin (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	2,2	2,308	2,667	2,458	Gün
	13:00	1,525	1,55	2,125	1,767	Saat
	19:00	2,317	2,45	2,933	2,6	G
	01:00	4,008	4,058	4,325	4,475	Gün*Saat
	07:00	2,125	2,225	2,55	2,358	Gün* G
15.GÜN	07:00	2,3	2,4	2,758	2,608	Saat* G
	13:00	1,583	1,8	2,342	2,133	Gün*Saat* G
	19:00	2,567	2,842	2,875	3,125	
	01:00	4,15	4,375	4,925	4,575	Main effect means diet
	07:00	2,217	2,317	2,683	2,483	G0
30.GÜN	07:00	2,125	2,175	2,567	2,367	G200
	13:00	1,425	1,525	1,858	1,575	G400
	19:00	2,492	2,567	2,717	2,775	G600
	01:00	4,383	4,583	5,142	4,667	SEM
	07:00	2,608	2,742	3,108	2,758	SAAT
45.GÜN	07:00	2,533	2,675	3,125	2,783	07:00
	13:00	1,85	1,775	2,175	1,95	13:00
	19:00	2,783	3,125	3,358	3,183	19:00
	01:00	4,708	4,917	5,617	5,083	01:00
	07:00	2,933	3,125	3,55	3,3	07:00
60.GÜN	07:00	2,45	2,625	3,125	2,75	SEM
	13:00	1,85	2,133	2,417	2,208	GÜNLER
	19:00	2,767	3,067	3,383	3,158	0.GÜN
	01:00	4,85	5,125	5,683	5,317	15.GÜN
	07:00	3,033	3,258	3,808	3,475	30.GÜN
SEM					0,094	45.GÜN
						60.GÜN
						SEM

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum melatonin düzeyleri sırasıyla 2,71; 2,81; 3,27; 3,03 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 2,65; 2,85; 2,80; 3,22 ve 3,22 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum melatonin düzeyleri sırasıyla 2,55; 1,87; 2,85; 4,74; 2,83 ng/ml olarak tespit edildi. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama melatonin düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat gece 01:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında

0. gün ve saat 13:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 12) ($p<0,05$).

3.9. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BDNF DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BDNF düzeyleri Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BDNF (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,248k	0,327cd	0,271ghj	0,303ef	Gün	0
	13:00	0,268j	0,37ab	0,312de	0,337c	Saat	0
	19:00	0,291fg	0,386a	0,325cd	0,357b	G	0
	01:00	0,271ghj	0,289fgh	0,248k	0,273ghj	Gün*Saat	0
	07:00	0,269hj	0,358b	0,293ef	0,325cd	Gün* G	0,212
15.GÜN	07:00	0,256L	0,336de	0,291jk	0,315efgh	Saat* G	0
	13:00	0,292jk	0,393a	0,328def	0,358bc	Gün*Saat* G	0
	19:00	0,308fgh j	0,398a	0,332de	0,367b	Main effect means diet	
	01:00	0,228m	0,306fgj	0,255L	0,29jk	G0	0,297d
	07:00	0,281k	0,345cd	0,295hjk	0,325defg	G200	0,381a
30.GÜN	07:00	0,278k	0,363d	0,308gj	0,335e	G400	0,324c
	13:00	0,311fgj	0,418a	0,368cd	0,389bc	G600	0,354b
	19:00	0,327efg	0,398ab	0,34e	0,371cd	SEM	0,001
	01:00	0,247l	0,338e	0,293jk	0,33ef	SAAT	
	07:00	0,305j	0,382cd	0,339e	0,373cd	07:00	0,324c
45.GÜN	07:00	0,298hj	0,388bc	0,328fg	0,363cde	13:00	0,368a
	13:00	0,331fg	0,436a	0,38cd	0,409b	19:00	0,366a
	19:00	0,358de	0,409b	0,374cd	0,386bc	01:00	0,293d
	01:00	0,258k	0,348ef	0,278jk	0,328fg	07:00	0,345b
	07:00	0,319gh	0,434a	0,328fg	0,375cd	SEM	0,002
60.GÜN	07:00	0,32k	0,411cd	0,353hj	0,379efg	GÜNLER	
	13:00	0,352j	0,458a	0,408cd	0,434b	0.GÜN	0,306e
	19:00	0,375fgh	0,421bc	0,391def	0,398de	15.GÜN	0,315d
	01:00	0,283L	0,373fghj	0,301kl	0,32k	30.GÜN	0,341c
	07:00	0,352j	0,435b	0,362ghj	0,411cd	45.GÜN	0,356b
SEM			0,007			60.GÜN	0,377a
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*G etkileşimi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde ortalama serum BDNF düzeyleri en yüksek G200 ppm doz uygulama gruplarında çalışmanın 0. gününde saat 19:00'da iken; 15., 30., 45. ve 60. günlerinde saat 13:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir ($p<0,05$). En düşük ortalama serum BDNF değerleri ise G200 ve G400 doz gruplarında ve çalışmanın 15. gününde sırasıyla saat gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00 ve 01:00'de belirlenirken, 30., 45. ve 60. günlerinde ise G0 doz grubunda saat 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum BDNF düzeyleri sırasıyla 0,29; 0,38; 0,32; 0,35 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,32; 0,36; 0,36; 0,29 ve 0,34 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum BDNF düzeyleri sırasıyla 0,30; 0,31; 0,34; 0,35 ve 0,37 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama BDNF düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G200 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00 ve 19:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 13) ($p<0,05$).

3.10. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMAL1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri Tablo 14'da verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*G, Gün*Saat, Saat*G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 14) ($p>0,05$).

Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksiyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 14: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BMAL1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,9	1,217	1,8	1,4	Gün 0
	13:00	1,408	1,475	2,083	1,7	Saat 0
	19:00	1,117	1,383	1,933	1,583	G 0
	01:00	0,683	1,133	1,342	1,217	Gün*Saat 0
	07:00	1,292	1,383	1,808	1,692	Gün* G 0
15.GÜN	07:00	1,192	1,292	1,883	1,475	Saat* G 0
	13:00	1,533	1,575	2,108	1,817	Gün*Saat* G 0,42
	19:00	1,092	1,2	1,467	1,4	Main effect means diet
	01:00	0,792	0,917	1,2	1,108	G0 1,523d
	07:00	1,308	1,4	1,992	1,733	G200 1,704c
30.GÜN	07:00	1,483	1,592	1,967	1,758	G400 2,153a
	13:00	1,8	1,883	2,317	2,1	G600 1,912b
	19:00	1,208	1,517	1,883	1,708	SEM 0,013
	01:00	1,092	1,183	1,492	1,292	SAAT
	07:00	1,717	1,825	2,192	1,933	07:00 1,785d
45.GÜN	07:00	1,758	1,908	2,383	2,117	13:00 2,182a
	13:00	2,2	2,517	2,9	2,592	19:00 1,83c
	19:00	1,592	2,083	2,492	2,283	01:00 1,351e
	01:00	1,217	1,6	1,775	1,683	07:00 1,966b
	07:00	1,883	2,1	2,492	2,283	SEM 0,015
60.GÜN	07:00	2,125	2,192	2,8	2,458	GÜNLER
	13:00	2,483	2,675	3,358	3,108	0.GÜN 1,427d
	19:00	2,308	2,458	3,075	2,817	15.GÜN 1,424d
	01:00	1,608	1,717	2,1	1,867	30.GÜN 1,697c
	07:00	2,275	2,367	2,975	2,675	45.GÜN 2,093b
SEM				0,065		60.GÜN 2,472a
						SEM 0,015

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum BMAL1 düzeyleri sırasıyla 1,52; 1,70; 2,15; 1,91 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 1,42; 1,42; 1,69; 2,09 ve 2,47 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu

sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum BMAL1 düzeyleri sırasıyla 1,78; 2,18; 1,83; 1,35; 1,96 ng/ml olarak tespit edildi. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum BMAL1 düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 13:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise G0 gruplarında 15. gün ve gün periyodunun başlangıcı sabah saat 07:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 14) ($p<0,05$).

3.11. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM BMCP1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMCP1 düzeyleri Tablo 15'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*G, Saat*G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat, Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 15) ($p>0,05$).

Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksiyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum BMCP1 düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum BMCP1 düzeyleri sırasıyla 0,64; 0,68; 0,77; 0,72 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,65; 0,68; 0,72; 0,72 ve 0,74 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum BMCP1 düzeyleri sırasıyla 0,67; 0,72; 0,77; 0,64; 0,70 ng/ml olarak tespit edilmiştir.

Tablo 15: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum BMCP1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,54	0,602	0,712	0,638	Gün
	13:00	0,608	0,659	0,764	0,691	Saat
	19:00	0,65	0,705	0,787	0,769	G
	01:00	0,515	0,543	0,649	0,595	Gün*Saat
	07:00	0,583	0,627	0,737	0,687	Gün* G
15.GÜN	07:00	0,592	0,636	0,727	0,681	Saat* G
	13:00	0,639	0,688	0,768	0,713	Gün*Saat* G
	19:00	0,673	0,737	0,817	0,815	
Main effect means diet						

	01:00	0,56	0,592	0,681	0,663	G0	0,64d
	07:00	0,641	0,672	0,752	0,71	G200	0,684c
	07:00	0,617	0,667	0,768	0,708	G400	0,771a
	13:00	0,66	0,729	0,809	0,752	G600	0,729b
30.GÜN	19:00	0,711	0,767	0,862	0,843	SEM	0,002
	01:00	0,609	0,662	0,712	0,694	SAAT	
	07:00	0,647	0,72	0,788	0,752	07:00	0,676d
	07:00	0,643	0,669	0,77	0,711	13:00	0,725b
	13:00	0,694	0,725	0,808	0,749	19:00	0,778a
45.GÜN	19:00	0,717	0,768	0,856	0,842	01:00	0,643e
	01:00	0,587	0,657	0,712	0,692	07:00	0,708c
	07:00	0,666	0,715	0,793	0,725	SEM	0,002
	07:00	0,66	0,689	0,768	0,727	GÜNLER	
	13:00	0,714	0,732	0,818	0,773	0.GÜN	0,653d
	19:00	0,738	0,765	0,891	0,842	15.GÜN	0,688c
60.GÜN	01:00	0,641	0,659	0,731	0,713	30.GÜN	0,724b
	07:00	0,686	0,724	0,787	0,752	45.GÜN	0,725b
SEM		0,009				60.GÜN	0,74a
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum BMCP1 düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve gün periyodunun başlangıcı sabah saat 07:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 15) ($p<0,05$).

3.12. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM MOTs-C DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum MOTs-c düzeyleri Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum MOTs-c (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)	
	07:00	0,683	0,733	0,811	0,749	Gün	0
	13:00	0,709	0,746	0,865	0,805	Saat	0
0.GÜN	19:00	0,732	0,777	0,919	0,837	G	0
	01:00	0,651	0,683	0,788	0,718	Gün*Saat	0,014
	07:00	0,7	0,748	0,845	0,772	Gün* G	0,001

15.GÜN	07:00	0,702	0,719	0,782	0,73	Saat* G	0,004
	13:00	0,724	0,747	0,861	0,807	Gün*Saat* G	0,174
	19:00	0,746	0,776	0,898	0,843	Main effect means diet	
	01:00	0,683	0,705	0,827	0,775	G0	0,735d
	07:00	0,721	0,745	0,848	0,805	G200	0,763c
30.GÜN	07:00	0,721	0,743	0,848	0,798	G400	0,872a
	13:00	0,748	0,783	0,889	0,827	G600	0,809b
	19:00	0,773	0,807	0,933	0,862	SEM	0,002
	01:00	0,711	0,743	0,816	0,753	SAAT	
	07:00	0,735	0,757	0,868	0,818	07:00	0,770d
45.GÜN	07:00	0,725	0,754	0,879	0,825	13:00	0,810b
	13:00	0,765	0,787	0,916	0,848	19:00	0,842a
	19:00	0,791	0,816	0,973	0,883	01:00	0,755e
	01:00	0,733	0,748	0,85	0,786	07:00	0,798c
	07:00	0,746	0,784	0,908	0,85	SEM	0,002
60.GÜN	07:00	0,749	0,774	0,864	0,805	GÜNLER	
	13:00	0,794	0,811	0,914	0,849	0.GÜN	0,763d
	19:00	0,828	0,853	0,941	0,856	15.GÜN	0,772c
	01:00	0,724	0,754	0,848	0,794	30.GÜN	0,797b
	07:00	0,774	0,789	0,903	0,837	45.GÜN	0,818a
SEM		0,01				60.GÜN	0,823a
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*G, Saat*G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat, Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 16) ($p>0,05$). Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum MOTS-c düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$). Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum MOTS-c düzeyleri sırasıyla 0,73; 0,76; 0,87; 0,80 ng/ml olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,63; 0,77; 0,79; 0,81 ve 0,82 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum apelin düzeyleri sırasıyla 0,77; 0,81; 0,84; 0,75; 0,79 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan

kuzuların ortalama serum MOTS-c düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. gün ve gün periyodunun başlangıcı sabah saat 07:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 16) ($p<0,05$).

3.13. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM CTNI DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum cTnI düzeyleri Tablo 17'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*G, Saat*G, Gün*Saat, Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 17) ($p>0,05$). Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum cTnI düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 17: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum cTnI (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,233	0,228	0,249	0,256	Gün
	13:00	0,246	0,257	0,261	0,263	Saat
	19:00	0,24	0,283	0,288	0,266	G
	01:00	0,21	0,223	0,232	0,242	Gün*Saat
	07:00	0,253	0,253	0,272	0,276	Gün* G
15.GÜN	07:00	0,241	0,24	0,252	0,268	Saat* G
	13:00	0,26	0,246	0,27	0,282	Gün*Saat* G
	19:00	0,254	0,233	0,263	0,247	
	01:00	0,223	0,212	0,231	0,215	Main effect means diet
	07:00	0,251	0,255	0,269	0,278	G0
30.GÜN	07:00	0,25	0,264	0,269	0,276	G200
	13:00	0,264	0,283	0,292	0,3	G400
	19:00	0,242	0,251	0,261	0,291	G600
	01:00	0,218	0,238	0,248	0,258	SEM
	07:00	0,272	0,268	0,282	0,296	
45.GÜN	07:00	0,258	0,27	0,284	0,295	SAAT
	13:00	0,279	0,288	0,295	0,32	07:00
	19:00	0,268	0,278	0,294	0,285	13:00
	01:00	0,228	0,234	0,264	0,273	19:00
	07:00	0,268	0,283	0,293	0,307	01:00
60.GÜN	07:00	0,278	0,288	0,296	0,321	07:00
						SEM
						GÜNLER

13:00	0,295	0,317	0,326	0,336	0.GÜN	0,251d
19:00	0,288	0,284	0,31	0,299	15.GÜN	0,249d
01:00	0,245	0,261	0,274	0,278	30.GÜN	0,266c
07:00	0,293	0,312	0,315	0,338	45.GÜN	0,278b
SEM	0,009				60.GÜN	0,298a
					SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum cTnI düzeyleri sırasıyla 0,25; 0,25; 0,27; 0,28 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,25, 0,24; 0,26; 0,27 ve 0,29 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum cTnI düzeyleri sırasıyla 0,26; 0,28; 0,27; 0,24; 0,28 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum cTnI düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G600 gruplarında, 60. günlerde ve saat 13:00 ve gün periyodunun tamamlandığı sabah 07:00'de belirlenirken, en düşük düzey ise G0 gruplarında 0. ve 15. gün saat 01:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 17) ($p<0,05$).

3.14. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM GLP-1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum GLP-1 düzeyleri Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 18: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum GLP-1 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	0,233	0,228	0,249	0,256	Gün	0
	13:00	0,246	0,257	0,261	0,263	Saat	0
	19:00	0,24	0,283	0,288	0,266	G	0
	01:00	0,21	0,223	0,232	0,242	Gün*Saat	0
	07:00	0,253	0,253	0,272	0,276	Gün* G	0
15.GÜN	07:00	0,241	0,24	0,252	0,268	Saat* G	0
	13:00	0,26	0,246	0,27	0,282	Gün*Saat* G	0,087
	19:00	0,254	0,233	0,263	0,247	Main effect means diet	
	01:00	0,223	0,212	0,231	0,215	G0	0,283b
	07:00	0,251	0,255	0,269	0,278	G200	0,246c
30.GÜN	07:00	0,25	0,264	0,269	0,276	G400	0,316a
	13:00	0,264	0,283	0,292	0,3	G600	0,214d

	19:00	0,242	0,251	0,261	0,291	SEM	0,002
	01:00	0,218	0,238	0,248	0,258	SAAT	
	07:00	0,272	0,268	0,282	0,296	07:00	0,238d
	07:00	0,258	0,27	0,284	0,295	13:00	0,300b
	13:00	0,279	0,288	0,295	0,32	19:00	0,341a
45.GÜN	19:00	0,268	0,278	0,294	0,285	01:00	0,184e
	01:00	0,228	0,234	0,264	0,273	07:00	0,261c
	07:00	0,268	0,283	0,293	0,307	SEM	0,002
	07:00	0,278	0,288	0,296	0,321	GÜNLER	
	13:00	0,295	0,317	0,326	0,336	0.GÜN	0,218e
60.GÜN	19:00	0,288	0,284	0,31	0,299	15.GÜN	0,239d
	01:00	0,245	0,261	0,274	0,278	30.GÜN	0,26c
	07:00	0,293	0,312	0,315	0,338	45.GÜN	0,289b
SEM		0,009				60.GÜN	0,317aa
						SEM	0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum GLP-1 düzeyleri sırasıyla 0,28; 0,24; 0,31; 0,21 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,21, 0,23; 0,26; 0,28 ve 0,31 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum GLP-1 düzeyleri sırasıyla 0,23; 0,30; 0,34; 0,18 ve 0,26 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum GLP-1 düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise G600 gruplarında 0. gün saat 01:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 18) ($p<0,05$).

3.15. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SERUM GLP-2 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama serum GLP-2 düzeyleri Tablo 19'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*G, Saat*G, Gün*Saat, etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunurken ($p<0,05$); Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 19) ($p>0,05$). Çalışma gün, saat ve G doz grupları interaksyonları incelendiğinde G0, G200, G400 ve G600 ppm dozu uygulanan gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki

dönemlere ait ortalama serum GLP-2 düzeyleri üzerine herhangi bir etkileşim tespit elde edilmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 19: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Farklı Gün ve Saatlerinde Kan Alma Dönemlerine Ait Ortalama Serum GLP-2 (ng/ml) Değerlerinin Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	0,05	0,038	0,059	0,032	Gün 0
	13:00	0,069	0,056	0,079	0,05	Saat 0
	19:00	0,088	0,092	0,103	0,067	G 0
	01:00	0,035	0,029	0,054	0,044	Gün*Saat 0
	07:00	0,062	0,05	0,079	0,04	Gün* G 0
15.GÜN	07:00	0,058	0,053	0,082	0,041	Saat* G 0
	13:00	0,156	0,142	0,187	0,109	Gün*Saat* G 0,115
	19:00	0,215	0,179	0,264	0,155	Main effect means diet
	01:00	0,046	0,042	0,061	0,032	G0 0,14b
	07:00	0,077	0,063	0,087	0,05	G200 0,12c
30.GÜN	07:00	0,117	0,097	0,14	0,092	G400 0,159a
	13:00	0,188	0,167	0,209	0,137	G600 0,102d
	19:00	0,225	0,204	0,241	0,177	SEM 0,001
	01:00	0,09	0,072	0,098	0,059	SAAT
	07:00	0,136	0,117	0,161	0,103	07:00 0,100d
45.GÜN	07:00	0,143	0,115	0,156	0,103	13:00 0,162b
	13:00	0,222	0,188	0,243	0,164	19:00 0,199a
	19:00	0,264	0,227	0,274	0,202	01:00 0,072e
	01:00	0,122	0,097	0,14	0,081	07:00 0,119c
	07:00	0,157	0,152	0,185	0,131	SEM 0,002
60.GÜN	07:00	0,175	0,135	0,204	0,116	GÜNLER
	13:00	0,241	0,196	0,26	0,168	0.GÜN 0,059e
	19:00	0,265	0,248	0,288	0,205	15.GÜN 0,105d
	01:00	0,092	0,078	0,101	0,064	30.GÜN 0,141c
	07:00	0,203	0,162	0,222	0,139	45.GÜN 0,168b
SEM		0,007				60.GÜN 0,178a
						SEM 0,002

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; G0: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama serum GLP-2 düzeyleri sırasıyla 0,14; 0,12; 0,15; 0,10 ng/ml olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 0,05, 0,10; 0,14; 0,16 ve 0,17 ng/ml belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama serum GLP-2 düzeyleri sırasıyla 0,10; 0,16; 0,19; 0,07 ve 0,11 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama serum GLP-2 düzeyleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G400 gruplarında, 60.

günlerde ve saat 19:00'da belirlenirken, en düşük düzey ise G600 gruplarında 0. gün saat 01:00'de belirlenirken bulunan sonuçlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur (Tablo 19) ($p<0,05$).

3.16. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT NABIZ VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama nabız verileri Tablo 20'de verilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Gün*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), Saat*G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 20) ($p>0,05$).

Çalışmada gün*grup*saat interaksyonları incelendiğinde ortalama nabız verilerine ait en yüksek değerler çalışmanın 0. gün G400 ppm dozu saat 13:00'de; 15. gün G200 ppm dozu saat 13:00'de; 30.ve 60. gün G400 ppm dozu saat 13:00'de; 45. gün G600 ppm dozu saat 13:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir. En düşük ortalama nabız verileri 0. ve 30. gün G400 ppm dozu saat 01:00'de; 15. gün G200 ppm dozu saat 01:00'de; 45. gün G0 ppm dozu saat 07:00'de; 60. gün G600 ppm dozu saat 01:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama nabız verilerine sırasıyla 85,02; 85,83; 86,89; ve 87, 48 (atım/dk) olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 87,46; 86,67; 87,00; 85,72 ve 84,67 (atım/dk) belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama nabız verileri sırasıyla 86,11; 94,04; 92,26; 73,98 ve 85,12 (atım/dk) olarak tespit edildi. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama nabız verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 20) ($p<0,05$).

Tablo 20: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Nabız Değerlerinin Değişimi ($Ort\pm SD$)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	82,5h	89,75ef	82,833h	82,083h	Gün	0
	13:00	95ab	95,417ab	95,917a	95,667ab	Saat	0
	19:00	92,667cd	91,25de	93,583bc	94,25bc	G	0
	01:00	75,5k	76,083k	74,5k	78,667j	Gün*Saat	0
	07:00	87,583g	88fg	89,25efg	88,75fg	Gün* G	0

15.GÜN	07:00	86,833fg	84,5jk	87,75ef	88,833e	Saat* G	0,353
	13:00	91,833cd	94,417a	93,833ab	92,833abc	Gün*Saat* G	0
	19:00	91,083d	92,5bcd	92,333bcd	93,25abc	Main effect means diet	
	01:00	73,583m	75,167L	76,667L	76,25L	G0	85,023d
	07:00	85,417gjk	84,25k	86,167fgj	85,917gjk	G200	85,83c
30.GÜN	07:00	87,333f	86,583fg	89,25e	87,917f	G400	86,893b
	13:00	92,917cd	93,583c	96,417a	95,333ab	G600	87,483a
	19:00	92d	90,417e	94,917b	95,083ab	SEM	0,107
	01:00	72,833n	73,083n	77,583L	75,833m	SAAT	
	07:00	84,083k	84,333jk	84,917jk	85,667gj	07:00	86,117c
45.GÜN	07:00	86,25fg	83,25kl	86,667f	88,833e	13:00	94,042a
	13:00	92,583c	92,917bc	94,083b	95,75a	19:00	92,267b
	19:00	90,5d	93,583bc	92,417c	92,667c	01:00	73,983e
	01:00	71,167p	69,667r	73,917m	72,5n	07:00	85,129d
	07:00	82,25L	84,083hk	85,083gh	86,417f	SEM	0,119
60.GÜN	07:00	81,75j	85,417f	84,333fg	89,667de	GÜNLER	
	13:00	90,667cd	91,583c	93,667b	96,417a	0.GÜN	87,462a
	19:00	88,917e	91,75c	90,75cd	91,417c	15.GÜN	86,671c
	01:00	70,583m	71,583lm	71,833lm	72,667L	30.GÜN	87,004b
	07:00	79,75k	82,583hj	83,667gh	84,417fg	45.GÜN	85,729d
SEM		0,533				60.GÜN	84,671e
						SEM	0,119

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve p<0,05 anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

3.17. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT SOLUNUM SAYISI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama solunum sayısı verileri Tablo 21’de verilmiştir.

Tablo 21: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Solunum Sayısı Değişimi (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)	
0.GÜN	07:00	67,75def	68,583de	69,083cd	70,667c	Gün	0
	13:00	94,167a	94,583a	96,167a	96,083a	Saat	0
	19:00	83,083b	83,5b	83,417b	83,167b	G	0
	01:00	64,417g	65,5fg	66,083fg	66,167fg	Gün*Saat	0
	07:00	66,833ef	67,083def	66,917def	66,75ef	Gün* G	0
15.GÜN	07:00	69,167de	69,917d	68,583def	69,417d	Saat* G	0,023
	13:00	91,25ab	91,167ab	89,5b	92,583a	Gün*Saat* G	0
	19:00	81,583c	82,333c	83,083c	82,833c	Main effect means diet	
	01:00	64,167k	65,083jk	65,917gjk	68,583def	G0	72,873d

	07:00	66,083gjk	65,167jk	67,333efg	66,583fgj	G200	73,597c
	07:00	65,5kl	68,25gj	70,083g	69,667g	G400	74,397b
	13:00	88,917bc	88,167c	91,417a	90,75ab	G600	75,46a
30.GÜN	19:00	80,083ef	79,75f	82,583d	81,917de	SEM	0,136
	01:00	63,333m	64,583klm	64,333lm	69,75g	SAAT	
	07:00	65,417kl	65klm	66,25kl	66,667jk	07:00	68,621c
	07:00	65,833gh	67,25fg	70,417de	71,083d	13:00	89,433a
45.GÜN	13:00	86,417a	87,75a	88,083a	88,25a	19:00	80,996b
	19:00	78,667c	78,417c	78,917c	82,5b	01:00	65,283e
	01:00	64,5h	65,583gh	65,75gh	68,917ef	07:00	66,075d
	07:00	64,583h	64,417h	65,333gh	67,25fg	SEM	0,152
	07:00	67,25f	67,417f	68,417f	68,083f	GÜNLER	
	13:00	81,583c	83,167abc	84,583a	84,083ab	0.GÜN	76,00a
60.GÜN	19:00	76,25e	77,083de	78,333d	82,417bc	15.GÜN	75,017b
	01:00	61,083h	63,417g	64,75g	63,75g	30.GÜN	74,121c
	07:00	63,917g	66,75f	64,583g	68,583f	45.GÜN	73,496d
SEM			0,678			60.GÜN	71,775e
						SEM	0,152

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Gün*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), Saat*G etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 21) ($p>0,05$). Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde ortalama solunum sayısı verilerine ait en yüksek değerler çalışmanın 0. gün G400 ppm dozu saat 13:00'de; 15. gün G600 ppm dozu saat 13:00'de; 30. gün G400 ppm dozu saat 13:00'de; 45. gün G600 ppm dozu saat 13:00'de; 60. gün G400 ppm dozu saat 13:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir. En düşük ortalama nabız verileri 0. Gün G0 doz uygulanmayan grup ve saat 01:00'de; 15. gün G0 ppm dozu saat 01:00'de; 30. gün G200 ppm dozu saat 01:00'de; 45. gün G200 ppm dozu saat 07:00'de; 60. gün G0 ppm dozu saat 07:00'de ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama nabız verilerine sırasıyla 72,87; 73,59; 74,39 ve 75, 46 (adet/dk) olarak ölçüldü. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 87,46; 86,67; 87,00; 85,72 ve 84,67 (atım/dk) belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama solunum sayısı verileri sırasıyla 68,62; 89,43; 80,99; 65,28 ve 66,07 (adet/dk) olarak tespit edildi. Çalışmada

yer alan kuzuların ortalama solunum sayısı verileri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G600 gruplarında, 0. gün ve saat 13:00'da belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 60. gün ve saat 01:00'de tespit edilmiştir (Tablo 21) ($p<0.05$).

3.18. ÇALIŞMA GRUPLARINA AİT VÜCUT SICAKLIĞI VERİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışma kapsamında G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzuların 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki ve 07:00; 13:00; 19:00; 01:00; 07:00 saatlerindeki dönemlere ait ortalama vücut sıcaklığı verileri Tablo 22'de sunulmuştur.

Araştırma sonuçlarına göre Gün, Saat, G, Gün*Saat, Gün*G, Saat*G ve Gün*Saat* G etkileşimleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada gün*grup*saat interaksiyonları incelendiğinde en yüksek ortalama vücut sıcaklığı değerleri çalışmanın 0., 15., 30. ve 60. günlerinde G600 ppm doz uygulama gruplarında saat 13:00'de ve aynı şekilde 45. günde ise G600 ppm doz uygulama gruplarında saat 13:00'de yer alan gruplarda belirlenmiştir. En düşük ortalama vücut sıcaklığı ise G0 doz gruplarında 0., 15., günlerinde gün periyodunun başladığı sabah saat 07:00 ve 01:00; 30. günde G0 doz grubunda saat 01:00'de; 60. günde G200 doz grubunda saat 01:00'de ise ölçümü yapılan kuzu gruplarında tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Tablo 22: Çalışma Gruplarındaki Kuzuların Vücut Sıcaklığı Değişimleri (Ort±SD)

GÜNLER	SAAT	G0	G200	G400	G600	Source of variation (P values)
0.GÜN	07:00	38,6jk	38,5kl	38,8gh	38,9g	Gün 0
	13:00	39,6d	39,9c	40,1b	40,3a	Saat 0
	19:00	39,1f	39,3e	39,4e	39,6d	G 0
	01:00	38,1p	38,2np	38,4lm	38,6jk	Gün*Saat 0
	07:00	38,3mn	38,5kl	38,7hj	38,8gh	Gün* G 0
15.GÜN	07:00	38,3lm	38,6gj	38,7g	38,9f	Saat* G 0
	13:00	39,2e	39,7b	40a	40,1a	Gün*Saat* G 0
	19:00	38,6gj	39,4d	39,6bc	39,5cd	Main effect means diet
	01:00	38,2m	38,2m	38,5jk	38,4kl	G0 38,784d
	07:00	38,6gj	38,4kl	38,6gj	38,9f	G200 38,9c
30.GÜN	07:00	38,5fg	38,3h	38,4gh	38,8e	G400 39,039b
	13:00	39,7b	39,7b	39,683b	39,9a	G600 39,116a
	19:00	39,3d	39,3d	39,3d	39,5c	SEM 0,011
	01:00	38,3h	38,4gh	38,5fg	38,5fg	SAAT
	07:00	38,4gh	38,6f	38,6f	38,5fg	07:00 38,615c
45.GÜN	07:00	38,4g	38,7de	38,6ef	38,4g	13:00 39,844a
	13:00	39,7b	39,7b	40,2a	39,8b	19:00 39,355b
	19:00	39,4c	39,3c	39,4c	39,4c	01:00 38,405e
	01:00	38,4g	38,4g	38,7de	38,8d	07:00 38,58d

	07:00	38,5fg	38,7de	38,7de	38,6ef	SEM	0,012
	07:00	38,6gh	38,7fg	38,9e	38,7fg	GÜNLER	
	13:00	39,8b	39,8b	39,9b	40,1a	0.GÜN	38,985a
60.GÜN	19:00	39,3d	39,5c	39,3d	39,6c	15.GÜN	38,92b
	01:00	38,3kl	38,2L	38,5hj	38,5hj	30.GÜN	38,909b
	07:00	38,4jk	38,5hj	38,5hj	38,8ef	45.GÜN	38,99a
SEM			0,055			60.GÜN	38,995a
						SEM	0,012

*G: Rasyona ilave edilen Graviola yağ ekstresi; GO: Graviola yağ ekstresi uygulanmayan grup; G200: kuzuların rasyonuna 200 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G400: kuzuların rasyonuna 400 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; G600: kuzuların rasyonuna 600 ppm düzeyinde Graviola yağ ekstresi ilave edilen grup; Tablodaki her gün ve her takım kendi içerisinde analiz edilmiş ve $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

Araştırma süresi boyunca G0, G200, G400 ve G600 gruplarında yer alan kuzulara ait ortalama vücut sıcaklığı değerleri sırasıyla 38,78; 38,90; 39,03 ve 39,11 C° olarak ölçülmüştür. 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerinde sırasıyla 38,98; 38,92; 38,90; 38,99 ve 38,99 C° belirlenirken; sirkadiyen değişimin incelenmesiyle gün periyodu başlangıcı 07:00; 13:00; 19:00; 01:00 ve gün periyodu sonu 07:00 olmak üzere saatlere göre ortalama vücut sıcaklığı değerleri sırasıyla 38,61; 39,84; 39,35; 38,40 ve 38,58 C° olarak tespit edilmiştir. Çalışmada yer alan kuzuların ortalama vücut sıcaklığı değerleri grup, gün ve saat yönünden en yüksek düzey, G600 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00'de belirlenirken, aynı şekilde en düşük düzey ise G0 gruplarında 30. gün ve gün periyodunun tamamlandığı saat 07:00'de tespit edilmiştir (Tablo 22) ($p<0,05$).

TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Sirkadiyen sistem, vücut fonksiyonları için hayati öneme sahip olan ve yaklaşık 24 saatlik endojen ritimler üreten biyolojik döngülerdir. Sirkadiyen ritim, yaşamın her aşamasında etkin role sahip olmasının yanı sıra hayati organların günlük metabolizmasındaki düzenleyici rolü nedeniyle hayvanların sağlıklı büyümesi ve gelişimi için kritik öneme sahiptir (Zhang vd., 2022). Enerji metabolizması, uyku-uyanıklık döngüleri, vücut sıcaklığı, lokomotor aktivite, gastrointestinal sistem motilitesi, kardiyovasküler aktivite, endokrin sistem ve böbrek aktivitesi dahil olmak üzere fizyolojik ve davranışsal sistemlerin düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır (Reppert & Weaver, 2002; Panda vd., 2002; Finger & Kramer, 2021; Wang, Lutes vd., 2022).

Adipoz dokudan salgılanan apelin, G-protein-bağlı reseptör için bir ligand olmakla birlikte başta endokrin sistem, immun sistem, beslenmenin yanı sıra kardiyovasküler ve nöroendokrin fonksiyonlarının kontrolü ve düzenlenmesinde görevli adipokinlerden birisidir (Coquerel vd., 2021). Araştırma konumuz ile ilgili yapılan literatür taramasında, her ne kadar sınırlı kaynağa ulaşılmış olsa da çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar, mevcut diğer çalışmalarla uyum halindedir (Charles vd., 2006; Henley vd., 2009; Mercati vd., 2018; Coquerel vd., 2021). Bu durumun, canlı ağırlık artışı için gerekli enerjinin karşılanması amacıyla lipid mobilizasyonundaki artış ile akşam saatleri ve gece boyunca, vücudun enerji depolama ve kullanımındaki ihtiyaç düzeyinin değişkenlik göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Mevcut çalışmamızın 60. günü ve saat 19:00'da ölçülen G400 dozu uygulaması yapılan dönemde serum apelin düzeyinin artmasının, akşam saatlerinde insülin düzeylerinin artışına bağlı olarak yağ asidi oksidasyonunun artması ve apelin salınımını uyarması ile glukoz metabolizması ve enerji regülasyonu sağlamak amacıyla şekillendiği düşünülmektedir. Ayrıca, graviola meyve yağ ekstrelerinin literatürde bildirilen antioksidan, hepatik glukoz ve lipid metabolizması ile pankreas β hücreleri üzerindeki koruyucu rolü sayesinde serum apelin salınımındaki sirkadiyen ritmini etkileyerek şekillendiğini ön görmekteyiz.

İrisin, fibronektin tip III domain içeren protein 5 (FNDC5 / FRCP2 / PeP) olarak adlandırılan tip I membran proteini bölünmesinin ürünü ve kastan salınan myokin ve adipokindir (Boström vd., 2014). İrisin, VKS'nin düzenlenmesinde indikatör moleküldür (İnci & Aypak, 2016). Mevcut çalışma, kısıtlılık göstermekle birlikte, literatürde bildirilen araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Anadolu Merinosu koyunlarında irisin hormon yanıtı üzerinde VKS, laktasyon, gebelik, yaş ve cinsiyetin etkisinin incelendiği çalışmalarda en düşük ortalama serum irisin hormon düzeyleri VKS<2 grubunda bulunan genç hayvanlarda, en yüksek düzey ise VKS ≥ 4 grubunda yer alan yaşlı hayvanlarda belirlenmiştir. Böylece VKS değişimine

bağlı olarak farklı yaş, cinsiyet, gebelik ve laktasyon dönemlerinin serum irisin hormonu düzeyi üzerine etkisi ortaya konulmuştur (Saadatlou vd., 2013; Joung vd., 2015; Chang vd., 2020; Bayraktar & Tekce, 2021). Bu durum, irisinin, iskelet kasında glukoz metabolizmasının ve insülin duyarlılığını düzenleyici rolünü ön plana çıkarmıştır. Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre besi süresi sonunda günlük canlı ağırlık artışının en üst düzeyde olması, yani yaş ile kas kütlesinin artışı ve özellikle akşam ve gece boyunca metabolik sürecin düzenlenmesi amacıyla ve sirkadiyen ritimle uyumlu olarak serum irisin hormon salınımında artış şekillendiğini ön görmekteyiz. Ayrıca, graviola meyve yağ ekstresinin literatürde bildirilen hepatik glikoz ve lipid metabolizmasındaki düzenleyici rolü sayesinde serum irisin salınımındaki sirkadiyen ritmini etkileyerek şekillendiğini ön görmekteyiz.

İskelet kası, kasılmaya yanıt olarak "miyokinler" adı verilen yüzlerce salgılanmış peptidi ifade eden bir organ olarak kabul edilmektedir. Visfatin, 52 kDa moleküler ağırlığında insülinomimetik etkiye sahip adipoz doku tarafından salgılanan önemli bir adipokindir. İmmün sistem ve glukoz metabolizmasında rol alır (Pilz vd., 2007). Visfatin hepatositlerde glikojenolizi azaltarak, adipositlerde ve miyositlerde glukoz kullanımını uyarmaktadır (Adeghate, 2008). Serum visfatin düzeyi, canlı ağırlık artışını tahmin etmede kullanılmaktadır (Sitticharoon vd., 2014). Visfatin, iskelet kası metabolizmasını etkileyen bir miyokin gibi davranmaktadır (Krzysik-Walker vd., 2008). Elde ettiğimiz sonuçlar kısıtlı da olsa, konu ile benzer olarak planlanan literatürdeki diğer araştırmalarla karşılaştırdığımızda bulguların birbiri ile uyumlu olduğu görülmektedir (Lemor vd., 2010; Leander vd., 2012; Sitticharoon vd., 2014; Szymanska vd., 2023). Graviola yağ ekstresinin sahip olduğu biyoaktif bileşenlerin canlı ağırlık artışını teşvik etmesi (Nwogu vd., 2010) nedeniyle ve G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da en yüksek düzeyde serum visfatin düzeyindeki artışın gün içerisinde değişen metabolik süreçlere bağlı olarak enerji homeostazisinin sağlanmak amacıyla şekillendiğini düşünmekteyiz.

Melatonin, geceleri epifiz bezi tarafından salgılanan, immünostimülantör ve sitoprotektif etkiye sahip, uyku/uyanıklık döngüsünü, sirkadiyen ve mevsimsel ritimleri düzenleyen bir hormondur (Reiter, 1993; Megha vd., 2024). Bu hormonun üreme, gıda alımı, yağlanma ve vücut sıcaklığı dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte düzenleyici rolü bulunmaktadır (Bartness vd., 2013). Memelilerde, fotoperiyodik sinyal retinadan multisinaptik bir yol aracılığıyla pineal beze iletilmektedir (Simonneaux & Ribelayga, 2003). Koyunlar, mevsime bağlı poliöstrik hayvanlardır. Fotoperiyottaki doğal dalgalanmalar altında meydana gelen mevsimsel değişiklikler, melatonin seviyelerindeki değişikliklerle uyarılan tiroid hormonu aktivitesinin modülasyonu ile oluşmaktadır (Dardente vd., 2010). Gün uzunluğundaki bir azalma ve melatonin seviyelerindeki bir artış, hipofiz tiroid uyarıcı hormon (TSH)

salgılanmasında ve tiroid bezinde aktif triiyodotironin (T3) üretiminde bir azalmaya neden olmaktadır (Dardente vd., 2010; Ebling,2014). Gün uzunluğundaki artış ve melatonin seviyelerindeki azalma, TSH ve T3 seviyelerinde zıt değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişiklikler, uzun gün uzunluğunda canlı ağırlık artışı ve kısa gün uzunluğunda toplam metabolizmada bir azalma ile ilişkilidir (Ebling, 2014). Çalışmamızın sonuçları serum melatonin düzeyini arttığını bildiren araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Carcangiu vd., 2013; Wyse vd., 2018; Duan vd., 2024; Canto & Abecia, 2024; Kuzmenko vd., 2024). Araştırmamızın, G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat gece 01:00'da elde edilen sonuçları graviola yağ ekstresi içerisinde yer alan biyoaktif bileşenlerin canlı ağırlık artışını teşvik ettiği (Nwogu vd., 2010) ve ayrıca melatonin düzeyindeki artışın (özellikle geceleri salgılanan melatoninin) sirkadiyen ritmi düzenleyici rolünden kaynaklandığı şeklinde değerlendirilmektedir.

Dimerik bir protein olan BDNF başta beyin, hipokampus ve serebral korteks olmak üzere beyinde yaygın olarak bulunan polipeptit büyüme faktörlerinin nörotrofin ailesinin bir üyesidir (Hofer vd., 1990). BDNF, beyin hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan, dorsal ganglion nöronlarının hayatta kalmasını destekleyerek büyüme faktörü içerisinde yer alan ait bir nörotrofindir (Barde vd., 1982). BDNF'nin nöronal nöroplastisite, nöronal büyümenin uyarılması, sinaptik bağlantıların oluşumu ile nöroprotektif etkisi bulunmaktadır (Przybył vd., 2021). BDNF düzeyi stres, yaş, egzersiz, öğrenme, psikolojik bozukluk ve hastalık durumlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bath vd., 2013). İrisin, beyin çeşitli bölgelerinde bulunan BDNF üretimini indükler ve sirkadiyen ana saatte, BDNF için retinohipotalamik sinapstaki fotik uyarıları kapatmada önemli bir rol oynadığı ileri sürülmektedir (Wrann, 2015). Bulduğumuz sonuçlar, literatürde yer alan kısıtlı sayıdaki benzer araştırmaların sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Przybył vd., 2021; Roszkowicz-Ostrowska vd.,2022). Elde ettiğimiz verilerde en yüksek ortalama serum BDNF düzeylerinin G200 gruplarında, 60. gün ve saat 13:00 ve 19:00'da belirlenmesi, BDNF düzeyi ile sirkadiyen ritim arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Tropomyosin receptor kinase B (TrkB) reseptör sinyallemede delesyon şekillenmesi, canlı ağırlık artışında artışa neden olmaktadır (Pelleymounter vd., 1995). Bu durumun, BDNF'nin, koyunlarda somatotrofik eksen aktivitesini etkileyerek büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) üzerinde gösterdiği etkiden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Sirkadiyen saat, CLOCK-BMAL1 transkripsiyonel heterodimer aracılığıyla genomik düzeyde hareket ederek iç davranışsal ve fizyolojik ritimleri koordine etmektedir (Fonken & Nelson, 2014). BMAL1'in sirkadiyen ritim, görme, homeostaz, metabolizma, solunum sistemi, bağışıklık sistemi, büyüme ve iskelet sistemi gelişiminde önemli rolü bulunmaktadır (Cardone vd., 2005). Literatürde yer alan çalışmalar sınırlı sayıda olsa da G400 gruplarında, 60. günlerde

ve saat 13:00'da elde ettiğimiz sonuçlar, BMAL1 ile sirkadiyen ritim arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmaların sonuçları ile uyumludur (Lincoln vd., 2002; Varcoe vd., 2014). Ayrıca ekstrakt kullanılmayan gruplarda en düşük serum BMAL1 seviyesinin tespit edilmesi, rasyonlara ilave edilen graviola meyve yağ ekstresinin bileşiminde yer alan biyoaktif bileşiklerin sirkadiyen ritmi düzenleyerek BMAL1 seviyesini arttırdığını ön görmekteyiz.

Mitokondri, hücrelerin enerji santrali olarak adlandırılan tek ve önemli metabolik bir organeldir (Bayraktar vd., 2024). MOTS-c, mitokondriyal genomun 12S rRNA bölgesi tarafından kodlanan 16 amino asitten oluşan mitokondriyal türevli bir peptiddir. MOT-c, mitokondrinin fonksiyonel organel olarak rolü ve onlar tarafından üretilen sinyal molekülleri, hücresel enerji homeostazisi için kritik öneme sahiptir. Ayrıca, kas ve yağ fizyolojisini düzenleyerek metabolik sendromları terapötik etkiye sahiptir. MOTS-c, ana hedef organı iskelet kası olmakla birlikte hücresel eylemleri, folat döngüsünü ve ona bağlı de novo pürin biyosentezini inhibe ederek AMPK aktivasyonuna yol açmaktadır. MOTS-c, iskelet kasında AMPK'ye bağlı mekanizmaların aktivasyonu yoluyla glukoz kullanımını, insülin duyarlılığını ve metabolik homeostaziyi desteklemektedir (Lee vd., 2016). Araştırmamızda elde ettiğimiz serum MOTSc- BMCP1 düzeylerine ait sonuçları literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırdığımızda sonuçların benzer olduğu görülmüştür (Bayraktar vd., 2024). Elde edilen sonuçların, kuzu besisi ile kazanılan canlı ağırlık artışına bağlı olarak metabolik ve fizyolojik süreçler için gerekli enerjinin sağlanması amacıyla artan mitokondriyal fonksiyonlar neticesinde şekillendiğini ön görmekteyiz.

Kardiyak troponin (cTnI), kalsiyum aracılığıyla aktin ve miyosin arasındaki etkileşimi kontrol ederek miyokard kontraksiyonunda görev alan 22.5 kDa moleküler ağırlığa sahip kardiyak kas proteinidir. cTnI, kardiyak hasar sonrası yanıt olarak kardiyak miyositlerden plazmaya salınan, miyokardiyal hasar ve hastalıkların değerlendirilmesinde kullanılan kardiyospesifitesi yüksek bir kardiyak belirteçtir. Kuzu besisinde olduğu gibi tüm hayvanlarda yetersiz veya dengesiz beslenme, özellikle Na, K, Ca gibi elektrolitlerin dengesizliği, kardiyak sorunlara neden olabilmektedir. Bu nedenle cTnI düzeylerinin değerlendirilerek incelenmesi, kuzu besisi uygulamalarında kardiyak sorunların önlenmesi, besleme stratejilerinin dikkatli bir şekilde planlanması ve hayvanların genel sağlık durumlarının izlenmesinde önemli parametrelerden birisidir. Koyunlarda cTnI seviyesi üzerindeki etkisinin incelendiği araştırmalar bulunsada kuzu besisinde farklı oranda graviola meyve yağ ekstresi kullanımının kardiyoprotektif etkisi ve serum cTnI düzeyinin incelendiği herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Çalışmamızın sonuçları literatürde bildirilen referans değerleri içerisinde olduğu ve serum cTnI düzeyini bildirilen araştırma sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (Jardine vd., 2005; Jonker & Louey, 2024). Mevcut çalışmada besiye alınan kuzuların büyüme

ve kas artışına bağlı olarak cTnI konsantrasyonlarında hafif artış gözlemlenmiş ancak bu parametrenin literatürde sunulan referans değerler aralığında olması nedeniyle önemli kardiyak hasarın olmadığı kanaatine varılmıştır.

Bağırsak, vücuttaki en büyük endokrin organdır ve 30'dan fazla farklı düzenleyici peptid hormonu salgılamaktadır. Bağırsak hormonların bir kısmı bağırsak besin içeriği tarafından uyarılır ve kısa ve orta vadeli açlık ve tokluk hislerini etkilemek için 'bağırsak-beyin eksen'i'ndeki çeşitli noktadaki reseptörlerle etkileşime girmektedir. Proglukagon, pankreas adacıklarının α hücrelerinde, distal bağırsağın L hücrelerinde ve MSS'de üretilen 160 amino asitli bir prohormondur. GLP-1, alınan kaloriyle orantılı, pankreas β -hücrelerinden glukozu indükleyerek insülin sekresyonunu tetikleyerek insülinotropik etki gösteren bir inkretin hormon olup, esas olarak distal ileum ve kolonda bulunan intestinal endokrin L hücrelerinden salgılanmaktadır (Ørskov vd., 1994). GLP-1, G-protein bağlı GLP-1 reseptörüne bağlanarak etki etmektedir (Thorens vd., 1993). GLP-1, yemek sonrası artan glikoz bağımlı insülin salınımına bağlı olarak glukagon salgılanmasını inhibe eder ve mide boşalmasını geciktirerek iştah kontrolünde rol alır (Gutniak vd., 1992). GLP-2, enteroendokrin L hücrelerinden salgılanan 33 amino asitli bir proglukagon türevli bir hormondur. Graviola, yüksek antioksidan içeriği ve antiinflamatuvar özelliği ile lif içeriğince zengin olması nedeniyle bağırsak sağlığını destekleyici etkiye sahip bir meyvedir. Diğer yandan immün sistemi güçlendirerek bağırsak florası düzenlenmesinde kullanılmaktadır (Idrissa vd., 2022). Bağırsak hormonları GLP-1 ve GLP-2, bağırsak mukozasını korur ve bağırsak hücrelerinin büyümesini teşvik eder (Cani vd., 2009). Elde edilen sonuçlar literatürdeki az sayıda çalışma ile kıyaslandığında, sonuçların birbirini doğruladığı görülmektedir (Lincoln vd., 2002; Varcoe vd., 2014). Ortalama serum GLP-1 ve GLP-2 düzeylerinin G400 gruplarında, 60. günlerde ve saat 19:00'da en yüksek bulunmasının, Graviola meyve yağ ekstresinin antioksidan, antienflamatuvar etkileri, içeriğindeki zengin lif içeriği ve biyoaktif bileşikler sayesinde bağırsak fonksiyonu üzerindeki etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Yemden yararlanma oranı, hayvanların tükettikleri yem miktarına karşılık elde ettikleri canlı ağırlık artışını veya ürün verimini gösteren bir ölçü olmakla birlikte hayvan beslemede verimliliği değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir parametredir. Araştırmamız, Graviola meyve ekstresi kullanımının yemden yararlanma oranı üzerine etkisinin incelendiği ilk çalışmadır. Bununla birlikte, elde edilen sonuçlar literatürde sınırlı bulunan benzer araştırma sonuçlarıyla uyumludur (de Lima Júnior vd., 2014; Chukwunomso Jiwuba vd., 2020). Edilen verilerin istatistiksel analizi sonucu yemden yararlanma oranı bakımından en yüksek skorun rasyona ekstrakt ilave edilen gruplarda olmasına gerekçe olarak graviola yağ ekstresi

içerisindeki biyoaktif bileşenler sayesinde canlı ağırlık artışını teşvik etmesinden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Kuzularda canlı ağırlık artışı, kuzuların besi performansının değerlendirilmesinde bilgi sağlamaktadır. Graviola, canlı ağırlık artışının sağlanması ile hayvanların sağlık durumunun iyileştirilmesi amacıyla keçi besleme programına dahil edilmesi gerektiğini bildirilmiştir (Chukwunonso Jiwuba vd., 2020). Canlı ağırlık artışı ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlar sınırlı literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur (de Lima Júnior vd., 2014; Chukwunonso Jiwuba vd., 2020). Graviola ilavesinin canlı ağırlık artışı üzerine özellikle G400 ve G600 gruplarında olduğu, özellikle 0-60 gün aralığında bakıldığında canlı ağırlık artışının an iyi sonuçlarının G400 dozunda etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçların, Graviola yağ ekstresi içerisinde bulunan biyoaktif bileşenlerin, iştahı arttırarak canlı ağırlık artışını teşvik etmesinden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz.

Nabız, kalbin atışlarının damar duvarlarında yarattığı basınç dalgalarının hissedilmesiyle oluşan bir ölçümdür. Genellikle bilek, boyun veya diğer bölgelerde hissedilir. Nabız, kalp atış hızı, ritmi ve düzeni hakkında bilgi verir ve genellikle sağlık durumunun değerlendirilmesinde önemli bir parametredir (Salvi, 2012). Sirkadiyen ritim, kalp atış hızını etkiler. Vücudun enerji harcaması ve dinlenme durumuna bağlı olarak genellikle sabah saatlerinde nabız daha düşükken, akşam ve gece saatlerinde artış gösterebilmektedir (Pavone vd., 2013). Solunum sayısı, bir bireyin bir dakikada yaptığı nefes alıp verme sayısını ifade etmektedir. Solunum sayısı, vücudun oksijen ihtiyacını ve karbondioksit atımını düzenleyen önemli bir göstergedir (Cretikos vd., 2008). Sirkadiyen ritim, solunum hızını da etkilemektedir. Metabolik ihtiyaca bağlı olarak genellikle uyanırken solunum sayısı daha yüksek seviyelerde iken, uyku sırasında bu sayıda düşüşler görülmektedir (Brink vd., 2006). Vücut sıcaklığı, vücutta üretilen ısı ile tüketilen ısı arasındaki dengedir. Vücut sıcaklığı, metabolizma ve enerji harcanmasına bağlı olarak gün içinde değişmektedir. Genellikle sabah saatlerinde en düşük seviyede iken, akşam saatlerinde en yüksek düzeydedir (Morrison, 2016). Graviola meyve yağ ekstresi, sirkadiyen ritmi destekleyerek, nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığı gibi parametrelerin düzenlenmesine yardımcı olabilmektedir. Araştırmamızda elde edilen, nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığına dair veriler, literatürde yer alan az sayıdaki diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur (Kumar & Lincoln, 1995; Piccione vd., 2008; De vd., 2017; Wyse vd., 2018). Sirkadiyen ritim, nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığı gibi fizyolojik parametreler üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu durumun, graviola meyve yağ ekstresi içeriğinde yer alan fito bileşiklerin, sirkadiyen ritmin korunması açısından önemli nabız, solunum sayısı ve vücut sıcaklığı gibi fizyolojik parametreleri düzenlemesine bağlı olarak şekillendiğini ön görmekteyiz.

Sirkadiyen ritim, hayvan sağlığı ve büyümesi ile metabolizma üzerinde önemli etkilere sahiptir (Lin vd., 2018). Sirkadiyen ritim, adipokinler, enerji dengesi ve metabolizması üzerinde düzenleyici rol oynamaktadır. Enerji regölasyonu ve metabolik süreçlerde görevli adipokinlerden başlıcaları apelin, visfatin ve irisin hormonlarıdır. Ayrıca, MOTS-c ve BMCP1, hücrenin enerji santrali olarak tanımlanan mitokondri yani mitokondriyal fonksiyonunun değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır. Araştırmamızda besiye alınan kuzulara farklı oranlarda (200, 400 ve 600 ppm) verilen graviola meyvesi yağ ekstresinin besi performansı, 0., 15., 30., 45. ve 60. günlerindeki adipokin, kardiyak, serebral ve bağırsak yanıt ile mitokondriyal durumlarının sirkadiyen değişiminin incelenmiş ve bu konuda yapılan ilk çalışma olmuştur. Bu yönüyle kuzu besi döneminde fizyolojik yanıtların ve izahatların açıklanabilmesi adına büyük bir öneme sahiptir. Ayrıca ilgili parametreler, kuzu besi performansının değerlendirilmesi ve kuzuların sağlık durumu hakkında bilgiler de vermektedir. Araştırmamız sonucunda elde edilen verilerin kısıtlı sayıda literatür bulunan bu alana çok önemli katkı sunacağı düşünülmektedir. Ayrıca koyunculuk sektöründe uygulanan besleme programlarının geliştirilmesi ile etkinliğinin değerlendirilmesine de önemli katkı ve fayda sağlayabileceği öngörülmektedir.

KAYNAKÇA

- Aakre, K. M., Røraas, T., Petersen, P. H., Svarstad, E., Sellevoll, H., Skadberg, Ø., ... & Sandberg, S. (2014). Weekly and 90-minute biological variations in cardiac troponin T and cardiac troponin I in hemodialysis patients and healthy controls. *Clinical chemistry*, 60(6), 838-847.
- Abazari-Kia, A. H., Dehghani-Mohammadabadi, M., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., Zhandi, M., & Salehi, M. (2015). Regulation of embryonic development and apoptotic-related gene expression by brain-derived neurotrophic factor in two different culture conditions in ovine. *Theriogenology*, 84(1), 62-69.
- Adams 3rd, J. E., Bodor, G. S., Davila-Roman, V. G., Delmez, J. A., Apple, F. S., Ladenson, J. H., & Jaffe, A. S. (1993). Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*, 88(1), 101-106.
- Adeghate, E. (2008). Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions. *Current Medicinal Chemistry*, 15(18), 1851-1862.
- Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11(8), 327-332.
- Akladios, A., Azzam, S., Hu, Y., & Feng, P. (2018). Bmal1 knockdown suppresses wake and increases immobility without altering orexin A, corticotrophin-releasing hormone, or glutamate decarboxylase. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 24(6), 549-563.
- Alderson, R. F., Alterman, A. L., Barde, Y. A., & Lindsay, R. M. (1990). Brain-derived neurotrophic factor increases survival and differentiated functions of rat septal cholinergic neurons in culture. *Neuron*, 5(3), 297-306.
- Andrews, J. L., Zhang, X., McCarthy, J. J., McDearmon, E. L., Hornberger, T. A., Russell, B., ... & Esser, K. A. (2010). CLOCK and BMAL1 regulate MyoD and are necessary for maintenance of skeletal muscle phenotype and function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(44), 19090-19095.
- Arbabi, L., Li, Q., Henry, B. A., & Clarke, I. J. (2021). Glucagon-like peptide-1 control of GnRH secretion in female sheep. *Journal of Endocrinology*, 248(3), 325-335.
- Auger, R. R., Burgess, H. J., Emens, J. S., Deriy, L. V., Thomas, S. M., & Sharkey, K. M. (2015). Clinical practice guideline for the treatment of intrinsic circadian rhythm sleep-wake disorders: advanced sleep-wake phase disorder (ASWPD), delayed sleep-wake phase disorder (DSWPD), non-24-hour sleep-wake rhythm disorder (N24SWD), and irregular sleep-wake rhythm disorder (ISWRD). An update for 2015: an American Academy of Sleep Medicine clinical practice guideline. *Journal of clinical sleep medicine*, 11(10), 1199-1236.
- Badness, T. J., Powers, J. B., Hastings, M. H., Bittman, E. L. & Goldman, B. D. (1993). The timed infusion paradigm for melatonin delivery: what has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses? *Journal of Pineal Research*, 15(4), 161-190.
- Barbosa, W. C., de Nazaré, R. F. R. & Hashimoto, K. (1981). Estudo bromatológico e tecnológico da graviola e do taperebá. *EMBRAPA/CPATU, Boletim de Pesquisa* 1(32), 1-16.
- Barde, Y. A., Edgar, D. & Thoenen, H. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *The EMBO Journal*, 1(5), 549-553.

- Bartness, T. J., Bradley, M. H. & Hastings, E. L. Bittman, and Goldman, B.D. (1993). The timed infusion paradigm for melatonin delivery: What has it taught us about the melatonin signal, its reception, and the photoperiodic control of seasonal responses. *J. Pineal Res*, 15, 161-190.
- Wrann, C. D. (2015). FNDC5/Irisin—their role in the nervous system and as a mediator for beneficial effects of exercise on the brain. *Brain Plasticity*, 1(1), 55-61.
- Basbugan, Y., Agaoglu, Z., & Yuksek, N. (2010). An investigation on serum troponin concentration in healthy ruminants. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(4).
- Bath, K. G., Schilit, A., & Lee, F. S. (2013). Stress effects on BDNF expression: effects of age, sex, and form of stress. *Neuroscience*, 239, 149-156.
- Bayraktar, B. & Tekce, E. (2021). Anadolu Merinoslarında İrisin hormon yanıtı üzerine bazı fizyolojik parametrelerin etkisi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 32(2), 145-150.
- Bayraktar, B., DEMİR, N., & Aksakal, V. (2024). The Relationship of Mitochondrial-derived Peptide (MOTS-c) and Brain Mitochondrial Carrier Protein 1 (BMCP1) Response in Sheep with Some Physiological Parameters. *Indian Journal of Animal Research*, 58(6).
- Bayraktar, B., Tekce, E., Aksakal, V., Takma, Ç., Bayraktar, F. G., & Şengül, B. (2020). Effects of Race, Gender, Body Condition Score and Pregnancy on Serum Apelin Levels in Ewe. *Journal of Agricultural Sciences*, 26(3), 363-372.
- Bayraktar, B., Sait, A., Takma, Ç., & Tekce, E. (2020). Investigation of the relationship of apelin hormone response with some physiological parameters in Maedi-Visna infected sheep. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 71(4), 2539-2548.
- Beckett, M., & Roden, L. C. (2009). Mechanisms by which circadian rhythm disruption may lead to cancer. *South African Journal of Science*, 105(11), 415-420.
- Benedict, C., Shostak, A., Lange, T., Brooks, S. J., Schiöth, H. B., Schultes, B., ... & Hallschmid, M. (2012). Diurnal rhythm of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt/visfatin/PBEF): impact of sleep loss and relation to glucose metabolism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(2), E218-E222.
- Bhatnagar, A., Puppala, A., Rankawat, S., Ray, S., & Ray, S. (2024). Role of circadian rhythms in metabolic syndrome. In *Metabolic Syndrome* (pp. 199-218). Academic Press.
- Biancolin, A. D., Martchenko, A., Mitova, E., Gurges, P., Michalchyshyn, E., Chalmers, J. A., ... & Brubaker, P. L. (2020). The core clock gene, Bmal1, and its downstream target, the SNARE regulatory protein secretagogin, are necessary for circadian secretion of glucagon-like peptide-1. *Molecular Metabolism*, 31, 124-137.
- Bjorvatn, B., & Pallesen, S. (2009). A practical approach to circadian rhythm sleep disorders. *Sleep Medicine Reviews*, 13(1), 47-60.
- Bleier, J., Vorderwinkler, K. P., Falkensammer, J., Mair, P., Dapunt, O., Puschendorf, B., & Mair, J. (1998). Different intracellular compartmentations of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage. *Clinical Chemistry*, 44(9), 1912-1918.
- Boss, O., Samec, S., Paoloni-Giacobino, A., Rossier, C., Dulloo, A., Seydoux, J., ... & Jacobino, J. P. (1997). Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression. *FEBS Letters*, 408(1), 39-42.

- Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M. P., Korde, A., Ye, L., Lo, J. C., ... & Spiegelman, B. M. (2012). A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 481(7382), 463-468.
- Boström, P. A., Fernández-Real, J. M., & Mantzoros, C. (2014). Irisin in humans: recent advances and questions for future research. *Metabolism-Clinical and Experimental*, 63(2), 178-180.
- Bradford, P. G., & Awad, A. B. (2010). Modulation of signal transduction in cancer cells by phytosterols. *Biofactors*, 36(4), 241-247.
- Brigadski, T., & Leßmann, V. (2020). The physiology of regulated BDNF release. *Cell and Tissue Research*, 382(1), 15-45.
- Brink, M., Müller, C. H., & Schierz, C. (2006). Contact-free measurement of heart rate, respiration rate, and body movements during sleep. *Behavior Research Methods*, 38(3), 511-521.
- Brown, M. R., & Matveyenko, A. V. (2020). Biological timekeeping: Scientific background. *Circadian rhythm sleep-wake disorders: An evidence-based guide for clinicians and investigators*, 1-20.
- Buğdaycı, B., Atav, R., & İhsan Soysal, M. Dünya Merinos Irkları ve Bunların Genel Özellikleri. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 6(1), 45-63.
- Cagnacci, A., Elliott, J. A., & Yen, S. S. (1992). Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 75(2), 447-452.
- Campos, D. B., Palin, M. F., Bordignon, V., & Murphy, B. D. (2008). The 'beneficial' adipokines in reproduction and fertility. *International Journal of Obesity*, 32(2), 223-231.
- Cani, P. D., Possemiers, S., Van de Wiele, T., Guiot, Y., Everard, A., Rottier, O., ... & Delzenne, N. M. (2009). Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*, 58(8), 1091-1103.
- Cannon, B., & Nedergaard, J. A. N. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews*.
- Canto, F., & Abecia, J. A. (2024). Effects of melatonin implants in late gestation and at lambing on colostrum and milk quality of ewes, birth temperature and growth performance of their lambs. *Small Ruminant Research*, 232, 107210.
- Carcangiu, V., Luridiana, S., Mura, M. C., Parmeggiani, A., Giannetto, C., Congiu, F., & Piccione, G. (2014). Melatonin circadian rhythm in three livestock species maintained in the same housed conditions. *Biological Rhythm Research*, 45(6), 909-914.
- Carcangiu, V., Mura, M. C., Parmeggiani, A., Piccione, G., Bini, P. P., Cosso, G., & Luridiana, S. (2013). Daily rhythm of blood melatonin concentrations in sheep of different ages. *Biological Rhythm Research*, 44(6), 908-915.
- Cardone, L., Hirayama, J., Giordano, F., Tamaru, T., Palvimo, J. J., & Sassone-Corsi, P. (2005). Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. *Science*, 309(5739), 1390-1394.
- Castillo-Quan, J. I. (2012). From white to brown fat through the PGC-1 α -dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Disease Models & Mechanisms*, 5(3), 293-295.

- Champy, P., Melot, A., Guérineau Eng, V., Gleye, C., Fall, D., Höglinger, G. U., ... & Hocquemiller, R. (2005). Quantification of acetogenins in *Annona muricata* linked to atypical parkinsonism in Guadeloupe. *Movement Disorders: Official Journal of the Movement Disorder Society*, 20(12), 1629-1633.
- Chang, E. I., Rozance, P. J., Wesolowski, S. R., Nguyen, L. M., Shaw, S. C., Sclafani, R. A., ... & Brown, L. D. (2020). Rates of myogenesis and myofiber numbers are reduced in late gestation IUGR fetal sheep. *Journal of Endocrinology*, 244(2), 339-352.
- Charles, C. J., Rademaker, M. T. & Richards, A. M. (2006). Hemodynamic, hormonal, and renal actions of adrenomedullin-2 in normal conscious sheep. *Endocrinology*, 147(4), 1871-1877.
- Cheng, B., Chen, J., Bai, B. & Xin, Q. (2012). Neuroprotection of apelin and its signaling pathway. *Peptides*, 37(1), 171-173.
- Choi, Y. K., Kim, M. K., Bae, K. H., Seo, H. A., Jeong, J. Y., Lee, W. K., ... & Park, K. G. (2013). Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 100(1), 96-101.
- Chua, E. C. P., Shui, G., Lee, I. T. G., Lau, P., Tan, L. C., Yeo, S. C., ... & Gooley, J. J. (2013). Extensive diversity in circadian regulation of plasma lipids and evidence for different circadian metabolic phenotypes in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(35), 14468-14473.
- Chukwunonso Jiwuba, P. D., Azodo, L. N., & Uzoma, C. (2020). Nutritional and phytogetic properties of soursop (*Annona muricata*) leaf meal on the productive and physiological performances of West African Dwarf goats.
- Coiffard, B., Diallo, A. B., Mezouar, S., Leone, M. & Mege, J. L. (2021). A tangled threesome: circadian rhythm, body temperature variations, and the immune system. *Biology*, 10(1), 65.
- Colitti, M. (2015). Expression of NGF, BDNF and their high-affinity receptors in ovine mammary glands during development and lactation. *Histochemistry and Cell Biology*, 144, 559-570.
- Coquerel, D., Delile, E., Dumont, L., Chagnon, F., Murza, A., Sainsily, X., ... & Lesur, O. (2021). Gai-biased apelin analog protects against isoproterenol-induced myocardial dysfunction in rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 320(4), H1646-H1656.
- Coria-Téllez, A. V., Montalvo-González, E., Yahia, E. M. & Obledo-Vázquez, E. N. (2018). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(5), 662-691.
- Crampton, E. W.; Maynard, L. A. The relation of cellulose and lignin content to the nutritive value of animal feeds. *The Journal of Nutrition*, 1938, 15.4: 383-395.
- Cretikos, M. A., Bellomo, R., Hillman, K., Chen, J., Finfer, S. & Flabouris, A. (2008). Respiratory rate: the neglected vital sign. *Medical Journal of Australia*, 188(11), 657-659.
- Dardente, H., Wyse, C. A., Birnie, M. J., Dupré, S. M., Loudon, A. S., Lincoln, G. A. & Hazlerigg, D. G. (2010). A molecular switch for photoperiod responsiveness in mammals. *Current Biology*, 20(24), 2193-2198.

- Davies, D. H., Dungworth, D. L., Humphreys, S. & Johnson, A. J. (1977). Concurrent infection of lambs with parainfluenza virus type 3 and *Pasteurella haemolytica*. *New Zealand Veterinary Journal*, 25(10), 263-265.
- de Lima Júnior, D. M., de Carvalho, F. F., Clementino, R. H., Batista, Â. M., Maciel, M. V., Ferreira, J. C., & Neto, J. D. P. (2014). Performance of sheep fed on annatto byproduct. *Italian Journal of Animal Science*, 13(3), 3147.
- De, K., Kumar, D., Saxena, V. K., & Naqvi, S. M. K. (2017). Study of circadian rhythmicity of physiological response and skin temperature of sheep during summer and winter in semi-arid tropical environment. *Physiology & Behavior*, 169, 16-21.
- DeWolf, B. D., Peregrine, A. S., Jones-Bitton, A., Jansen, J. T., MacTavish, J. & Menzies, P. I. (2012). Distribution of, and risk factors associated with, sheep carcass condemnations due to *Cysticercus ovis* infection on Canadian sheep farms. *Veterinary Parasitology*, 190(3-4), 434-441.
- Drucker, D. J. (1998). Glucagon-like peptides. *Diabetes*, 47(2), 159-169.
- Drucker, D. J. (2002). Gut adaptation and the glucagon-like peptides. *Gut*, 50(3), 428-435.
- Drucker, D. J. & Nauck, M. A. (2006). The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *The Lancet*, 368(9548), 1696-1705.
- Duan, H., Yang, S., Xiao, L., Yang, S., Yan, Z., Wang, F., ... & Zhao, X. (2024). Melatonin promotes progesterone secretion in sheep luteal cells by regulating autophagy via the AMPK/mTOR pathway. *Theriogenology*, 214, 342-351.
- Dunlap, J. C. (1999). Molecular bases for circadian clocks. *Cell*, 96(2), 271-290.
- Dyar, K. A., Ciciliot, S., Wright, L. E., Biensø, R. S., Tagliazucchi, G. M., Patel, V. R., ... & Schiaffino, S. (2014). Muscle insulin sensitivity and glucose metabolism are controlled by the intrinsic muscle clock. *Molecular metabolism*, 3(1), 29-41.
- Ebling, F. J. (2014). On the value of seasonal mammals for identifying mechanisms underlying the control of food intake and body weight. *Hormones and Behavior*, 66(1), 56-65.
- Edelmann, E., Leßmann, V., & Brigadski, T. (2014). Pre-and postsynaptic twists in BDNF secretion and action in synaptic plasticity. *Neuropharmacology*, 76, 610-627.
- Enerbäck, S., Jacobsson, A., Simpson, E. M., Guerra, C., Yamashita, H., Harper, M. E. & Kozak, L. P. (1997). Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold-sensitive but not obese. *Nature*, 387(6628), 90-94.
- Faraci, F. M. & Scheer, F. A. (2024). Hypertension: causes and consequences of circadian rhythms in blood pressure. *Circulation Research*, 134(6), 810-832.
- Finger, A. M., & Kramer, A. (2021). Mammalian circadian systems: Organization and modern life challenges. *Acta Physiologica*, 231(3), e13548.
- Fleury, C., Neverova, M., Collins, S., Raimbault, S., Champigny, O., Levi-Meyrueis, C., ... & Warden, C. H. (1997). Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nature Genetics*, 15(3), 269-272.
- Fonken, L. K. & Nelson, R. J. (2014). The effects of light at night on circadian clocks and metabolism. *Endocrine Reviews*, 35(4), 648-670.
- Forcada, F., Abecia, J. A., Casao, A., Cebrian-Perez, J. A., Muino-Blanco, T. & Palacín, I. (2007). Effects of ageing and exogenous melatonin on pituitary responsiveness to GnRH in ewes during anestrus and the reproductive season. *Theriogenology*, 67(4), 855-862.

- Frühbeck, G., Gómez-Ambrosi, J., Muruzábal, F. J. & Burrell, M. A. (2001). The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 280(6), E827-E847.
- Fukuhara, A., Matsuda, M., Nishizawa, M., Segawa, K., Tanaka, M., Kishimoto, K., ... & Shimomura, I. (2005). Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*, 307(5708), 426-430.
- Garde, E., Kutz, S., Schwantje, H., Veitch, A., Jenkins, E., & Elkin, B. (2005). Examining the risk of disease transmission between wild Dall's sheep and mountain goats, and introduced domestic sheep, goats, and llamas in the Northwest Territories. *Other Publications in Zoonotics and Wildlife Disease*, 29.
- Gerhold, L. M., Horvath, T. L. & Freeman, M. E. (2001). Vasoactive intestinal peptide fibers innervate neuroendocrine dopaminergic neurons. *Brain Research*, 919(1), 48-56.
- Germplasm Resources Information Network (GRIN) (1997-07-11). Taxon: *Annona muricata* L. Taxonomy for Plants. USDA, ARS, National Genetic Resources Program, National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Retrieved 2008-04-18.
- Giannetto, C., Casella, S., Caola, G. & Piccione, G. (2010). Photic and non-photic entrainment on daily rhythm of locomotor activity in goats. *Animal Science Journal*, 81(1), 122-128.
- Giannopoulou, I., Pagida, M. A., Briana, D. D., & Panayotacopoulou, M. T. (2018). Perinatal hypoxia as a risk factor for psychopathology later in life: the role of dopamine and neurotrophins. *Hormones*, 17, 25-32.
- Gnocchi, D. & Bruscalupi, G. (2017). Circadian rhythms and hormonal homeostasis: pathophysiological implications. *Biology*, 6(1), 10.
- Goering, H. K. & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications) (No. 379). *US Agricultural Research Service*.
- Goldman, B. D. (2001). Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of biological rhythms*, 16(4), 283-301.
- Gourdy, P., Cazals, L., Thalamas, C., Sommet, A., Calvas, F., Galitzky, M., ... & Valet, P. (2018). Apelin administration improves insulin sensitivity in overweight men during hyperinsulinaemic-euglycaemic clamp. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20(1), 157-164.
- Guo, Y. F. & Stein, P. K. (2003). Circadian rhythm in the cardiovascular system: chronocardiology. *American Heart Journal*, 145(5), 779-786.
- Gutniak, M., Ørskov, C., Holst, J. J., Åhrén, B. & Efendić, S. (1992). Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 326(20), 1316-1322.
- Güneş, V., Ozcan, K., Cital, M., Onmaz, A. C. & Erdogan, H. M. (2010). Detection of myocardial degeneration with point-of-care cardiac troponin assays and histopathology in lambs with white muscle disease. *The Veterinary Journal*, 184(3), 376-378.
- Han, Q., He, X., Di, R. & Chu, M. (2021). Comparison of expression patterns of six canonical clock genes of follicular phase and luteal phase in Small-tailed Han sheep. *Archives Animal Breeding*, 64(2), 457-466.
- Hasegawa, S., Fukushima, H., Hosoda, H., Serita, T., Ishikawa, R., Rokukawa, T., ... & Kida, S. (2019). Hippocampal clock regulates memory retrieval via Dopamine and PKA-induced GluA1 phosphorylation. *Nature Communications*, 10(1), 5766.

- Henley, D. E., Buchanan, F., Gibson, R., Douthwaite, J. A., Wood, S. A., Woltersdorf, W. W., ... & Lightman, S. L. (2009). Plasma apelin levels in obstructive sleep apnea and the effect of continuous positive airway pressure therapy. *Journal of Endocrinology*, 203(1), 181.
- Higuera, J. M. D., Santos, H. M., Oliveira, A. F. D. & Nogueira, A. R. A. (2021). Bioaccessibility Assessment of Cu, Fe, K, Mg, P, and Zn in Thermally Treated Lamb Meat. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 32, 2111-2119.
- Hofer, M., Pagliusi, S. R., Hohn, A., Leibrock, J. & Barde, Y. A. (1990). Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the adult mouse brain. *The EMBO journal*, 9(8), 2459-2464.
- Holst, J. J. (1999). Glucagon-like peptide 1 (GLP-1): An intestinal hormone, signalling nutritional abundance, with an unusual therapeutic potential. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 10(6), 229-235.
- Holst, J. J. (2007). The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiological reviews*, 87(4), 1409-1439.
- Hore, D. E., Stevenson, R. G., Gilmour, N. J. L., Vantsis, J. T. & Thompson, D. A. (1968). Isolation of parainfluenza virus from the lungs and nasal passages of sheep showing respiratory disease. *Journal of Comparative Pathology*, 78(2), 259-265.
- Horvath, T. L., Cela, V. & van der Beek, E. M. (1998). Gender-specific apposition between vasoactive intestinal peptide-containing axons and gonadotrophin-releasing hormone-producing neurons in the rat. *Brain Research*, 795(1-2), 277-281.
- Hug, C. & Lodish, H. F. (2005). Visfatin: a new adipokine. *Science*, 307(5708), 366-367.
- Hunt, T., & Sassone-Corsi, P. (2007). Riding tandem: circadian clocks and the cell cycle. *Cell*, 129(3), 461-464.
- Hussain, R., Mahmood, F., Ali, H. M. & Siddique, A. B. (2017). Bacterial, PCR and clinico-pathological diagnosis of naturally occurring pneumonic pasturellosis (mannheimiosis) during subtropical climate in sheep. *Microbial Pathogenesis*, 112, 176-181.
- Idrissa, A. Z., Ndombe, R. T., Mukeba, F. B., Mulonda, A. B., Mokekola, B. E., & Muanda, F. N. (2022). Endogenous knowledge of traditional healers on plants used against hepatitis in Mbandaka/DR Congo. *OARJ Life Sci*, 4(01), 001-10.
- İnci, A. & Aypak, S. Ü. (2016). İrisin ve metabolik etkileri. *Turkiye Klinikleri Journal of Endocrinology*, 11(1), 15-21.
- Jardine, D. L., Charles, C. J., Ashton, R. K., Bennett, S. I., Whitehead, M., Frampton, C. M. & Nicholls, M. G. (2005). Increased cardiac sympathetic nerve activity following acute myocardial infarction in a sheep model. *The Journal of physiology*, 565(1), 325-333.
- Javeed, N. & Matveyenko, A. V. (2018). Circadian etiology of type 2 diabetes mellitus. *Physiology*, 33(2), 138-150.
- Jesse, T. G., Becer, E. & Kalkan, R. (2024). Identification of the Relationship Between DNA Methylation of Circadian Rhythm Genes and Obesity. *Biochemical Genetics*, 62(1), 281-293.
- Jiwuba, P. C., Kuka, T. T., Kadurumba, O. E., & Nwachukwu, C. O. (2017). Evaluation of haematological and serum biochemical characteristics of *Annona muricata* (Sour Sop) leaf extract on broiler birds. *Int. J. Res. Stud. Microbiol. Biotechnol*, 3, 6-11.

- Johnston, J. D. & Skene, D. J. (2015). 60 years of neuroendocrinology: regulation of mammalian neuroendocrine physiology and rhythms by melatonin. *Journal of Endocrinology*, 226(2), T187-T198.
- Jonker, S. S. & Louey, S. (2024). Fetal cardiac troponin I levels decline toward birth in sheep. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 326(6), H1538-H1543.
- Joung, K. E., Park, K. H., Filippaios, A., Dincer, F., Christou, H. & Mantzoros, C. S. (2015). Cord blood irisin levels are positively correlated with birth weight in newborn infants. *Metabolism*, 64(11), 1507-1514.
- Junior, F. R. L., Osiro, L., & Carpinetti, L. C. R. (2014). A comparison between Fuzzy AHP and Fuzzy TOPSIS methods to supplier selection. *Applied Soft Computing*, 21, 194-209.
- Kabir, F., Haque, S. A., & Haque, K. M. G. (2018). Serum visfatin levels estimated in overweight individuals. *Anwer Khan Modern Medical College Journal*, 9(2), 91-95.
- Karasek, M. (2007). Does melatonin play a role in aging processes? *Journal Of Physiology And Pharmacology*, 58(6), 105-113.
- Karasek, M. & Reiter, R. J. (2002). Melatonin and aging. *Neuroendocrinology Letters*, 23, 14-16.
- Kieffer, T. J. & Francis Habener, J. (1999). The glucagon-like peptides. *Endocrine Reviews*, 20(6), 876-913.
- Kim, K. H., Son, J. M., Benayoun, B. A. & Lee, C. (2018). The mitochondrial-encoded peptide MOTS-c translocates to the nucleus to regulate nuclear gene expression in response to metabolic stress. *Cell Metabolism*, 28(3), 516-524.
- Klinkenberg, L. J., van Dijk, J. W., Tan, F. E., van Loon, L. J., van Dieijen-Visser, M. P. & Meex, S. J. (2014). Circulating cardiac troponin T exhibits a diurnal rhythm. *Journal of the American College of Cardiology*, 63(17), 1788-1795.
- Koike, N., Yoo, S. H., Huang, H. C., Kumar, V., Lee, C., Kim, T. K. & Takahashi, J. S. (2012). Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals. *Science*, 338(6105), 349-354.
- Kover, K., Tong, P. Y., Watkins, D., Clements, M., Stehno-Bittel, L., Novikova, L., ... & Moore, W. V. (2013). Expression and regulation of nampt in human islets. *PLoS One*, 8(3), e58767.
- Krzysik-Walker, S. M., Ocón-Grove, O. M., Maddineni, S. R., Hendricks III, G. L. & Ramachandran, R. (2008). Is visfatin an adipokine or myokine? Evidence for greater visfatin expression in skeletal muscle than visceral fat in chickens. *Endocrinology*, 149(4), 1543-1550.
- Krzyzanowska, K., Krugluger, W., Mittermayer, F., Rahman, R., Haider, D., Shnawa, N. & Schernthaner, G. (2006). Increased visfatin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Clinical Science*, 110(5), 605-609.
- Kuka, T. T. & Anayo, P. (2017). Sour sop (*Annona muricata* L) leaf meal enhanced growth of West African Dwarf goats. *Nigerian Journal of Animal Production*, 44(5), 239-243.
- Kumar, V. & Lincoln, G. A. (1995). Effects of a one-hour light pulse on the timing of the circadian rhythm in melatonin secretion in rams. *Journal of Pineal Research*, 18(1), 21-27.

- Kurowska, P., Barbe, A., Różycka, M., Chmielińska, J., Dupont, J. & Rak, A. (2018). Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: a critical review. *International Journal of Endocrinology*, 2018(1), 9170480.
- Kuzmenko, N. V., Tsyrlin, V. A., Pliss, M. G. & Galagudza, M. M. (2024). Meta-Analysis of Experimental Studies of Diet-Dependent Effects of Melatonin Monotherapy on Body Weight Gain and Eating Behavior in Rats. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 60(2), 578-593.
- LaBarbera, V. A., & Sharkey, K. M. (2020). Review of protocols and terminology to enhance understanding of circadian-based literature. *Circadian rhythm sleep-wake disorders: An evidence-based guide for clinicians and investigators*, 21-27.
- LaHue, N. & Parish, S. (2015). Mannheimia haemolytica vegetative endocarditis in a Suffolk wether. *The Canadian Veterinary Journal*, 56(5), 484.
- Latha Laxmi, I. P., Job, A. T., Manickam, V. & Tamizhselvi, R. (2024). Intertwined relationship of dynamin-related protein 1, mitochondrial metabolism and circadian rhythm. *Molecular Biology Reports*, 51(1), 488.
- Leander, K., Gigante, B., Silveira, A., Vikström, M., Hamsten, A. & Högberg, J. (2012). NAMPT (visfatin) and AKT1 genetic variants associate with myocardial infarction. *Clinica Chimica Acta*, 413(7-8), 727-732.
- Lee, C., Kim, K. H. & Cohen, P. (2016). MOTS-c: a novel mitochondrial-derived peptide regulating muscle and fat metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*, 100, 182-187.
- Lee, J., Lee, Y., Lee, M. J., Park, E., Kang, S. H., Chung, C. H., ... & Kim, K. (2008). Dual modification of BMAL1 by SUMO2/3 and ubiquitin promotes circadian activation of the CLOCK/BMAL1 complex. *Molecular and Cellular Biology*, 28(19), 6056-6065.
- Lemor, A., Mielenz, M., Altmann, M., Von Borell, E. & Sauerwein, H. (2010). mRNA abundance of adiponectin and its receptors, leptin and visfatin and of G-protein coupled receptor 41 in five different fat depots from sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), e96-e101.
- Lewin, G. R. & Barde, Y. A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annual Review of Neuroscience*, 19(1), 289-317.
- Liang, F. Q., Walline, R. & Earnest, D. J. (1998a). Circadian rhythm of brain-derived neurotrophic factor in the rat suprachiasmatic nucleus. *Neuroscience Letters*, 242(2), 89-92.
- Liang, F. Q., Sohrabji, F., Miranda, R., Earnest, B. & Earnest, D. (1998b). Expression of brain-derived neurotrophic factor and its cognate receptor, TrkB, in the rat suprachiasmatic nucleus. *Experimental Neurology*, 151(2), 184-193.
- Lin, X., Liu, Y., Meng, T., Xie, C., Wu, X. & Yin, Y. (2018). Circadian calcium feeding regime in laying hens related to zinc concentration, gene expression of circadian clock, calcium transporters and oxidative status. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 518-526.
- Lincoln, G., Messenger, S., Andersson, H. & Hazlerigg, D. (2002). Temporal expression of seven clock genes in the suprachiasmatic nucleus and the pars tuberalis of the sheep: evidence for an internal coincidence timer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(21), 13890-13895.

- Lippi, G., Mattiuzzi, C. & Sanchis-Gomar, F. (2020). Updated overview on interplay between physical exercise, neurotrophins, and cognitive function in humans. *Journal of Sport and Health Science*, 9(1), 74-81.
- Liu, C., Li, S., Liu, T., Borjigin, J. & Lin, J. D. (2007). Transcriptional coactivator PGC-1 α integrates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature*, 447(7143), 477-481.
- Liu, C., Liu, Y., Xin, Y. & Wang, Y. (2022). Circadian secretion rhythm of GLP-1 and its influencing factors. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 991397.
- Liu, D., Nanclares, C., Simbriger, K., Fang, K., Lorsung, E., Le, N., ... & Cao, R. (2023). Autistic-like behavior and cerebellar dysfunction in Bmal1 mutant mice ameliorated by mTORC1 inhibition. *Molecular psychiatry*, 28(9), 3727-3738.
- Liu, S., Zhu, A., Pan, J., Ying, L., Sun, W., Wu, H., ... & Chen, E. (2022). The clinical and virological features of two children's coinfections with human adenovirus type 7 and human coronavirus-229E virus. *Frontiers in Public Health*, 10, 1048108.
- Lovshin, J., & Drucker, D. J. (2000). New frontiers in the biology of GLP-2. *Regulatory Peptides*, 90(1-3), 27-32.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. (2013). *Clinical Veterinary Microbiology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Martchenko, A. & Brubaker, P. L. (2021). Effects of obesogenic feeding and free fatty acids on circadian secretion of metabolic hormones: implications for the development of type 2 diabetes. *Cells*, 10(9), 2297.
- Martin, P. A. & Faulkner, A. (1996). Effects of somatostatin-28 on circulating concentrations of insulin and gut hormones in sheep. *Journal of Endocrinology*, 151(1), 107-112.
- Masoumi, J., Jafarzadeh, A., Khorramdelazad, H., Abbasloui, M., Abdolalizadeh, J. & Jamali, N. (2020). Role of Apelin/APJ axis in cancer development and progression. *Advances in Medical Sciences*, 65(1), 202-213.
- McNamara, P., Seo, S. B., Rudic, R. D., Sehgal, A., Chakravarti, D. & FitzGerald, G. A. (2001). Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock. *Cell*, 105(7), 877-889.
- Megha, K. B., Arathi, A., Shikha, S., Alka, R., Ramya, P. & Mohanan, P. V. (2024). Significance of melatonin in the regulation of circadian rhythms and disease management. *Molecular Neurobiology*, 1-31.
- Mercati, F., Maranesi, M., Dall'Aglio, C., Petrucci, L., Pasquariello, R., Tardella, F. M., ... & Scocco, P. (2018). Apelin system in mammary gland of sheep reared in semi-natural pastures of the central apennines. *Animals*, 8(12), 223.
- MGM (2024). Meteroloji Genel Müdürlüğü, <https://www.mgm.gov.tr/>
- Miyazaki, M., Schroder, E., Edelmann, S. E., Hughes, M. E., Kornacker, K., Balke, C. W., & Esser, K. A. (2011). Age-associated disruption of molecular clock expression in skeletal muscle of the spontaneously hypertensive rat. *PloS one*, 6(11), e27168.
- Mizuno, T., Miura-Suzuki, T., Yamashita, H. & Mori, N. (2000). Distinct regulation of brain mitochondrial carrier protein-1 and uncoupling protein-2 genes in the rat brain during cold exposure and aging. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 278(3), 691-697.
- Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M. & Kadir, H. A. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated

- acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15625-15658.
- Moreno-Navarrete Sanchis-Gomar, F., Lippi, G., Mayero, S., Perez-Quilis, C. & García-Giménez, J. L. (2012). Irisin: a new potential hormonal target for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 4(3).
- Morrison, S. F. (2016). Central control of body temperature. *F1000Research*, 5.
- Moschen, A. R., Kaser, A., Enrich, B., Mosheimer, B., Theurl, M., Niederegger, H. & Tilg, H. (2007). Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *The Journal of Immunology*, 178(3), 1748-1758.
- Naert, G., Ixart, G., Tapia-Arancibia, L. & Givalois, L. (2006). Continuous icv infusion of brain-derived neurotrophic factor modifies hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity, locomotor activity and body temperature rhythms in adult male rats. *Neuroscience*, 139(2), 779-789.
- Nakahata, Y., Sahar, S., Astarita, G., Kaluzova, M., & Sassone-Corsi, P. (2009). Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1. *Science*, 324(5927), 654-657.
- Nicholls, D. G. & Locke, R. M. (1984). Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiological Reviews*, 64(1), 1-64.
- Nonaka, H., Emoto, N., Ikeda, K., Fukuya, H., Rohman, M. S., Raharjo, S. B., ... & Yokoyama, M. (2001). Angiotensin II induces circadian gene expression of clock genes in cultured vascular smooth muscle cells. *Circulation*, 104(15), 1746-1748.
- Nwogu, L. A., Igwe, C. U. and Emejulu, A. A. (2010): Effects of *Landolphia owariensis* on the Liver function profile and haemoglobin concentration of albino rats. *African Journal of Biochemistry Research*, 2(12): 240-242.
- O'Carroll, A. M., Lolait, S. J., Harris, L. E., & Pope, G. R. (2013). The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrinol*, 219(1), R13-35.
- Ognjanovic, S., Ku, T. L. & Bryant-Greenwood, G. D. (2005). Pre-B-cell colony-enhancing factor is a secreted cytokine-like protein from the human amniotic epithelium. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 193(1), 273-282.
- Oki, K., Yamane, K., Kamei, N., Nojima, H. & Kohno, N. (2007). Circulating visfatin level is correlated with inflammation, but not with insulin resistance. *Clinical endocrinology*, 67(5), 796-800.
- Olas, B. (2023). The antioxidant potential of graviola and its potential medicinal application. *Nutrients*, 15(2), 402.
- Ørskov, C., Rabenhøj, L., Wettergren, A., Kofod, H. & Holst, J. J. (1994). Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes*, 43(4), 535-539.
- Osebold, J. W. & Cordy, D. R. (1963). Valvular endocarditis associated with *Listeria monocytogenes* infections in sheep.
- Panda, S., Hogenesch, J. B., & Kay, S. A. (2003, October). Circadian light input in plants, flies and mammals. In *Molecular Clocks and Light Signalling: Novartis Foundation Symposium 253* (pp. 73-88). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Pantazopoulos, H., Gamble, K., Stork, O. & Amir, S. (2018). Circadian rhythms in regulation of brain processes and role in psychiatric disorders. *Neural Plasticity*, 2018.

- Park, K. H., Zaichenko, L., Brinkoetter, M., Thakkar, B., Sahin-Efe, A., Joung, K. E., ... & Finkelstein, J. S. (2014). Circulating Irisin in Relation to Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome (vol 98, pg 4899, 2013). *Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(5), 1910-1910.
- Pavone, M., Cutrera, R., Verrillo, E., Salerno, T., Soldini, S. & Brouillette, R. T. (2013). Night-to-night consistency of at-home nocturnal pulse oximetry testing for obstructive sleep apnea in children. *Pediatric Pulmonology*, 48(8), 754-760.
- PDB, (2024a). Re: Apelin. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/5vbl>
- PDB, (2024b). Re: Irisin. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/4LSD>
- PDB, (2024c). Re: Visfatin. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/5lx3>
- PDB, (2024d). Re: Melatonin Hormone. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/6me7>
- PDB, (2024e). Re: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/1b8m>
- PDB, (2024f). Re: Beyin ve kas arnt benzeri protein 1. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/4f3l>
- PDB, (2024g). Re: Brain mitochondrial carrier protein-1. Retrieved from: https://www.rcsb.org/structure/af_afo95258f1
- PDB, (2024h). Re: Mitochondrial-derived Peptide (MOTS-c). Retrieved from: https://www.rcsb.org/structure/AF_AFJ9F3B8F1
- PDB, (2024i). Re: Cardiac Troponin I. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/7SC3>
- PDB, (2024j). Re: Gucagon-like peptide-1. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/structure/3C5T>
- PDB, (2024k). Re: Gucagon-like peptide-2. Retrieved from: <https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/7d68>
- Peacock IV, W. F., De Marco, T., Fonarow, G. C., Diercks, D., Wynne, J., Apple, F. S. & Wu, A. H. (2008). Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *New England Journal of Medicine*, 358(20), 2117-2126.
- Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J. & Wellman, C. L. (1995). Characteristics of BDNF-induced weight loss. *Experimental neurology*, 131(2), 229-238.
- Perakakis, N., Triantafyllou, G. A., Fernández-Real, J. M., Huh, J. Y., Park, K. H., Seufert, J. & Mantzoros, C. S. (2017). Physiology and role of irisin in glucose homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(6), 324-337.
- Piccione, G., Giannetto, C., Bertolucci, C. & Refinetti, R. (2013). Daily rhythmicity of circulating melatonin is not endogenously generated in the horse. *Biological Rhythm Research*, 44(1), 143-149.
- Piccione, G., Giannetto, C., Casella, S. & Caola, G. (2008). Circadian activity rhythm in sheep and goats housed in stable conditions. *Folia Biologica (Kraków)*, 56(3-4), 133-137.
- Pilz, S., Mangge, H., Obermayer-Pietsch, B. & März, W. (2007). Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor: a protein with various suggested functions. *Journal of Endocrinological Investigation*, 30, 138-144.
- Poeggeler, B., Thuermann, S., Dose, A., Schoenke, M., Burkhardt, S. & Hardeland, R. (2002). Melatonin's unique radical scavenging properties—roles of its functional substituents as revealed by a comparison with its structural analogs. *Journal of Pineal Research*, 33(1),

- Poręba, M., Macionga, A., Gogola, A., Szweda-Gandor, N., & Grzeszczak, W. (2024). Influence on polymorphism of visfatin (rs 4730153) and nesfatin (rs 1330) genes on the development of the metabolic syndrome. *Medical Research Journal*, 9(1), 42-47.
- Portaluppi, F., Tiseo, R., Smolensky, M. H., Hermida, R. C., Ayala, D. E. & Fabbian, F. (2012). Circadian rhythms and cardiovascular health. *Sleep Medicine Reviews*, 16(2), 151-166.
- Przybył, B. J., Wójcik-Gładysz, A., Gajewska, A. & Szlis, M. (2021). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) affects somatotrophic axis activity in sheep. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30(4), 329-339.
- Puigserver, P., Wu, Z., Park, C. W., Graves, R., Wright, M. & Spiegelman, B. M. (1998). A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 92(6), 829-839.
- Qi, J., Chen, Y. H., Wang, Y., Chen, X., Wang, L., Hu, Y. J. & Yu, B. Y. (2016). Screening of peroxynitrite scavengers in *Flos Lonicerae* by using two new methods, an HPLC-DAD-CL technique and a peroxynitrite spiking test followed by HPLC-DAD analysis. *Phytochemical Analysis*, 27(1), 57-63.
- Rajala, M. W. & Scherer, P. E. (2003). Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology*, 144(9), 3765-3773.
- Ramsey, K. M., Yoshino, J., Brace, C. S., Abrassart, D., Kobayashi, Y., Marcheva, B., ... & Bass, J. (2009). Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis. *Science*, 324(5927), 651-654.
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., ... & Llorens-Cortès, C. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 77(4), 1085-1096.
- Reis, R. L. (2019). Encyclopedia of tissue engineering and regenerative medicine. *Academic Press*.
- Reiter, R. J. (1993). The melatonin rhythm: both a clock and a calendar. *Experientia*, 49, 654-664.
- Reiter, R. J. (1995). The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Experimental Gerontology*, 30(3-4), 199-212.
- Reppert, S. M. & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935-941.
- Revollo, J. R., Körner, A., Mills, K. F., Satoh, A., Wang, T., Garten, A., ... & Imai, S. I. (2007). Nampt/PBEF/visfatin regulates insulin secretion in β cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metabolism*, 6(5), 363-375.
- Rezaei, H. R., Naderi, S., Chintauan-Marquier, I. C., Taberlet, P., Virk, A. T., Naghash, H. R., ... & Pompanon, F. (2010). Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(2), 315-326.
- Richter, C. (1975). Ii. biological rhythm. In *The Study of Time II: Proceedings of the Second Conference of the International Society for the Study of Time*, Lake Yamanaka, Japan (Vol. 2, p. 39). Springer.
- Roenneberg, T. & Merrow, M. (2016). The circadian clock and human health. *Current Biology*, 26(10), R432-R443.
- Rosen, E. D. & Spiegelman, B. M. (2006). Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 444(7121), 847-853.

- Roszkowicz-Ostrowska, K., Młotkowska, P., Kowalczyk, P., Marciniak, E., Barszcz, M. & Misztal, T. (2022). Central Stimulatory Effect of Kynurenic Acid on BDNF-TrkB Signaling and BER Enzymatic Activity in the Hippocampal CA1 Field in Sheep. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 136.
- Rutters, F. & Nefs, G. (2022). Sleep and circadian rhythm disturbances in diabetes: a narrative review. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 3627-3637.
- Saadatlou, M. A. E., Tavousi, H. & Keyhanmanesh, R. (2013). The study of histogenesis of sheep fetus irisin. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 19, 337-342.
- Salvi, P. (2012). Pulse waves. How vascular hemodynamics affects Blood pressure.
- Sanchis-Gomar, F., Lippi, G., Mayero, S., Perez-Quilis, C. & García-Giménez, J. L. (2012). Irisin: a new potential hormonal target for the treatment of obesity and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 4(3).
- Sardon Puig, L., Valera-Alberni, M., Cantó, C. & Pilon, N. J. (2018). Circadian rhythms and mitochondria: connecting the dots. *Frontiers in Genetics*, 9, 452.
- Savvidis, C. & Koutsilieris, M. (2012). Circadian rhythm disruption in cancer biology. *Molecular Medicine*, 18, 1249-1260.
- Schantz, P. M. (1977). Echinococcus granulosus: acute systemic allergic reactions to hydatid cyst fluid in infected sheep. *Experimental Parasitology*, 43(1), 268-285.
- Schibler, U. (2005). The daily rhythms of genes, cells and organs: biological clocks and circadian timing in cells. *EMBO Reports*, 6(S1), S9-S13.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte Jr, D., Seeley, R. J. & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661-671.
- Seale, P. & Lazar, M. A. (2009). Brown fat in humans: turning up the heat on obesity. *Diabetes*, 58(7), 1482.
- Simonneaux, V. & Ribelayga, C. (2003). Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacological Reviews*, 55(2), 325-395.
- Sitticharoon, C., Nway, N. C., Chatree, S., Churintaraphan, M., Boonpuan, P. & Maikaew, P. (2014). Interactions between adiponectin, visfatin, and omentin in subcutaneous and visceral adipose tissues and serum, and correlations with clinical and peripheral metabolic factors. *Peptides*, 62, 164-175.
- Smolensky, M. H., Reinberg, A. E., Martin, R. J. & Haus, E. (1999). Clinical chronobiology and chronotherapeutics with applications to asthma. *Chronobiology International*, 16(5), 539-563.
- Staiger, H., Böhm, A., Scheler, M., Berti, L., Machann, J., Schick, F., ... & de Angelis, M. H. (2013). Common genetic variation in the human FNDC5 locus, encoding the novel muscle-derived 'browning' factor irisin, determines insulin sensitivity. *PloS One*, 8(4), e61903.
- Stevens, H., Verdone, G., Lang, L., Graham, C., Pilic, L. & Mavrommatis, Y. (2024). A systematic review of variations in circadian rhythm genes and type 2 diabetes. *Nutrition and Health*, 30(1), 61-75.
- Stokkan, K. A., Yamazaki, S., Tei, H., Sakaki, Y. & Menaker, M. (2001). Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding. *Science*, 291(5503), 490-493.

- Stuart, J. A., Cadenas, S., Jekabsons, M. B., Roussel, D., & Brand, M. D. (2001). Mitochondrial proton leak and the uncoupling protein 1 homologues. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1504(1), 144-158.
- Sun, H., Meng, K., Hou, L., Shang, L. & Yan, J. (2021). GLP-2 decreases food intake in the dorsomedial hypothalamic nucleus (DMH) through Exendin (9–39) in male Sprague-Dawley (SD) rats. *Physiology & Behavior*, 229, 113253.
- Szymanska, K., Zaobidna, E., Rytelawska, E., Mlyczynska, E., Kurowska, P., Dobrzyn, K., ... & Kaminski, T. (2023). Visfatin in the porcine pituitary gland: Expression and regulation of secretion during the oestrous cycle and early pregnancy. *Scientific Reports*, 13(1), 18253.
- Tanaka, T. & Nabeshima, Y. I. (2007). Namp1/PBEF/Visfatin: a new player in β cell physiology and in metabolic diseases? *Cell Metabolism*, 6(5), 341-343.
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K. & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regulatory Peptides*, 99(2-3), 87-92.
- Taylor-Edwards, C. C., Burrin, D. G., Holst, J. J., McLeod, K. R. & Harmon, D. L. (2011). Glucagon-like peptide-2 (GLP-2) increases small intestinal blood flow and mucosal growth in ruminating calves. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 888-898.
- Thorens, B., Porret, A., Bühler, L., Deng, S. P., Morel, P. & Widmann, C. (1993). Cloning and functional expression of the human islet GLP-1 receptor: demonstration that exendin-4 is an agonist and exendin-(9–39) an antagonist of the receptor. *Diabetes*, 42(11), 1678-1682.
- Trayhurn, P. & Wood, I. S. (2005). Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochemical Society Transactions*, 33(5), 1078-1081.
- Tsao, D., Thomsen, H. K., Chou, J., Stratton, J., Hagen, M., Loo, C., ... & Lin, J. C. (2008). TrkB agonists ameliorate obesity and associated metabolic conditions in mice. *Endocrinology*, 149(3), 1038-1048.
- Tumer, K. C. & Safak, T. (2022). Serum cardiac troponin I concentration increases in sheep with uterine torsion. *Small Ruminant Research*, 216, 106784.
- Tunca, R., Erdoğan, H. M., Sözmen, M., Çitil, M., Devrim, A. K., Erginsoy, S. & Uzlu, E. (2009). Evaluation of cardiac troponin I and inducible nitric oxide synthase expressions in lambs with white muscle disease. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 33(1), 53-59.
- TURKHAYGEN-I (2007). Türkiye yerli hayvan genetik kaynaklarından bazılarının in vitro korunması ve ön moleküler tanımlanması-I (*TÜRKHAYGEN-I*). <http://www.turkhaygen.gov.tr>
- Usunobun U., Okolie, N.P., Anyanwa O.H., Adegbeji A.J., Egharevba M.E. (2015). Proximate composition and phytochemical Analysis of Annona Muricata leaves.
- Van Soest, P. J. & McQueen, R. W. (1973). The chemistry and estimation of fibre. *Proceedings of the Nutrition Society*, 32(3), 123-130.
- Wang, C., Bomberg, E., Levine, A., Billington, C. & Kotz, C. M. (2007). Brain-derived neurotrophic factor in the ventromedial nucleus of the hypothalamus reduces energy intake. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 293(3), R1037-R1045.
- Wang, C., Godar, R. J., Billington, C. J. & Kotz, C. M. (2010). Chronic administration of brain-derived neurotrophic factor in the hypothalamic paraventricular nucleus reverses

- obesity induced by high-fat diet. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298(5), R1320-R1332.
- Wang, C., Lutes, L. K., Barnoud, C. & Scheiermann, C. (2022). The circadian immune system. *Science immunology*, 7(72), eabm2465.
- Wang, X., Zhang, L., Li, P., Zheng, Y., Yang, Y. & Ji, S. (2022). Apelin/APJ system in inflammation. *International Immunopharmacology*, 109, 108822.
- Welsh, D. K., Takahashi, J. S. & Kay, S. A. (2010). Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. *Annual Review of Physiology*, 72(1), 551-577.
- Wilson, R. P. & Griffith, J. W. (2000). Endocarditis and meningitis caused by *Streptococcus suis* after cardiac surgery in a sheep. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 39(4), 43-46.
- Wrann, C. D. (2015). FNDC5/Irisin—their role in the nervous system and as a mediator for beneficial effects of exercise on the brain. *Brain Plasticity*, 1(1), 55-61.
- Wu, A. H., Lu, Q. A., Todd, J., Moecks, J. & Wians, F. (2009). Short-and long-term biological variation in cardiac troponin I measured with a high-sensitivity assay: implications for clinical practice. *Clinical Chemistry*, 55(1), 52-58.
- Wyse, C. A., Zhang, X., McLaughlin, M., Biello, S. M., Hough, D., Bellingham, M., ... & Evans, N. P. (2018). Circadian rhythms of melatonin and behaviour in juvenile sheep in field conditions: Effects of photoperiod, environment and weaning. *Physiology & Behavior*, 194, 362-370.
- Xie, H., Tang, S. Y., Luo, X. H., Huang, J., Cui, R. R., Yuan, L. Q., ... & Liao, E. Y. (2007). Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts. *Calcified Tissue International*, 80, 201-210.
- Xu, B., Goulding, E. H., Zang, K., Cepoi, D., Cone, R. D., Jones, K. R., ... & Reichardt, L. F. (2003). Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nature Neuroscience*, 6(7), 736-742.
- Yosae, S., Basirat, R., Hamidi, A., Esteghamati, A., Khodadost, M., Shidfar, F., ... & Djafarian, K. (2020). Serum irisin levels in metabolically healthy versus metabolically unhealthy obesity: A case-control study. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 34, 46.
- Zawilska, J. B., Skene, D. J. & Arendt, J. (2009). Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacological Reports*, 61(3), 383-410.
- Zhang, C., Ma, T., Tu, Y., Ma, S. & Diao, Q. (2022). Effects of circadian rhythm and feeding modes on rumen fermentation and microorganisms in Hu Sheep. *Microorganisms*, 10(12), 2308.
- Zhang, L., Li, F., Su, X., Li, Y., Wang, Y., Fang, R., ... & Liang, H. (2019). Melatonin prevents lung injury by regulating apelin 13 to improve mitochondrial dysfunction. *Experimental & Molecular Medicine*, 51(7), 1-12.
- Zhao, D. (2024). The Function of Circadian Rhythm in Breast Carcinoma and Lung Carcinoma. *MedScien*, 1(7).
- Zingaretti, M. C., Crosta, F., Vitali, A., Guerrieri, M., Frontini, A., Cannon, B., ... & Cinti, S. (2009). The presence of UCP1 demonstrates that metabolically active adipose tissue in the neck of adult humans truly represents brown adipose tissue. *The FASEB Journal*, 23(9), 3113-3120.
- Zucker, I. (2001). Circannual rhythms mammals. In *Circadian clocks* (pp. 509-528). Boston, MA: Springer US.

EKLER

EK 1: Deney Hayvanları ile Çalışma İzin Formu

VETERİNER KONTROL MERKEZ ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
YEREL ETİK KURULU

DENEY HAYVANLARI İLE ÇALIŞMA İZİN FORMU

KARAR TARİHİ: 26.10.2022 KARAR NO: 2022/27

Talepte Bulunan Bölüm	Deney Hayvanları Ünitesi
Yapılacak Deneyisel Çalışma	Anadolu Merinosu Kuzularında Graviola Yağ Ekstresi Uygulamasının Adipokin, Serebral, Kardiyak, Bağırsak Yanıtı ile Bazı Stres, Mitokondriyal Fonksiyon, Lizozomal ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisinin İncelenmesi
Kullanılacak Deney Hayvanı Türü, Miktarı, Cinsi	Merinos Kuzu/40 adet
Deney Hayvanlarının Temin Edildiği Yer	
Talepte Bulunan Bölüm Yetkilisi	Dr. Ufuk ÜLKER/Deney Hayvanları Ünitesi
Talep Tarihi	11.10.2022
KARAR	Enstitü yerel etik kurulu yönergesinin 7/1 maddesi kapsamında rutin teşhis uygulaması olması nedeniyle Proje sonuçlanıncaya kadar izin verilmesi oybirliği ile UYGUN görülmüştür.

Dr. Ufuk ÜLKER
Kurul Başkanı

Dr. M. GÜNGÖR
Üye

Dr. M. ARDOĞAN
Üye

Dr. İpek KESKİN
Üye

Dr. M. F. BARUT
Üye

Dr. Ebubekir SEPTİOĞLU
Eczacı-Sivil Toplum Temsilcisi

Hakan ERBAŞ
Öğretmen-Sivil Üye

EK 2: Çalışma İzin Formu

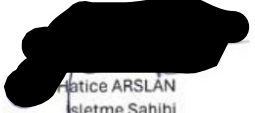
ÇORUM İLİ ALACA ARSLAN BEY BESİ ÇİFTLİĞİ İŞLETME MÜDÜRLÜĞÜ ÇORUM

Konu: Tez Çalışması ve İzin Hk.

Sn. Gökşad Cemil KOTAN
(Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Organik Tarım İşletmeciliği A.B.D.)

Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Organik Tarım İşletmeciliği Ana Bilim Dalında Doktora Tezi çalışması kapsamında “Anadolu Merinosu Kuzu Rasyonlarında Graviola Yağ Ekstresi Kullanımının Adipokin, Serebral, Kardiyak, Bağırsak ve Mitokondriyal Fonksiyon Yanıtın Sirkadiyen Değişiminin İncelenmesi” başlıklı konulu tez çalışmanıza ilişkin izin talebini bildiren dilekçeniz işletmemizce incelenerek değerlendirilmiştir.

Değerlendirme sonucunda ismi belirtilen tez çalışmanız kapsamında yürütülecek çalışma için, Çorum İli, Alaca İlçesi’ne bağlı Avutmuş Köyü sınırlarında bulunan Arslan Bey Besi Çiftliği isimli işletmemizin hayvan varlığının ve diğer fiziksel imkanlarının kullanılmasında herhangi bir sakınca bulunmamaktadır.


Fatice ARSLAN
İşletme Sahibi

ÖZ GEÇMİŞ

İlk ve orta öğrenimi çeşitli illerde tamamladıktan sonra 2011 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde lisans ve 2018 yılında Atatürk Üniversitesi'nde Veterinerlik Patolojisi alanında yüksek lisansını tamamladı. 2011-2021 yılları arasında Tarım ve Orman Bakanlığı'nın farklı birimlerinde görev aldıktan sonra, 2021 yılında Öğretim Görevlisi olarak atandığı Hitit Üniversitesi, Alaca Avni Çelik Meslek Yüksek Okulu bünyesinde çalışma hayatına devam etmektedir. Evli ve iki çocuk babasıdır.