

Hayvanlarda Reprodüksiyon Seminerleri 1

Editör
MEHMET BORÇA TIRPAN

BİDGE Yayınları

Hayvanlarda Reprodüksiyon Seminerleri 1

Editör: Doç. Dr. Mehmet Borga TIRPAN

ISBN: 978-625-372-309-5

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 19.11.2024

BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374

Yayın hakları © BİDGE Yayınları

www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com

Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.

Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9

Çankaya / Ankara



İçindekiler

Sığırlarda Süperovulasyon Uygulamalarında Kullanılan Hormonlar	4
Alaeddin OKUROĞLU	4
Mehmet Borga TIRPAN	4
Çiftlik Hayvanlarında Anti-Müllerian Hormon Üretimi.....	15
Ramazan SEVGİ	15
Mehmet Ali YILMAZ	15
Muhammed İkbâl COŞKUN	15
Atlarda Genetik Analiz ile Yarış Performansının Ortaya Konması	33
İrem Pınar DALMIZRAK	33
Ergün AKÇAY	33
Süt İneklerinde Embriyonik Ölüm.....	67
Ali SONAT	67
Ergun AKÇAY	67
Erkek Üreme Sistemi Üzerinde Nanopartiküllerin Etkileri: Artılar ve Eksiler	119
Mine HERDOĞAN	119
Muhammed Enes İNANÇ	119
Üreme Sistemi Üzerine Pestisitlerin Etkisi ve Antioksidanların Rolü.....	165
Feyzanur MART	165
Şükrü GÜNGÖR	165

BÖLÜM I

Sığırlarda Süperovulasyon Uygulamalarında Kullanılan Hormonlar

Alaeddin OKUROĞLU¹
Mehmet Borga TIRPAN²

Giriş

Embriyo transferi, donörlerden (verici) toplanan (in vivo) ya da laboratuvar koşullarında üretilen (in vitro) embriyoların, taşıyıcı hayvanlara transfer edilmesi işlemidir. Embriyo transferi teknolojisinde donör ovaryumlarında çok sayıda follikül gelişmesini sağlayacak uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlardan en önemlisi süperovulasyon yöntemidir (Karaşahin & Dursun, 2019).

Süperovulasyon, süperstimülasyon olarak da adlandırılmakta olup; donör hayvandaki mevcut oosit sayısını,

¹ Veteriner Hekimi, Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, Embriyo Transferi Şubesi, Ankara/ TÜRKİYE, ORCID: 0000-0003-3127-2773, alaaddinokuroglu@gmail.com

² Doç. Dr, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Bölümü, Ankara/TÜRKİYE, ORCID: 0000-0001-8782-1108, borgat @gmail.com

oosit maturasyonunu, ovulasyon oranını, ovulasyon ile fertilizasyonu etkilemekte olan fizyolojik ve endokrinolojik süreçleri ve embriyonik gelişim süreçlerini olumsuz etkilemeden artırmayı hedefleyen bir yöntemdir. Ek olarak, fizyolojik olarak düşük ovulasyon oranına sahip türlerde (sığır, koyun/keçi ve at) embriyo transferinin başarılı bir şekilde uygulanması için kullanılan ön bir uygulamadır (Callesen, Bøgh & Greve, 2019). Dolayısı ile süperovulasyon tekniği temel olarak çeşitli hormonların kullanımı ile ovulasyon, fertilizasyon ve transfer edilebilir embriyo sayısının artırılmasını hedeflemektedir (Kaymaz, 2015). Bunun için, farklı hormonların kullanımlarından yararlanılmaktadır (Karaşahin & Dursun, 2019).

1. Folliküler Stimülasyon için Kullanılan Hormonlar

Ekzojen gonadotropin uygulamalarının kaynağı ve biyolojik aktivitesi, süperovulasyon başarısı üzerinde önemli rol oynayan faktörlerdendir (Murphy & ark., 1984). İneklerde süperovülasyonun sağlanması amacı ile üç farklı gonadotropin preparatı kullanılmıştır. Bunlar; domuz veya diğer evcil hayvan hipofizlerinden elde edilen gonadotropinler, at koryonik gonadotropini (eCG; eskiden gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG) olarak adlandırılmıştır) ve insan menopozal gonadotropinidir (Alkemade, Murphy & Mapletoft, 1993; Murphy & ark., 1984). İnsan menopozal gonadotropini sığırlarda herhangi önemli bir avantaj sağlamadığı ve yüksek maliyetli olduğu için tercih edilmemektedir (Jahnke & Youngs, 2021). Bu yüzden sığırlarda süperovulasyon için genellikle iki ayrı folikül uyarıcı hormon grubu kullanılmaktadır (Callesen, Bøgh & Greve, 2019).

Ruminantlarda, süperovülatör uygulama için kullanılan ilk hormon, gebe kısrak serum gonadotropini (eCG) olarak da adlandırılmakta olan (PMSG) dir. Bu hormon, gebe kısrakların endometrial kapları tarafından üretilen glikoprotein yapılı bir

hormondur ve gebe kısarak serumundan saflaştırılmaktadır. Gebeliğin 40- 150. Günleri arasında uterusu ait f3tal trofoblast h3creleri tarafından 3retilmektedir ve molek3l ağırlığı yaklaşık 45.000 daltondur (Combarnous, Salesse & Garnier, 1981). Hem folik3l uyarıcı hormona (FSH) hem de luteinize edici hormona (LH) benzer etki g3stermektedir. İnekteki yarı 3mr3 40 saattir ve sığır dolaşımında 10 g3ne kadar devam etmektedir (Tekeli, 1994). Bu nedenle, normalde bir kez intram3sk3ler olarak enjekte edilmektedir (Dieleman & ark., 1993). PMSG hormonun 3nemli avantaj ve dezavantajları mevcuttur. En 3nemli avantajı; d3ş3k maliyetlidir ve uzun yarı 3mr3nden dolayı tek enjeksiyon olarak uygulanabilmektedir. Dezavantajları ise; değişken ve 3ng3r3lemeyen bir FSH:LH etki oranına sahiptir. Ayrıca, uzun yarılanma 3mr3 nedeniyle, ovulasyondan sonra bile s3rekli bir uyarıcı etki g3stererek 3strojen 3reten folik3llerin gelişmesine neden olabilmektedir. Bu uzun s3reli ve y3ksek 3strojen 3retimi, fertilizasyonu ve erken embriyonik gelişimi etkileyebilmektedir. Bu nedenle, PMSG'nin kalan miktarlarının iddia edilen olumsuz etkilerini azaltmak i3in PMSG antiserumu kullanımına ihtiya3 duyulmaktadır. PMSG'nin 3nerilen dozları 1500 ila 3000 IU arasında değişmektedir ve genellikle 2500 IU intram3sk3ler enjeksiyon uygulaması olarak tercih edilmektedir (B3 & Mapletoft, 2014; 3izmecici & G3ler, 2018).

Ruminantlarda s3perovulasyon uygulaması amacıyla kullanılan diğer bir gonadotropin, domuzların (pFSH), koyunların (oFSH) veya atların (eFSH) hipofiz bezlerinden elde edilen FSH'dir (Chedrese, 2009). İneklere FSH'nin biyolojik yarı 3mr3 yaklaşık beş saat veya daha az olarak bildirilmektedir (B3lb3l & Dursun, 2005). Bu nedenle, s3perov3lasyonu başarısı y3n3nden değerlendirildiğinde, g3nde 12 saat ara ile iki enjeksiyona ihtiya3 duyulmaktadır (Looney & ark, 1981; Monniaux, Chupin & Saumande, 1983). FSH, PMSG ile karşılaştırıldığında daha pahalıdır, ancak 3oğu FSH preparatının daha tutarlı bir FSH:LH etki oranı mevcuttur. Ayrıca, FSH'nin

düşük molekül ağırlığı ve kısa yarılanma ömrü sebebi ile kaliteli embriyo üretim başarısını artırdığı tespit edilmiştir (Gabriel, Reuben & Mapletoft, 2014). Genel olarak uygulamalarda, dört veya beş gün boyunca günde iki kez intramusküler FSH enjeksiyonu yapılmaktadır. FHS uygulamasının başlamasından 48–72 saat sonra, luteolizi sağlamak için prostaglandin F2 α (PGF2 α) uygulanmaktadır. Östrus 36–48 saatte gerçekleşmekte ve ovulasyon 24–36 saat sonra başlamaktadır (Bó & ark., 2006; Mapletoft & Bó, 2012).

Diğer yandan, süperovulatör FSH preparatlarında bulunan LH miktarı da elde edilen başarı üzerinde rol oynamaktadır (Hasler, 1992). Düşük LH konsantrasyonu içeren saflaştırılmış hipofiz ekstraktlarının, sığırlarda süperovülasyon yanıtı üzerine olumlu katkıları olduğu bilinse de (Bó & Mapletoft, 2014); yüksek LH miktarının oosit aktivasyonunu erken başlatması sebebi ile (Moor, Kruip & Green, 1984) süperovülasyon cevabı, fertilizasyon oranı ve kaliteli embriyoların gebelik oluşturma başarısı üzerinde olumsuz etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Bó & Mapletoft, 2014; Kanitz & ark., 2002; Karaşahin & Dursun, 2019). Ayrıca, genel olarak başarılı süperovülasyon için bir miktar LH'nin gerekli olduğuna inanılsa da, endojen LH seviyeleri yeterli olabileceği ileri sürülmektedir (Jahnke & Youngs, 2021).

Araştırmacılar FSH uygulamasının başlatılması için en iyi zamanın döngünün 9.-14. günleri olduğunu bildirmiştir (Kanagawa & ark., 1995). Hormonun bu günlerde etkili olmasının nedenleri hem olgun bir CL'nin varlığı hem de süperovülasyon uygulamalarına başlamak için foliküler dalganın en iyi zamanı olmasıdır. Bu sebeple süperovülasyon uygulamalarında, süperstimülasyon için kullanılan hormonların yanı sıra siklus senkronizasyonu sağlayan yardımcı hormonlar da kullanılmaktadır (Çizmeci & Güler, 2018).

2. Kullanılan Yardımcı Hormonlar

Foliküler dalga başlangıcının kontrolü ile östrus siklusunun dönemine bakılmaksızın süperstimülasyon uygulamaları başlatılabilmektedir. Bu durum, östrus tespiti ihtiyacını ortadan kaldırmakta ve başarı oranını artırmaktadır (Mapletoft, Bennett-Steward & Adams, 2002).

Estradiol foliküler dalga oluşumunun senkronizasyonu için en yaygın kullanılan hormonlardandır (Bó, Guerrero & Adams, 2008). Östrodiol progesteronun uygulama süresini kısaltırken aynı zamanda foliküler regresyonu da uyarmaktadır. Süperovulasyon uygulamasına başlangıç aşamasında dominant follikül varlığı tespit edilmiş ise follikülü ortadan kaldırılması için estradiol kullanılabilir. Progesteron uygulanan hayvanlarda estradiol 17 β uygulanmasını takiben, foliküler evre hangi dönemde olursa olsun, 3-5 gün içerisinde yeni foliküler dalganın başlaması sağlamaktadır. Diğer bir deyişle, estradiol uygulaması FSH salınımının kısıtlanmasına ve folikül atrezisine neden olmaktadır. Estradiol metabolize edildikten sonra FSH seviyesi yükselmekte ve uygulamadan ortalama dört gün sonra yeni bir foliküler dalga ortaya çıkmaktadır (Bó & ark., 2002; Bó, Guerrero & Adams, 2008; García, Tribulo & Yapura., 2012; Mapletoft, Bó, & Baruselli., 2009). Ancak, yan etkiler ve östrojenlerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle birçok ülkede kullanımı yasaktır (Hussein ve ark., 2014).

Foliküler dalganın senkronizasyonu için estradiol kullanımındaki sıkıntılar sebebi ile bir diğer alternatif GnRH kullanılmaktadır. GnRH uygulaması ile dominant follikülün ovulasyona başarılı bir şekilde ulaşması sağlanmaktadır (Dinç, 2006). GnRH uygulamasını takiben, bir ila iki gün sonra yeni foliküler dalganın ortaya çıkışı izlenmektedir. Ancak, yeni foliküler dalganın senkronizasyonu, GnRH uygulaması ovulasyonu sağlarsa başarılı olmaktadır (Say, 2016). Çünkü, östrus siklusunun rastgele herhangi bir gününde GnRH

uygulandığında, ovulasyon oranı oldukça azalmaktadır (Colazo & ark., 2009). Bu yüzden, GnRH kullanılan sabit zamanlı suni tohumlama (AI) protokollerinide, GnRH enjeksiyonu ile elde edilen başarının artırılması için bir ön senkronizasyon işlemi (Kaymaz, 2015), progesteron hormonu içeren implantlar (Bó & Mapletoft, 2014) ya da PGF2 α kullanımı tercih edilmektedir (Jadov & ark., 2008).

Foliküler dalga senkronizasyonu için kullanılan bir diğer hormon progesteronlardır (Progesteron) (Bó & ark., 1995). Progesteronun temel görevi, östrojen etkisi ile uterus üzerinde meydana gelen değişimlerin sürekliliğini sağlayarak uterusu fertilize olmuş oositin yerleşmesi ve beslenmesi için hazır hale getirmektir. Progesteron, hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salınımı üzerindeki olumsuz etkisi ile ön hipofizden FSH ve LH salınımını azaltmaktadır (Yılmaz, 1999).

Progestogenik preparatlar, hormonal seviyeleri luteal evredeki hale eşdeğer şekle getirmektedir. Böylece progesteron içeren preparatlar ile süperovulasyon uygulama aralıkları kısaltılabilmektedir. Ayrıca, progesteronların prostaglandinlerle birlikte uygulanması embriyo kalitesini ve üretilen transfer edilebilir embriyo sayısını da olumlu etkilemektedir (Say & ark., 2016). Bu amaçla intra-vaginal araçlar ya da kulak implantları kullanılmaktadır. Bu şekilde bir uygulama ile süperovulasyon uygulamaları arası süre 28 güne kadar indirilebilmektedir ve elde edilen sonuçlar standart süperovulasyon uygulamalarında elde edilenler sonuçlara oldukça yakın bulunmaktadır (Kara, 2019; Mori 1999).

Diğer yandan, Prostoglandinlerin (PGF2 α) kullanımı, donör ve taşıyıcı arasındaki siklus senkronizasyonun sağlanması için kullanılan önemli hormonlardandır. PGF2 α lüteolitik etkiye sahiptir. Prostaglandinler, siklusları senkronize etmek için diöstrus evresindeki hayvanlara tek PGF2 α enjeksiyonu

şeklinde uygulanmaktadır. Ayrıca, PGF2 α aynı sebepten dolayı hayvan grubu için 11-14 günlük aralıklarla iki kez uygulanabilmektedir (Alaçam, 2010; Çizmeci, & Güler., 2018; Kaymaz, 2015). Ayrıca, prostaglandin F2 α (PGF2 α) veya analogları süperstimulasyon için yapılan gonadotropin uygulamalarından 48-72 saat sonrasında kullanılmaktadır (Karaşahin & Dursun, 2019).

Sonuç

Embriyo transferi teknolojisi yardımcı üreme teknikleri arasında yer alan oldukça hassas bir uygulama olup; üretilen transfer edilebilir embriyo sayısındaki artışlar hayvan ıslahı bakımından oldukça önem taşımaktadır. Süperovulasyon başarısı ise transfer edilebilir embriyo sayısı üzerinde etkili bir rol oynamaktadır. Embriyo üretim ve transfer teknolojisinin maliyetli bir uygulama olduğu göz önüne alındığında, başarı artışının bu teknolojinin yaygınlaştırılmasını sağlayarak hayvancılık alanında önemli katkılar sunması beklenmektedir. Dolayısı ile süperovulasyon uygulamalarında etkili hormonlar ve bu hormonların kullanım şekilleri başarı açısından oldukça önemlidir. Dahası, rekombinat ya da slow relasing hormon kullanımı gibi yeni tekniklerin geliştirilmesi ile embriyo transfer teknolojisi başarısının daha da artırılacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

Alaçam, E. (2010). *Obstetrics and Infertility in Domestic Animals*. (7th edition). Ankara: Medisan pp: 41-54.

Alkemade, S., Murphy, B., Mapletoft, R. (1993). Superovulation in the cow: effects of biological activity of gonadotropins. *Proceedings of the 12th Annual Meeting of the American Embryo Transfer Association*, Portland, Maine, pp. 1–19.

Bó, G., Adams, G., Pierson, R., and Mapletoft, R. (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43: 31–40.

Bó, G. A., & Mapletoft, R. J. (2014). Historical perspectives and recent research on superovulation in cattle. *Theriogenology*, 81(1), 38-48.

Bó, G., Baruselli, P., Chesta, P., and Martins, C. (2006). The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology*, 65: 89–101.

Bó, G., Guerrero, D.C., Adams, G., (2008). Alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation. *Theriogenology*, 69 (1), 81-7.

Bó, G. A., Baruselli, P. S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R., ... & Mapletoft, R. J. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, 57(1), 53-72.

Bülbül, B., & Dursun, Ş. (2005). İneklerde süperovulasyon cevabına etki eden faktörler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 15(1), 16-25.

Callesen, H., Bøgh, I. B., & Greve, T. (2019). Embryo transfer and other assisted reproductive technologies.

In *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (pp. 778-805). Elsevier.

Chedrese, P. J. (2009). *Reproductive endocrinology: a molecular approach*. Springer Science & Business Media.

Combarnous, Y., Salesse, R., & Garnier, J. (1981). Physico-chemical properties of pregnant mare serum gonadotropin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 667(2), 267-276.

Colazo, M. G., Gordon, M. B., Rajamahendran, R., Mapletoft, R. J., & Ambrose, D. J. (2009). Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone or porcine luteinizing hormone. *Theriogenology*, 72(2), 262-270.

Çizmeçi, S. Ü., & Güler, M. (2018). Superovulation in cows: a review. *International Journal of Veterinary Science*; 65-68

Dieleman, S. J., Bevers, M. M., Vos, P. L. A. M., & De Loos, F. A. M. (1993). PMSG/anti-PMSG in cattle: A simple and efficient superovulatory treatment?. *Theriogenology*, 39(1), 25-41.

Dinc, D.A. (2006). Programs to increase reproductive efficiency in cows. *Vet Hek Der Derg*, (77): 50-64.

Guerra, A. G., Tribulo, A., Yapura, J., Singh, J., & Mapletoft, R. J. (2012). Lengthening the superstimulatory treatment protocol increases ovarian response and number of transferable embryos in beef cows. *Theriogenology*, 78(2), 353-360.

Hasler, J. F. (1992). Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 75(10), 2857-2879.

Jadav, P. V., Dharni, A. J., Patel, D. M., & Kavani, F. S. (2008). GnRH and its applications in bovine reproduction, *The Vets Communications*, (3), 11-25

Jahnke, M. M., & Youngs, C. R. (2021). Superovulation in cattle. *Bovine Reproduction*, 1032-1040.

Kanagawa, H., Shimohira, I., & Saitoh, N. (1995). Manual of bovine embryo transfer. *National Livestock Breeding Center MAFF, JICA-Japan*, 1-34.

Kanitz, W., Becker, F., Schneider, F., Kanitz, E., Leiding, C., Nohner, H. P., & Pöhland, R. (2002). Superovulation in cattle: practical aspects of gonadotropin treatment and insemination. *Reproduction Nutrition Development*, 42(6), 587-599.

Kara, U. (2019). İneklerde Foliküler Dalga Dinamikleri ve Ekzojen Kontrolü. *International Journal of Eastern Mediterranean Agricultural Research*, 2(1), 30-51.

Karaşahin, T., & Dursun, Ş. (2019). İneklerde Süperovulasyon Amaçlı Hormon Uygulamaları ve Süperovulasyon Protokolleri. *Türkiye Klinikleri Reproduction and Artificial Insemination-Special Topics*, 5(1), 1-5.

Karaşahin, T., Kızıl, S.H., Satılmış, M., Akyol, N., Dursun, Ş., Kırbaş, M. (2016). Süperovulasyon uygulamasına farklı ırkların verdikleri cevapların araştırılması. *JAVST*;1(1):1-5.

Kaymaz, M., Fındık, M., Rişvanlı, A., & Köker, A. (Eds.). (2015). *Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji*. Türk Veteriner Jinekoloji Derneği.

Looney, C. R., Boutte, B. W., Archbald, L. F., & Godke, R. A. (1981). Comparison of once daily and twice daily FSH injections for superovulating beef cattle. *Theriogenology*, 15(1), 13-22.

Mapletoft, R. J., & Bó, G. A. (2012). The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(1), 278-283..

Mapletoft, R. J., Bó, G. A., & Baruselli, P. S. (2018). Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 6(1), 114-124.

Mapletoft, R. J., Steward, K. B., & Adams, G. P. (2002). Recent advances in the superovulation in cattle. *Reproduction Nutrition Development*, 42(6), 601-611..

Monniaux, D., Chupin, D., & Saumande, J. (1983). Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19(1), 55-81.

Moor, R. M., Kruip, T. A., & Green, D. (1984). Intraovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation?. *Theriogenology*, (21), 103–116

Murphy, B. D., Mapletoft, R. J., Manns, J., & Humphrey, W. D. (1984). Variability in gonadotrophin preparations as a factor in the superovulatory response. *Theriogenology*, 21(1), 117-125.

Say, E., Çoban, S., Nak, Y., Nak, D., Kara, U., White, S., ... & Kasimanickam, R. (2016). Fertility of Holstein heifers after two doses of PGF2 α in 5-day CO-Synch progesterone-based synchronization protocol. *Theriogenology*, 86(4), 988-993.

Tekeli T. Embriyo Nakli, Evcil hayvanlarda reproduksiyon sun’i tohumlama doğum ve infertilite. Alaçam E, ed. *Dizgi evi: Konya, Türkiye; 1994. p.103-17.*

Yılmaz, B. (1999). Hormonlar ve üreme fizyolojisi. *Feryal Matbaacılık, Ankara*, 313-327.

BÖLÜM II

Çiftlik Hayvanlarında Anti-Müllerian Hormon Üretimi

Ramazan SEVGİ¹
Mehmet Ali YILMAZ²
Muhammed İkbâl COŞKUN³

Giriş

Müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak da bilinen Anti-müllerian hormon (AMH), transforme edici büyüme faktörü- β 'ya (TGF- β) yapısal olarak benzeyen dimerik glikoproteinlerin bir üst ailesine ait hormondur (Lee & Donahoe, 1993; Rajpert-De Meyts & ark., 1999). AMH ilk kez 1984 yılında izole edilmiş ve saflaştırılmıştır (Rajpert-De Meyts & ark., 1999). Başlangıçta erkek tavşan fetüslerde müller kanalının (Jost, 1947) gerilemesine neden olan testosterondan farklı bir testis faktörü olarak tanımlanmış olsa da aslında erkeklerde

¹ Dr. Veteriner Hekimi, Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, Ankara, Türkiye 0000-0003-2711-4246, ramazansevgi@gmail.com

² Dr. Veteriner Hekimi, Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, Ankara, Türkiye, 0000-0002-4497-2894, maliyilmaz2727@hotmail.com

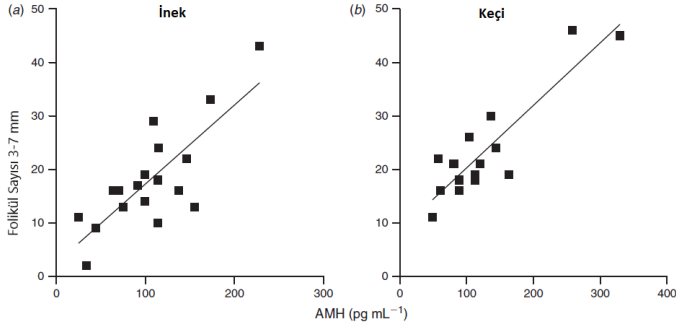
³ Dr. Ziraat Mühendisi, Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü, Ankara, Türkiye 0000-0001-9913-3505, muhammedikbalcoskun@gmail.com

sertoli hücreleri tarafından üretildiği ortaya konmuş ve ardından bu ismi almıştır (Josso & ark., 1993). Daha sonra, AMH'ın dişilerde sağlıklı ve büyüyen ovaryum folliküllerinin granuloza hücreleri tarafından da üretildiği keşfedilmiştir (Takahashi & ark., 1986; Vigier & ark., 1984).

Spesifik AMH immünolojik testleri kullanılarak farklı evcil hayvan türlerinde antral folliküllerin folliküler sıvısındaki AMH konsantrasyonlarını ölçmek mümkündür. İnek, koyun ve keçilerde senkronizasyon sonrası luteal faz döneminde alınan ovaryumlarda bulunan, küçük antral folliküllerde AMH konsantrasyonları en yüksek seviyede tespit edilirken, folliküllerin boyutları arttıkça belirgin şekilde azaldığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Monniaux & ark., 2011; Rico & ark., 2011). Bu sonuçlar, ruminantlarda, folliküllerin boyutu arttığında, intrafolliküler AMH konsantrasyonlarının belirgin şekilde azaldığını göstermektedir. Ovule olamayan veya gerileyen ancak anormal derecede büyük boyutlara ulaşan kistler en düşük AMH konsantrasyonlarını içermektedir. Bu anormal folliküllerde, progesteron ve AMH konsantrasyonları arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bu da kistlerdeki düşük AMH konsantrasyonlarının luteinleşme ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Monniaux & ark., 2011; Rico & ark., 2011).

İneklerde follikül boyutu ve atrezinin AMH ekspresyonu üzerindeki etkilerinin daha kesin olarak belirlendiği bildirilmiştir (Rico & ark., 2009). Hem folliküler sıvıdaki AMH konsantrasyonları hem de granuloza hücrelerinde bulunan AMH mRNA ekspresyonu, sağlıklı antral folliküllerin gelişiminde preovülatör evreye kadar azalır ve atrezilerden açıkça etkilenir. Rico & ark. (2009) yaptıkları bir çalışmada 3-7 mm çapındaki sağlıklı östrojenik olmayan folliküllerin yüksek AMH ürettiğini ancak 7 mm'den daha büyük sağlıklı östrojenik folliküllerin düşük AMH konsantrasyonları ürettiğini raporlamışlardır. AMH ile östrojen üretkenliği arasında benzer bir ters ilişki keçi

(Monniaux & ark., 2011) ve insanlarda da (Eilsø & ark., 2010) bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda AMH üreten folliküllerin popülasyonları ile plazma AMH konsantrasyonları arasındaki pozitif ilişki de ortaya konulmuştur. İnekteki 3-7 mm çapında, keçiler de ise 1-5 mm çapında follikül sayısının, plazma AMH konsantrasyonları ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Şekil 1.) (Monniaux & ark., 2011; Rico & ark., 2009). İnsanlar (Van Rooij & ark., 2002), fareler (Kevenaar & ark., 2006) ve düveler (JL Ireland & ark., 2008) ile yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 1. İneklerde ve keçilerde antral follikül sayıları ile plazma AMH konsantrasyonları arasındaki ilişki.

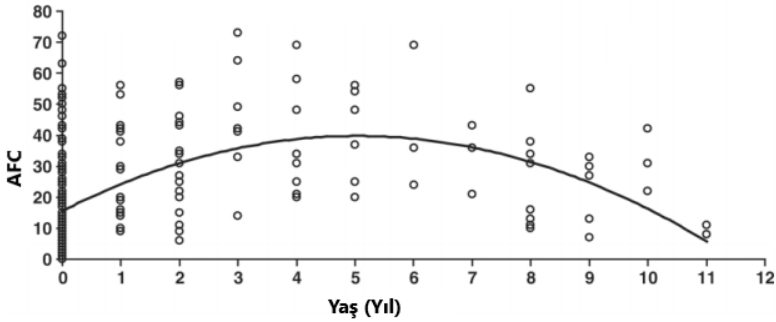
1. Dolaşımdaki amh konsantrasyonlarını etkileyen faktörler

İneklerde, plazma AMH konsantrasyonları yaş ve ırkın yanı sıra; prepubertal dönem, östrus döngüsü ve gebelikten doğum sonrası döneme geçiş boyunca belirli dinamik profilleri takip eder ve değişiklikler gösterebilmektedir.

1.1. Yaş

Anti-müllerian hormon, ovaryum yaşlanmasının klinik bir göstergesi olarak kabul edilir (Nelson & ark., 2012). Çünkü antral follikül sayısı (AFC) gibi, dolaşımdaki AMH

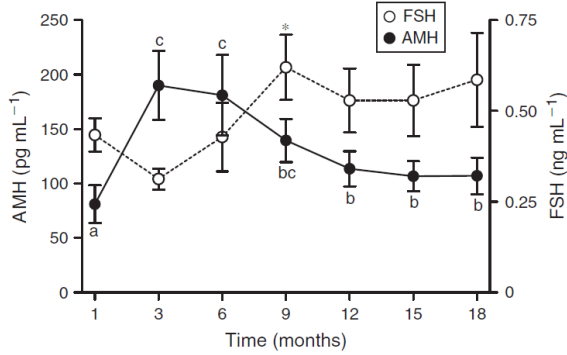
konsantrasyonu da yaşla birlikte azalan ovaryum rezervleri ile doğrudan ilişkilidir (Hansen & ark., 2011). Souza & ark. (2015) ineklerde yaş ve AFC kıyasladıkları bir çalışmada AFC miktarının 5 yaşına kadar arttığını daha sonra ise düşmeye başladığını bildirmişlerdir (Şekil 2.). Benzer şekilde farelerde de yaşla birlikte serum AMH konsantrasyonlarındaki azalma, primordial follikül sayısındaki azalma ile pozitif korelasyon gösterir (Kevenaar & ark., 2006).



***Şekil 2.** İneklerde yaşla birlikte antral follikül sayısının değişimi*

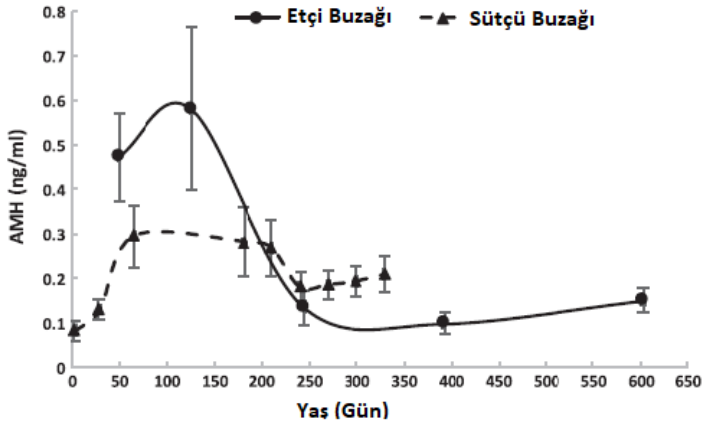
1.2. Prepubertal dönem

Prepubertal dönemde plazma AMH konsantrasyonları aylara göre farklılıklar göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ilk aylarda düzenli olarak artarken daha sonraki aylarda ise bu seviyenin giderek düştüğü görülmektedir. Plazma AMH seviyelerinin Maine-Anjou ırkında 1 ile 3 ay arasında belirgin bir şekilde arttığı, 6. ayda yüksek kaldığı, daha sonra 12 aylık olana kadar yavaş yavaş düştüğü belirlenmiştir (Şekil 3.) (Monniaux & ark., 2012).



Şekil 3. Yaşa göre anti müllerian hormon düzeyi

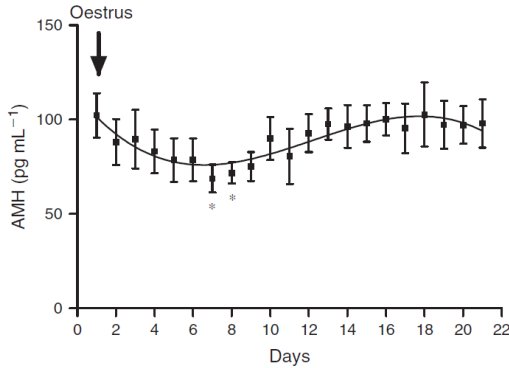
Prepubertal hayvanlarda AMH seviyeleri etçi ve sütçü ırklarda da farklılıklar göstermektedir. Mossa & ark. (2017) etçi ve sütçü ırk dışı buzağılarda doğumdan pubertase kadar geçen süredeki AMH değişimlerini göstermek için yaptıkları bir çalışmada, AMH konsantrasyonlarının ilk 2 aylık dönemde arttığını, 5. ayda azaldığını ve ilk ovulasyon döneminde (8-9 ay) stabil olduğu görülmüştür (Şekil 4.).



Şekil 4. Etçi ve sütçü ırk buzağılarda AMH seviyesinin yaşa göre değişimi

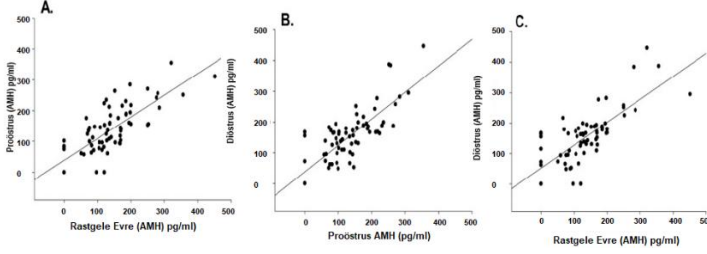
1.3. Östrüs siklus dönemi

Anti müllerian hormon seviyesinin siklus süresince sabit kalmaktadır. Bu durum AMH'ın salınımının gonodotropinler tarafından düzenlenmediğinin bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir (Hehenkamp & ark., 2006; Streuli & ark., 2008; Tsepedis & ark., 2007). Düvelerde yapılan çalışmalarda AMH konsantrasyonlarının ovulasyondan önceki 8 gün ve ovulasyondan sonraki 3 güne kadar olan bir sürede oldukça sabit olduğu ifade edilmiştir (JL Ireland & ark., 2008; JJ Ireland & ark., 2010). Fakat Rico & ark. (2011) yaptıkları bir çalışmada süt ineklerinde AMH'ın östrus siklusu sırasında folliküler dalgalarından bağımsız olarak oluşan özel bir dinamik profil gösterdiğini bildirmişlerdir. Bireysel inekler arasında ortalama AMH seviyeleri açısından önemli farklılıkların varlığına rağmen, östrus siklusunun uzunluğu ve folliküler dalga sayısı, doğal bir östrus siklusu boyunca AMH seviyesindeki değişikliklerin seyri inekler arasında oldukça benzerdir. Spesifik olarak, östrustan sonra AMH seviyelerinde bir düşüş görülürken siklusun 4. ve 9. günleri arasında minimum değerlere ulaşıyor, ardından bir sonraki östrusa kadar yavaş bir artış görülmektedir (Şekil 5.).



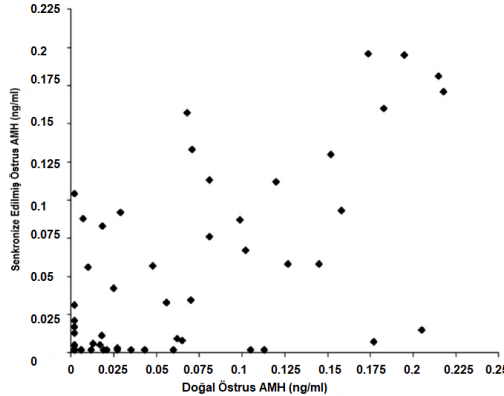
Şekil 5. İnekteki doğal östrus siklusu boyunca plazma AMH düzeylerindeki günlük değişimler

Souza & ark. (2015) yaptıkları bir çalışmada östrus siklusunun farklı evrelerinde inekler üzerinde yapılan AMH ölçümleri arasında güçlü pozitif ilişki tespit etmişlerdir (Şekil 6.).



Şekil 6. İneklerde Östrus siklusunun farklı evrelerindeki AMH düzeyleri

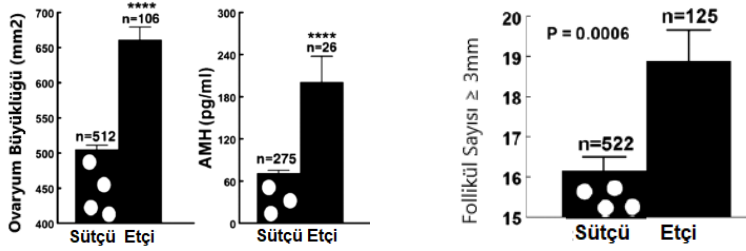
Pfeiffer, Jury, ve Larson (2014) tarafından doğal östrus gösteren hayvan ile senkronize edilerek östrus gösteren hayvanların östrus anındaki AMH düzeyleri bakımından karşılaştırdıkları bir çalışmasında iki grupta bulunan hayvanlarında AMH seviyelerinin farklılık göstermediği ve pozitif bir korelasyon içinde olduğunu bildirmişlerdir (Şekil 7.).



Şekil 7. Doğal östrus gösteren hayvan ile senkronize edilerek östrus gösteren hayvanların östrus anındaki AMH düzeyi

1.4. Irk

Yapılan alışmalarda AMH konsantrasyonlarının ve follikül sayılarının st ırklarda etçi sığırılara kıyasla daha düşük olduğunu göstermektedir. Mossa & ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada 12-16 aylık Holstein ve Angus x Charolais melezi düvelere prostaglandin (PG) uygulamasından yaklaşık 96 saat sonra ovaryum ultrasonografisi ile belirlenen follikül sayıları ve ovaryum büyüklüğü hakkında bilgi vermişlerdir. Sonuçlara bakıldığında etçi düvelere kıyasla st düvelerde follikül sayıları, ovaryum büyüklüğü ve AMH konsantrasyonlarının daha düşük olduğu belirlenmiştir (şekil 8). Yapılan diğer bir çalışmada, etçi düvelerin (Angus ve Charolais) AMH düzeylerinin st dvelerden (Holstein ve Jersey) daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Pfeiffer & ark., 2014). Ayrıca, Nelore zebu (*Bos indicus*) dveleri, Holstein (*Bos taurus*) dvelerinden daha büyük bir ovaryum antral follikül popülasyonu ile birlikte daha yüksek plazma AMH konsantrasyonlarına sahip olduğu raporlanmıştır (Batista & ark., 2014). Bununla birlikte, AMH konsantrasyonlarının st ırklar arasında farklılık gösterip göstermediği tartışmalıdır. Bu yönde yapılan bir çalışma, ırklar arasında AMH konsantrasyonlarının farklılık gösterdiğini; en yüksek AMH konsantrasyonlarına Jersey ineklerinin, ardından melezlerin (Holstein × Jersey) ve ardından Holstein ineklerinin sahip olduğunu göstermiştir (Ribeiro & ark., 2014). Ayrıca, Gyr (*Bos indicus*) zebu dveleri, Murrah manda ve Holstein düvelere kıyasla daha yüksek AMH konsantrasyonuna sahip olduğu ifade edilmiştir (Baldrighi & ark., 2014).



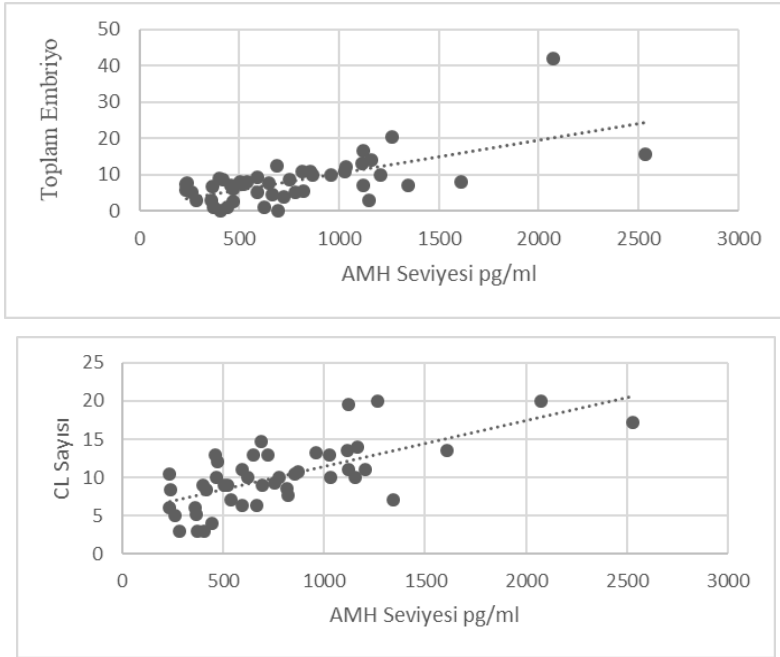
Şekil 8. Etçi ve sütçü ırklarda follikül sayıları, ovaryum büyüklüğü ve AMH seviyeleri

1.5. Follikül stimüle edici hormon uygulamasının etkisi

Hem AMH düzeyleri hem de AFC, ovaryum uyarıcı uygulamalara verilen yanıtı tahmin etmek için kullanılabilir. (Broekmans ve ark. 2006). Çiftlik hayvanlarında AMH seviyesinin ovaryumların süperovulasyon uygulamasına verilen cevabın bir belirteci olarak kullanımını desteklemek için yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bir kez doğum yapmış süt ineklerinde, süperovulasyon uygulaması öncesi AMH konsantrasyonları hem uygulamadan öncesi follikül sayısı ile hem de uygulamadan sonrası büyük follikül ve korpus luteum sayısı ile pozitif korelasyon göstermiştir (Rico ve ark. 2009). Laktasyonda bulunmayan Holstein ineklerinde, gonadotropin tedavilerinden önceki plazma AMH konsantrasyonları östrustaki büyük follikül sayısı ve süperovulasyon protokollerinden toplanan embriyoların sayısının yanı sıra, OPU ile toplanan oosit sayısı ve büyük follikül sayısı ile yüksek derecede korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur (Rico ve ark. 2012). Ayrıca, Japon Siyah sığırlarında, AMH konsantrasyonları follikül sayısı, geri kazanılan oosit / embriyo sayısı, fertilize olmuş embriyolar ve aktarılabilir embriyolar ile pozitif korelasyon göstermiştir (Hirayama & ark., 2012). Laktasyondaki Holstein ineklerde, AMH konsantrasyonları süperovulasyon yanıtı, toplanan toplam oositler ve toplam transfer edilebilir embriyolar ile ilişkili

bulunmuştur. Ayrıca inekler AMH düzeyleri bakımından 4 gruba ayrılarak yapılan bir çalışmada, AMH düzeyleri en yüksek olan grubun süperovulasyon cevabının diğer gruplara göre iki kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (Souza & ark., 2015).

Simental ırkı hayvanlarda yapılan bir çalışmada süperovulasyon sonrası elde edilen CL sayısı ve embriyo sayısı bakımından AMH seviyesi ile pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir (Şekil 9.). Ayrıca donör hayvanlar AMH düzeylerine göre; düşük (<500 ng/ml), orta (501-1000 ng/ml) ve yüksek (>1000 ng/ml) olmak üzere üç gruba ayrılarak yapılan bir çalışmada AMH düzeyi ile korpus luteum ve total embriyo sayısı bakımından pozitif bir korelasyon olduğunda raporlanmıştır (Tablo 1.) (Sevgi & ark., 2019).



Şekil 10. Toplam embriyo sayısı ve CL sayısı ile AMH düzeyinin karşılaştırılması

Tablo 1. Farklı AMH seviyelerine sahip grupların süperovulasyon sonuçları

AMH grupları	n	Corpus luteum	Toplam oosit/embriyo	Transfer Edilebilir Embryo
<500	15	7.08±3.33 ^a	4.91±2.94 ^a	2.30±1.59 ^a
501-1000	18	9.89±2.42 ^a	7.07±3.42 ^a	3.33±2.69 ^a
>1000	13	13.82±4.21 ^b	13.80±9.65 ^b	4.08±2.77 ^a

Holstein, Kore Hanwoo besi sığırları ve Bos Indicus (Zebu) sığırlarda yapılan çalışmalarda da AMH ve OPU ile *in vitro* embriyo üretimi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (Ghanem & ark., 2016; Guerreiro & ark., 2014; Vernunft & ark., 2014). Aynı zamanda süperovulasyon uygulamaları öncesi AMH konsantrasyonları koyun, keçi ve kısraklarda da süperovulasyona verilen yanıt hakkında öngörü sağladığı bildirilmiştir (Lahoz & ark., 2014).

1.6. Beslenmenin etkisi

Kan AMH konsantrasyonundaki değişiklikler; yaş ırk, tür gibi faktörlerin yanında beslenme durumundan da etkilenmektedir (Batista & ark., 2014). Sığırlarda negatif enerji dengesi (Baruselli & ark., 2018) ve insanlarda D vitamini seviyesi (Dennis & ark., 2012) gibi beslenme faktörleri dolaşımdaki AMH üzerinde bir etkiye sahip olduğu bazı çalışmalar ile desteklenmektedir. Holstein düvelerde uygulanan propilen glikol uygulamaları daha yüksek AMH konsantrasyonuna sahip düvelerde folikül sayısını ve blastosist kalitesini artırdığı, ancak daha düşük AMH konsantrasyonuna sahip düvelerde hiçbir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Gamarra & ark., 2015). Geçiş dönemindeki sütçü ineklerde negatif enerji dengesinin (NED) AMH ile karşılaştırılarak AMH'nin bir sonraki tohumlama döneminde belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını dair yapılan bir çalışmada NED'in önemli belirteçlerinden BHB'nin ve serbest gliserolün AMH

konsantrasyonu üzerine etkisi olduğu raporlandı. Serum AMH konsantrasyonunun mineral seviyelerinden ziyade inek Total protein (TP), triacylglycerol (TAG), β -Hydroxybutyrate (BHB) gibi enerji dengesini yansıtan parametrelerle yakından ilişkili olduğu görölmüştür. Yüksek doğum öncesi AMH seviyelerine sahip ineklerin ve negatif enerji dengesinden daha erken çıkan ineklerin daha az tohumlama sayısıyla gebe kaldığı belirlenmiştir (İleritürk & Kaynar, 2023).

Sonuç

Sonuç olarak, yapılan birçok çalışma incelendiğinde; yüksek AMH düzeyine sahip çiftlik hayvanları, düşük AMH düzeyine sahip hayvanlarla kıyaslandığında hem fertilitenin ve süperovulasyona verilen cevabın yüksek olduğu hem de sürüde kalma sürelerinin daha uzun olduğu sonucunu desteklemektedir.

Kaynaklar

Baldrighi, J., Sá Filho, M. F. d., Batista, E. d. O. S., Lopes, R., Visintin, J. A., Baruselli, P. S., & Assumpção, M. (2014). Anti-Mullerian Hormone Concentration and Antral Ovarian Follicle Population in Murrah Heifers Compared to Holstein and Gyr Kept Under the Same Management. *Reproduction in domestic animals*, 49(6), 1015-1020.

Baruselli, P. S., Batista, E. O. S., Vieira, L. M., & Souza, A. (2018). Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 12(3), 487-497.

Batista, E., Macedo, G., Sala, R., Ortolan, M. D. D. V., Sá Filho, M. F. d., Del Valle, T. A., . . . Baruselli, P. S. (2014). Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in Bos indicus (Nelore) and Bos taurus (Holstein) heifers. *Reproduction in domestic animals*, 49(3), 448-452.

Dennis, N. A., Houghton, L. A., Jones, G. T., Van Rij, A. M., Morgan, K., & McLennan, I. S. (2012). The level of serum anti-Müllerian hormone correlates with vitamin D status in men and women but not in boys. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(7), 2450-2455.

Eilsø, M., Rasmussen, I., Fukuda, M., Westergaard, L., & Yding Andersen, C. (2010). Concentrations of anti-Müllerian hormone in fluid from small human antral follicles show a negative correlation with CYP19 mRNA expression in the corresponding granulosa cells. *Molecular Human Reproduction*, 16(9), 637-643.

Gamarra, G., Ponsart, C., Lacaze, S., Le Guienne, B., Humblot, P., Deloche, M.-C., . . . Ponter, A. (2015). Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum

pick-up in heifers with different anti-Müllerian hormone profiles. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(8), 1249-1261.

Ghanem, N., Jin, J., Kim, S.-S., Choi, B., Lee, K., Ha, A., . . . Kong, I. (2016). The anti-Müllerian hormone profile is linked with the in vitro embryo production capacity and embryo viability after transfer but cannot predict pregnancy outcome. *Reproduction in domestic animals*, 51(2), 301-310.

Guerreiro, B., Batista, E., Vieira, L., Sá Filho, M., Rodrigues, C. A., Netto, A. C., . . . Monteiro, F. (2014). Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic animal endocrinology*, 49, 96-104.

Hansen, K. R., Hodnett, G. M., Knowlton, N., & Craig, L. B. (2011). Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertility and sterility*, 95(1), 170-175.

Hehenkamp, W. J., Looman, C. W., Themmen, A. P., de Jong, F. H., Te Velde, E., & Broekmans, F. J. (2006). Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(10), 4057-4063.

Hirayama, H., Kageyama, S., Naito, A., Fukuda, S., Fujii, T., & Minamihashi, A. (2012). Prediction of superovulatory response in Japanese Black cattle using ultrasound, plasma anti-Müllerian hormone concentrations and polymorphism in the ionotropic glutamate receptor AMPA1/GRIA1. *Journal of Reproduction and Development*, 1203020443-1203020443.

İleritürk, M., & Kaynar, Ö. (2023). Effect of Anti-Mullerian Hormone, Metabolic Profile and Mineral Levels at

Transition Period On The Calving–Conception Interval in Cows. *Kocatepe Veterinary Journal*, 16(2), 143-159.

Ireland, J., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A., Ward, F., Lonergan, P., . . . Ireland, J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of reproduction*, 79(6), 1219-1225.

Ireland, J., Smith, G., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Folger, J., Ireland, J., . . . Evans, A. (2010). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(1), 1-14.

Josso, N., Cate, R. L., Picard, J.-Y., Vigier, B., Di Clemente, N., Wilson, C., . . . Boussin, L. (1993). Anti-Müllerian hormone: the Jost factor. *Recent progress in hormone research*, 1-59.

Jost, A. (1947). The Age Factor in the Castration of Male Rabbit Fetuses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 66(2), 302-303. doi:10.3181/00379727-66-16071

Kevenaar, M. E., Meerasahib, M. F., Kramer, P., van de Lang-Born, B. M., de Jong, F. H., Groome, N. P., . . . Visser, J. A. (2006). Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*, 147(7), 3228-3234.

Lahoz, B., Alabart, J., Cocero, M., Monniaux, D., Echegoyen, E., Sánchez, P., & Folch, J. (2014). Anti-Müllerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: an endocrine predictor to

select the best donors for embryo biotechnologies. *Theriogenology*, 81(2), 347-357.

Lee, M. M., & Donahoe, P. K. (1993). Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocrine Reviews*, 14(2), 152-164.

Monniaux, D., Baril, G., Laine, A.-L., Jarrier, P., Poulin, N., Cognié, J., & Fabre, S. (2011). Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction*, 142(6), 845-854.

Monniaux, D., Drouilhet, L., Rico, C., Estienne, A., Jarrier, P., Touzé, J.-L., . . . Dalbiés-Tran, R. (2012). Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(1), 1-16.

Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Weber-Nielsen, M., Evans, A. C., & Ireland, J. (2017). Anti-Müllerian hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction*, 154(1), R1-R11.

Nelson, S. M., Anderson, R. A., Broekmans, F. J., Raine-Fenning, N., Fleming, R., & La Marca, A. (2012). Anti-Müllerian hormone: clairvoyance or crystal clear? *Human Reproduction*, 27(3), 631-636.

Pfeiffer, K., Jury, L., & Larson, J. (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic animal endocrinology*, 46, 58-64.

Rajpert-De Meyts, E., Jørgensen, N., Græm, N., Müller, J., Cate, R. L., & Skakkebaek, N. E. (1999). Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(10), 3836-3844.

Ribeiro, E., Bisinotto, R., Lima, F., Greco, L., Morrison, A., Kumar, A., . . . Santos, J. (2014). Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of dairy science*, 97(11), 6888-6900.

Rico, C., Fabre, S., Médigue, C., Clemente, N. d., Clément, F., Bontoux, M., . . . Rémy, B. (2009). Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of reproduction*, 80(1), 50-59.

Rico, C., Médigue, C., Fabre, S., Jarrier, P., Bontoux, M., Clément, F., & Monniaux, D. (2011). Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of reproduction*, 84(3), 560-571.

Sevgi, R., Erdem, H., Karaşahin, T., Yılmaz, M. A., Satılmış, M., Okuroğlu, A., . . . Satılmış, F. (2019). Determination of the relationship between serum anti-Müllerian hormone level and superovulatory response in Simmental cows. *Reproduction in domestic animals*, 54(10), 1322-1329.

Souza, A., Carvalho, P., Rozner, A., Vieira, L., Hackbart, K., Bender, R., . . . Wiltbank, M. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of dairy science*, 98(1), 169-178.

Streuli, I., Fraise, T., Pillet, C., Ibecheole, V., Bischof, P., & De Ziegler, D. (2008). Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertility and sterility*, 90(2), 395-400.

Takahashi, M., Hayashi, M., Manganaro, T. F., & Donahoe, P. K. (1986). The ontogeny of mullerian inhibiting

substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of Reproduction*, 35(2), 447-453.

Tsepelidis, S., Devreker, F., Demeestere, I., Flahaut, A., Gervy, C., & Englert, Y. (2007). Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Human Reproduction*, 22(7), 1837-1840.

Van Rooij, I., Broekmans, F., Te Velde, E., Fauser, B., Bancsi, L., De Jong, F., & Themmen, A. (2002). Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction*, 17(12), 3065-3071.

Vernunft, A., Schwerhoff, M., Viergutz, T., Diederich, M., & Kuwer, A. (2014). Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes. *Journal of Reproduction and Development*.

Vigier, B., Tran, D., Legeai, L., Bezard, J., & Josso, N. (1984). Origin of anti-Mullerian hormone in bovine freemartin fetuses. 70, 473-479.

BÖLÜM III

Atlarda Genetik Analiz ile Yarış Performansının Ortaya Konması

İrem Pınar DALMIZRAK¹
Ergün AKÇAY²

Giriş

At yarışları, düz ve engelli koşu olmak üzere iki temel kategoride gerçekleşir. Düz koşular, genellikle en yetenekli yarış atlarının katıldığı ve yüksek ödüllerin bulunduğu prestijli yarışlardır. Engelli koşularda ise daha yaşlı atlar, yüksek ve kalın engelleri aşma yeteneklerini sergilerler.

Klasik at yarışlarının yanı sıra, "yaşa göre ağırlık" veya handikap koşuları gibi farklı formatlarda yarışlar da düzenlenir. Ancak, atların yaşlarından kaynaklanan eşitsizlik, yaşça daha büyük atların diğerlerinden daha fazla ağırlık taşımasıyla denge sağlanır. Ayrıca atların taşıdığı ağırlık, geçmişte elde ettikleri dereceler de dikkate alınarak belirlenir. Atın taşıdığı ağırlık,

¹ Veteriner Hekim, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, irempinardalmizrak@gmail.com

² Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara/Türkiye, akcay@ankara.edu.tr

temel olarak binici (jokey) ve eyer tarafından belirlenir. Ancak, gerektiğinde eyerin altına, içinde kurşun bulunan ağırlık torbası eklenir.

Günümüzde at yarışları, Uluslararası Binicilik Federasyonu'na (FEI) bağlı olan farklı binicilik branşları altında düzenlenir. Engel Atlama, At Terbiyesi ve Engelli At Terbiyesi, 3 Günlük Yarışma, Atlı Dayanıklılık, Voltij (Atlı Jimnastik), Atlı Arabacılık ve Engelli Atlı Arabacılık ve Dizginleme gibi çeşitli branşlar, at sporlarını çeşitlendirir. Bunun yanı sıra, disipline edilmemiş kültürel sporlar arasında Polo, Varil Yarışları, Horseball, Atlı Okçuluk gibi at üzerinde yapılan gösteri veya yarış amaçlı sporlar da mevcuttur.

1. Türkiye'de Yarış Atçılığı

Türkiye'de yarış atçılığı, zengin tarihsel geçmişiyle dikkat çeken köklü bir spor dalıdır. Osmanlı İmparatorluğu döneminde, atlar sadece savaşlarda değil, aynı zamanda eğlence ve gösteri amaçlı olarak da kullanılmıştır.

Türkiye Cumhuriyeti'nin kuruluşuyla birlikte, yarış atçılığı daha da popüler hale gelmiş ve ülkemizde birçok yarış pisti kurulmuştur. Bu tesisler, at yetiştiriciliği, eğitimi ve yarış organizasyonları için önemli bir altyapı oluşturmuştur. Türkiye'nin yarış atçılığı geleneği hem spor hem de kültürel miras açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu alandaki tarihsel kökler, günümüzdeki yarış atçılığı endüstrisinin şekillenmesinde etkili olmaya devam etmektedir.

2. Yarış Performansını Etkileyen Faktörler

Atların yarış performansları, genetik ve çevresel faktörlerden etkilenir. Genetik faktörler, atın anasından ve babasından aldığı genetik mirası temsil eder. Bu genler, atın yarış performansında belirgin bir etki gösterir. Genetik etkiyi ifade eden kalıtım derecesi, atın yarış performansındaki genetik faktörlerin payını belirtir. Yani, her bir atın genetik farklılıkları vardır ve bu durum yarış performansını etkiler. Ancak pratikte,

spor yaşamına veya yetiştirmeye alınan atların genetik değerine tam olarak odaklanmak mümkün değildir. Bu nedenle, atların seleksiyonu genellikle fenotiplerine (görünür özelliklerine) dayanır.

Genetik ilerlemeyi sağlamak için seleksiyonun doğru bir şekilde yapılabilmesi için çevresel faktörlerin, özellikle performans üzerinde etkili olanların düzeltilmesi önemlidir. Bu, özellikle kalıtım derecesi düşük olan karakterlerde seleksiyonun etkisinin doğru bir şekilde artırılmasına yardımcı olur.

2.1. Çevresel Faktörler

Yarış performansına etki eden çevresel faktörler arasında atın vücut yapısı, bakım-besleme, idman, pistin durumu, cinsiyet, mesafe, yaş, ana yaşı, binici ve atın taşıdığı ağırlık gibi birçok çeşitli faktör bulunmaktadır.

Atlar farklı mesafelerde, yaşlarda, yüzeylerde ve hava koşullarında yarışır. Daha önce yapılan bazı çalışmalar, yaş, jokey, kilo ve yarış sezonunun yarış süreleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Willham & ark.,1995).

Yarış başarısını belirleyen çeşitli fenotipik ölçüler vardır. 2005 yılında yayımlanan bir çalışma, 1992-2002 yılları arasında 32,145 yarışı inceleyerek cinsiyet, ırk, yaş gibi faktörlerin yarış süresine etkisini değerlendirmiştir. Bu çalışmada, erkek atların tüm mesafelerde dişi atlardan önemli ölçüde üstün olduğu, 4 yaşındaki atların diğer yaşlardan daha hızlı olduğu ve 5 yaşından büyük atların genellikle daha düşük bir performans gösterdiği görülmüştür (Oliveira & ark., 2005).

Tay doğduğunda, anasının sahip olduğu yaş, ananın yaşını temsil eder. Bu konuda yapılmış çalışmaların sayısı oldukça sınırlıdır ancak mevcut çalışmalara göre, tayın performansı ile ananın yaşı arasında bir ilişki olabileceği belirtilmiştir. İngiliz atları üzerinde yapılan bir araştırmaya göre, genç analardan doğan tayların daha yüksek performans

gösterdiği ve ananın yaşının arttıkça yarış performansının azaldığı gözlemlenmiştir (Barron, 1995).

Bu çeşitli faktörler arasında beslenme, atların yarış performansı üzerinde kritik bir etkiye sahiptir. Uygun beslenme, atların enerji ihtiyaçlarını karşılar, kas gelişimini destekler, dayanıklılığı artırır ve sağlık durumunu iyileştirir. Yüksek kaliteli yemler, protein, karbonhidrat, yağ, vitamin ve mineral sağlayarak bu gereksinimleri karşılar. Ayrıca, yeterli su alımı performans için önemlidir. İyi beslenen atlar, daha güçlü bir bağışıklık sistemine sahip olur ve sakatlanma riski azalır. Dolayısıyla, uygun bir beslenme programı atların optimal performansını sağlamak için hayati öneme sahiptir.

Yetersiz beslenme, yaşanan yaralanma sayısını artırabilir, ancak iyi beslenme yaralanmaları tamamen ortadan kaldıramaz. Bu yüzden yaralanmaları önlemenin en iyi yolu, kemikleri güçlendirmek için gereken egzersizle ilgili gelişen bilgiyi kullanmak ve bunu uygun bir beslenme programıyla birleştirmektir (Nielsen, 2023).

2.2. Genetik Faktörler

Farklı ırklar arasında ve aynı ırkın bireyleri arasında performans bakımından genetik farklılıklar bulunmaktadır. Örneğin, Arap atları genellikle kısa mesafeli hızlı koşular için yetenekliyken, İngiliz atları uzun mesafe dayanıklılığı konusunda öne çıkmaktadır. Bu farklılıklar, genetik yapılarından kaynaklanmaktadır. Bu genetik farklılıklar, atların atletik yetenekleri, enerji metabolizması, iskelet yapısı, hemogloblin seviyeleri, kardiyovasküler sistem, stresle başa çıkma ve davranışı etkileyen çeşitli genlerle ilişkilidir.

Sağlığı ve davranışları etkileyen genlere ek olarak kas-iskelet sistemi, kardiyovasküler sistem ve diğer sistemleri etkileyen genler, atletik performansla doğrudan ilgilidir (Petersen & ark., 2022).

Ancak, bu genetik özellikler, çevresel faktörlerle birleştiğinde tam anlamıyla ortaya çıkar. Atın antrenman programları, eğitim yöntemleri, beslenme alışkanlıkları, veteriner bakımı ve psikolojik durumu gibi çevresel faktörler, genetik potansiyeli etkiler ve performansın önemli bir bileşeni haline gelir. Örneğin, atletik yetenekle ilgili genlerin yanı sıra, spesifik genetik faktörlerin, epigenetik etkilerin, doğru antrenman yönetiminin, sağlıklı beslenmenin ve psikolojik durumun, atların yarış pistindeki başarıları üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Bu unsurların birbirleriyle etkileşimleri, at yarışlarında üst düzey performansın sağlanması için önemli bir rol oynar.

2.3. Genetik Faktörlerin Çevresel Etkileşimleri

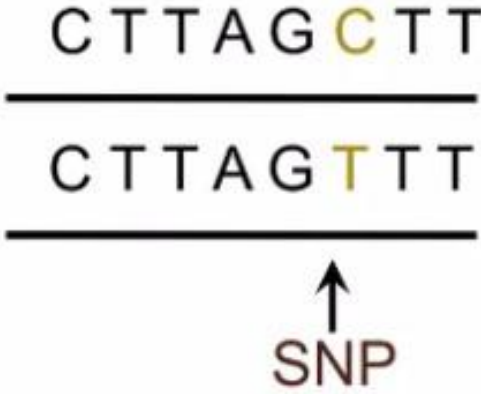
Bir atın hangi koşullarda nasıl performans göstereceği, genetik özellikleri ile çevresel faktörlerin birbirleriyle nasıl etkileşimde bulunduğuyla bağlıdır. Dolayısıyla, at yetiştiricileri ve eğitmenleri, atların genetik yapısını değerlendirirken aynı zamanda çevresel şartları da göz önünde bulundurmalıdır. Bu sayede, atların genetik potansiyellerini en iyi şekilde kullanmalarını sağlayacak uygun bir eğitim ve bakım programı oluşturabilirler.

Türkiye Jokey Kulübü'ndeki Safkan Türk Arap atlarının çeşitli çevresel faktörlerle yarış performansları arasındaki ilişkileri belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada çim pist, erkek cinsiyet, kısa mesafe, 9-12 yaş arası ana yaş, 3 yaş ve yarışın İstanbul şehrinde gerçekleştirilmesi diğer faktörlere göre daha etkili olduğu görülmüştür (Yıldırım, 2019).

3. Atlarda Önemli SNP Genotipleri

Genetik varyasyonlar, spor atlarının yeteneklerini ve performanslarını belirlemede kritik bir rol oynar. Bu varyasyonlar, dayanıklılık, hız, güç ve diğer spor performansı özelliklerini etkileyebilir. Özellikle, tek nükleotid

polimorfizmleri (SNP) gibi genetik değişiklikler, atların genetik profillerinde belirgin farklılıklara neden olabilir. SNP'ler, DNA dizisinde tek bir nükleotid değişikliğinden kaynaklanan genetik varyasyonlardır. Bu değişiklikler genellikle bir nükleotidin (adenin, timin, sitozin veya guanin) bir başka nükleotide dönüşmesiyle oluşur (Şekil 1). Bu farklılıklar, atların genetik profillerini şekillendirir ve antrenman yanıtını, yaralanma riskini ve performans potansiyelini etkiler.



Şekil 1: Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)

Tablo 1: Performansa Etki Eden Genler ve Etkileri

Gen	SNP'lerin Performansa Etkisi
MSTN	Kas kütlesinde artış
ACTN3	Kas lifi tipinde değişiklikler
GYS1	Enerji depolama kapasitesinde değişiklikler
DMRT3	Yürüme tarzını etkileme
COX4I2	Enerji üretimini etkileme
PDK4	Aerobik metabolizmayı etkileme
CKM	Kas gücü ve dayanıklılığı etkileme
MCT1	Laktat taşıma kapasitesinde değişiklikler

3.1. Myostatin Geni (MSTN Geni)

MSTN geni, kemik kas kütlesi üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Myostatin, kas liflerinin sayısını ve büyümesini negatif yönde düzenleyerek kas büyümesini kontrol eder. Yani, bu gen normalde kas gelişimini sınırlandıran bir rol oynar.

Atlar üzerinde yapılan genetik araştırmalar, MSTN genindeki belirli mutasyonların, yani SNP'lerin, kas kütlesinde artışa ve daha etkili kas gelişimine yol açabileceğini göstermektedir. Bu mutasyonlar, atların genetik olarak daha fazla kas kütlesine sahip olmasına ve dolayısıyla atletik performanslarını artırmasına neden olabilir.

MSTN lokusundaki varyasyonlar, İngiliz atlarında yapılan bir çalışmada yarış fenotiplerini etkilemekte olup,

özellikle erken iskelet kas gelişimini ve kısa mesafeli yarışlara olan yatkınlığı belirgin bir şekilde etkilediği görülmüştür (Bower & ark., 2012).

MSTN geninde bulunan g.66493737C>T polimorfizmi, yarış atlarının en uygun yarış mesafesini belirlemede en etkili genetik işaretçi olarak tanımlanmıştır. Bu polimorfizm, atların kısa mesafe (sprint) veya orta-uzun mesafe (mile) yarışlara olan yatkınlığını belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Gu & ark., 2010).

Yapılan başka bir çalışmada, SNP'deki MSTN genotiplerini belirlenerek, C/C genotipli atların sprint yarışları için, C/T genotipli atların orta mesafe yarışları için ve T/T genotipli atların uzun mesafe yarışları için daha uygun olduğu tespit edilmiştir (Rooney & ark., 2018).

3.2. Alfa Aktinin-3 Geni (ACTN3)

ACTN3 geni, kas liflerinin yapısal, metabolik ve sinyal iletimi süreçlerinde önemli bir rol oynayan α -aktinin-3 adlı bir kas proteini kodlar. Bu genin mutasyonları veya eksiklikleri, α -aktinin-3 proteininin yetersiz üretilmesine neden olur. Bu durum, kas liflerinin fenotipinde belirgin değişikliklere sebep olur. Özellikle, hızlı kas liflerinin yerine yavaş kas liflerinin arttığı gözlemlenir. α -aktinin-3 eksikliği olan atlarda, glikojen fosforilaz aktivitesinin azalması sonucunda enerji kullanımı daha çok oksidatif yollara yönelir (Berman & North, 2010) . Bu genetik değişiklik, aerobik enerji kapasitesinde artışa yol açabilir, ancak sprint ve güç performansında azalmaya neden olabilir.

Kalsinörin, kas hücrelerinde önemli bir rol oynayan bir enzimdir ve kalsiyum iletişimi için kilit bir faktördür. α -aktinin-3 eksikliği durumunda, kalsinörin aktivitesindeki artış, kas liflerinin metabolizmasını ve kontraksiyon özelliklerini

düzenleyen bir dizi hücresel süreci etkileyerek, dayanıklılık antrenmanına daha etkili bir şekilde yanıt verilmesini sağlar.

Yapılan bazı çalışmalarda α -aktinin-3 eksikliğinin kaslarda kalsinörin aktivitesindeki artışa sebep olduğu ve kalsinörinin de kas lifi tipinin belirlenmesini etkileyerek, dayanıklılık antrenmanına geliştirilmiş uyum tepkisine yol açtığı gözlemlenmiştir (Wang & ark., 2018).

İnsan ACTN3 geninde bulunan yaygın bir tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olan R577X'nin, elit sporcular ve genel nüfus üzerinde kas performansını etkilediği ortaya konmuştur (Demirci & ark., 2023). Bu nedenle, atlar üzerindeki etkisi düşünülen equine ACTN3 (eACTN3), at performansını etkileyebilecek potansiyel bir aday olarak değerlendirilmektedir.

3.3. Glikojen Sentaz Geni (GYS1 Geni)

GYS1 geni, atlarda performans üzerinde önemli bir etkiye sahip olan bir gen olarak bilinir. Bu gen, glikojenin sentezinde önemli bir rol oynayan glikojen sentaz enzimini kodlar ve kaslardaki enerji depolama kapasitesinde kilit bir rol oynar. Atlarda dayanıklılık ve uzun süreli egzersiz performansının belirlenmesinde etkili olan GYS1 geni, enerji kullanımını düzenleyerek atların dayanıklılığına katkı sağlar. GYS1 genindeki genetik varyasyonlar, atlarda enerji üretimi ve depolama kapasitesinde farklılıklara neden olabilir, bu da performans özelliklerinde çeşitlilik yaratabilir.

Yapılan çalışmalar, atların Polisakkarid Depo Miyopatisi (PSSM) fenotipinin GYS1 genindeki bir mutasyondan kaynaklandığını göstermiştir (McCue ve ark., 2008a; McCue & ark., 2008b). PSSM, kaslarda anormal miktarda glikojen birikimiyle karakterize olan bir hastalıktır ve atların performansını olumsuz etkileyebilir. Bu bulgu, GYS1 genindeki mutasyonların atların kas metabolizmasını

etkileyebileceğini ve dolayısıyla performanslarına zarar verebileceğini göstermektedir.

3.4. Doublesex ve mab-3 ile ilgili Transkripsiyon Faktörü 3 (DMRT3)

DMRT3 geni, omurilikte belirli bir bölgede ifade edilir ve ekstremitelerin hareketlerini koordine eden sinir hücrelerinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Bu, hayvanların adımlarını kontrol etmelerinde kritik bir rol oynar. Özellikle atların yürüme tarzını etkileyen bir gen olarak bilinen DMRT3, atların koordineli ve belirli bir şekilde hareket etmelerini sağlayarak bu hayvanların hareket kabiliyetini yönlendirir. DMRT3 genindeki belirli genetik varyasyonlar veya SNP'ler, atların hareket kabiliyetini ve yürüyüş tarzını etkileyebilir. Özellikle yarış atlarında, DMRT3 genindeki bazı SNP'lerin hız, dayanıklılık ve performans üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Jäderkvist & ark., 2014). Dolayısıyla, DMRT3 geni, atların atletik yeteneklerini ve yarışma performansını belirlemede önemli bir rol oynamaktadır.

3.5. Sitokrom C Oksidaz Alt Birimi 4 İzofor 2 Geni Geni (COX4I2)

COX4I2 geni, atların performansını etkileyen bir gen olarak bilinir. Sitokrom C oksidaz kompleksi içinde yer alan bu gen, hücresel solunumda önemli bir rol oynar. Belirli SNP'ler (Tek Nükleotid Polimorfizmleri) veya genetik varyasyonlar, COX4I2 geninin aktivitesini değiştirebilir ve atların enerji üretimini, oksijen taşıma kapasitesini ve dolayısıyla dayanıklılık ve genel performansını etkileyebilir. COX4I2 geni üzerindeki genetik farklılıkların, özellikle dayanıklılık gerektiren sporlarda, atların rekabet avantajı sağlayabileceği belirtilmiştir (Hill & ark., 2010). Bu gen, atların oksijen kullanımını düzenleyerek genel atletik performanslarını etkileyen önemli bir faktördür.

3.6. Pirovat Dehidrojenaz Kinaz 4 Geni (PDK4 Geni)

Bu gen, hücrelerdeki pirüvat dehidrojenaz kompleksi (PDH) üzerinde kontrol sağlayarak hücresel enerji üretimini düzenler. PDH kompleksi, pirüvatın mitokondri içine girerek Krebs döngüsüne katılmasını ve burada enerji üretimi için kullanılmasını sağlar.

PDK4 geni, PDK4 proteinini kodlar ve bu protein PDH kompleksini inhibe eder. Yani, PDK4 geni etkin bir şekilde çalıştığında, PDH kompleksi daha az aktif olur ve dolayısıyla hücresel enerji üretimi azalır (Crewe & ark., 2017).

Atletik performans açısından, enerji metabolizması çok önemlidir. Çünkü yüksek performanslı spor aktiviteleri sırasında büyük miktarda enerjiye ihtiyaç duyulur. PDK4 geninin aktivitesi, hücresel enerji üretimini etkilediği için, bu genin varyantları atların enerji metabolizması ve dolayısıyla performansı üzerinde etkili olabilir. Bu nedenle, PDK4 geni ve çeşitli varyantları, atların genetik performansını belirlemede önemli bir rol oynar. Özellikle dayanıklılık gerektiren spor dallarında bu genin varyantları performans farklılıklarına neden olabilir (Pereira & ark., 2015).

İngiliz atlarına kıyasla daha uzun mesafelerde dayanıklılık yarışlarında kullanılan Arap ırkında PDK4 geninin (g.38973231A > G) G alelinin daha yüksek bir sıklığa sahip olduğu bulunmuştur (Regatieri & ark., 2017). Bu durum, PDK4 genindeki bu özel varyasyonun aerobik metabolizma ile ilişkilendirilmesi ve bu sebeple dayanıklılığı test eden yarışlarda daha büyük önem taşıması anlamına gelmektedir (Wilkin & ark., 2017).

3.7. Kreatin Kinaz Kas Geni (CKM Geni)

CKM geni, atlar ve diğer memelilerde bulunan bir gen olup, kaslarda bulunan kreatin kinaz enzimini kodlar. Kreatin kinaz enzimi, kaslarda enerji üretiminde önemli bir rol oynar

çünkü hücrelerde ATP sentezinde kullanılan kreatin fosfatın yeniden sentezini sağlar ve birçok türde egzersiz kapasitesi ile ilişkilendirilmiştir (Wilkin, Baoutina, & Hamilton, 2017).

Atletik performans açısından, kaslardaki enerji üretimi ve kullanımı çok önemlidir. Özellikle dayanıklılık ve kısa süreli yüksek şiddetli aktivitelerde, kaslardaki enerji üretimi hızlı bir şekilde artırılmalıdır. Bu noktada CKM geni devreye girer. Çünkü kreatin kinaz enzimi, hücrelerin hızlı ve etkili bir şekilde ATP sentezini sağlayarak kaslardaki enerji ihtiyacını karşılar.

Bu bağlamda, CKM geni ve çeşitli varyantları, atların kas gücü, dayanıklılık ve performansı üzerinde etkili olabilir. Bu genin farklı varyantları, kreatin kinaz enziminin aktivitesini ve dolayısıyla kasların enerji üretimini etkileyebilir. Bu nedenle, CKM geninin varyantları atların genetik performansını belirlemede önemli bir rol oynar.

İngiliz atlarının atletik özelliklerinde CKM geninin büyük öneme sahip olduğunu gösteren bir araştırmada, CKM geninin at iskelet kası RNA diziliminin %6.9'unu oluşturarak iskelet kaslarında en yaygın olarak ifade edilen gen olduğu görülmüştür (McGivney & ark., 2010).

3.8. Monokarboksilat Taşıyıcı 1 Geni (MCT1 Geni)

MCT1 geni, atların fizyolojik olarak yoğun egzersiz sırasında enerji üretimini etkileyen bir gen olarak bilinir. Bu gen, MCT1 adı verilen bir proteinin kodlanmasını sağlar. MCT1, hücre zarında bulunan bir taşıyıcı proteindir ve laktat gibi tek karboksilatlı bileşiklerin hücre içine ve dışına taşınmasını kolaylaştırır. Bu gen, özellikle dayanıklılık gerektiren spor aktiviteleri sırasında enerji metabolizmasında ve kaslardaki laktat metabolizmasında önemli bir rol oynar (Reeben & ark., 2006).

Dayanıklılık gerektiren spor aktiviteleri sırasında, kaslar yüksek oranda enerji üretir ve bu süreçte laktik asit oluşabilir.

Laktik asit birikimi, kas yorgunluğuna ve performansın düşmesine neden olabilir. MCT1 geni, hücre içinde oluşan laktik asidin hızlı bir şekilde dışarı taşınmasını sağlayarak bu durumu önleyebilir. Bu, kasların daha uzun süre boyunca yüksek yoğunluklu aktivitelere dayanmasına ve performansın artmasına yardımcı olabilir.

MCT1 geninin farklı varyantları, laktat taşıma kapasitesini ve dolayısıyla dayanıklılığı etkileyebilir. Bu nedenle, MCT1 geninin varyantları, atların dayanıklılık ve dayanıklılık gerektiren sporlardaki performansını belirlemede önemli bir rol oynar (Reeben & ark., 2006).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda, MCT1 genindeki belirli SNP'lerin, laktat taşıma aktivitesinde azalma ile ilişkilendirildiği ve egzersiz sırasında kan laktat konsantrasyonunun normalin üzerinde birikimine neden olduğu bulunmuştur (Fedotovskaya & ark. 2014).

Yapılan çalışmalar, MCT1 genindeki belirli bir polimorfizmin, atların yarış performansını farklı mesafe kategorilerinde etkileyebileceğini göstermektedir (Ropka-Molik ve ark., 2019). Özellikle GG genotipine sahip atların kısa mesafe yarışlarında başarılı olmadığı ancak orta ve uzun mesafelerde daha iyi performans sergilediği bulunmuştur. Bu sonuçlar, MCT1 genindeki polimorfizmin atların farklı mesafelerdeki performansını etkileyebileceğini ve genotipin yarış stilini belirlemede önemli bir faktör olabileceğini öne sürmektedir (Ropka-Molik & ark., 2019).

4. Genetik Profilin Belirlenmesi ve Analizi

Genetik profilin belirlenmesi ve analizi, atların yarışlardaki performansını anlamak için kritik bir adımdır. Bu analiz, atların genetik yapısını detaylı bir şekilde inceleyerek, performansı etkileyen genetik özellikleri belirlemeyi amaçlar. Bu süreç, atların dayanıklılığını, hızını ve gücünü etkileyen

genetik özelliklerin tanımlanmasına odaklanır. Ayrıca, bu analiz atlar arasındaki genetik çeşitliliği de ortaya koyar, böylece bir ırkın genel performans potansiyelini gösterir. Genetik profil belirleme, at yetiştiricilerine ve eğitmenlerine, her bir atın genetik gücünü anlama ve bu bilgiyi kullanma fırsatı sunar. Bu şekilde, atlar daha iyi seçilebilir ve genetik analiz sonuçlarına dayalı olarak özel antrenman ve bakım planları oluşturulabilir.

Genetik profil belirleme süreci, genellikle DNA analizleri, genetik markerlar ve genomik verilerin incelenmesi üzerine odaklanır. Bu analiz, atların dayanıklılık, hız, güç gibi performansla ilişkilendirilen genetik özelliklerini belirleme konusunda önemli bir role sahiptir. Ayrıca, genetik analiz sonuçları, atın genetik yapısının ötesinde performans potansiyelini de yansıtabilir. Örneğin, belirli genetik markerlar, dayanıklılık, hız veya sağlık özellikleriyle ilişkilendirilebilir. Aynı zamanda, genetik analiz, atların belirli hastalıklara veya genetik risklere karşı duyarlılıklarını değerlendirmek için de kullanılabilir.

4.1. Genetik Analiz ve Test Yöntemleri

SNP'ler, atların genetik yapısını anlamak ve çeşitli özelliklerini belirlemek için önemlidir. Bu genetik varyasyonlar, at ırkları arasındaki farklılıkları, adaptasyon yeteneklerini, hastalık risklerini ve diğer önemli özellikleri belirlemede kullanılır. SNP analizleri, at yetiştiricilerine genetik temelli seçim stratejileri oluşturmada ve istenen özelliklere sahip atların üretilmesinde yardımcı olabilir.

Bu analizler genellikle moleküler biyoloji yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilir. PCR tabanlı teknikler, mikrodizin analizi, DNA dizileme ve genotip analizi gibi yöntemler SNP'lerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır. Bu yöntemler, at genomundaki SNP'leri tespit etmek ve analiz etmek için önemli araçlar sağlar.

4.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, belirli DNA bölgelerinin çoğaltılması için kullanılan temel bir moleküler biyoloji tekniğidir. Bu yöntem, belirli DNA bölgelerinin çoğaltılmasıyla çalışır. Atın genetik materyali içindeki belirli genetik özelliklerin varlığını saptamak ve miktarını ölçmek için kullanılır. PCR, özellikle belirli genetik markerların varlığını belirlemek için yaygın olarak kullanılır. Farklı alt türleri arasında PCR-RFLP, PCR-HRM ve Allel Specific PCR bulunmaktadır.

4.1.1.1. PCR-Kısıtlama Parça Uzunluğu Polimorfizmi (PCR-RFLP)

Belirli SNP'lerin varlığını tespit etmek için kullanılan geleneksel bir yöntemdir. PCR ile DNA bölgesi çoğaltılır ve belirli bir restriksiyon enzimi kullanılarak bu bölgelerdeki polimorfizmler analiz edilir.

PCR-RFLP yöntemi, basit ve maliyeti düşük bir SNP tespit yöntemidir ve genotiplendirme için yaygın olarak kullanılır (Ota & ark., 2007).

4.1.1.2. PCR-High Resolution Melting (PCR-HRM)

PCR amplifikasyonunun gerçek zamanlı olarak izlenmesi ve DNA'nın erime eğrisinin incelenerek polimorfizmlerin belirlenmesini sağlayan bir test yöntemidir.

PCR-HRM yüksek çözünürlüklü erime eğrilerini kullanarak SNP'leri tespit eder, bu da hızlı ve hassas sonuçlar sağlar (Słomka & ark., 2017).

4.1.1.3. Allel Spesifik PCR

Belirli allelleri hedefleyen özelleştirilmiş primerlerin kullanıldığı bir PCR türüdür. Belirli bir alelin varlığını tespit etmek veya belirli bir aleli diğerlerinden ayırmak için kullanılır.

Allel Spesifik PCR, belirli allellerin tespitinde yüksek spesifiklik sağlar ve genellikle genotiplemenin yanı sıra alel sıklıklarının belirlenmesinde de kullanılabilir (Gaudet & ark., 2009).

4.1.2. Mikrodizin Analizi

DNA mikrodizilerinin belirli hedefler üzerindeki varyasyonlarını incelemek için kullanılan bir moleküler biyoloji test yöntemidir. Bu teknoloji, at genomunun belirli genlerini veya genomik bölgelerini incelenmesine odaklanır. Özellikle SNP tayini ve gen ekspresyon analizleri için yaygın olarak kullanılır.

Mikrodiziler, tasarlanmış özel prob dizileridir ve genellikle birçok hedef bölgeyi kapsayan bir panel oluştururlar. Bu prob dizileri, hedef bölgelerdeki özgün genetik varyasyonları tespit etmek üzere özel olarak tasarlanır.

Mikrodizin analizinin avantajları arasında yüksek hassasiyet, düşük maliyet ve yüksek ölçeklenebilirlik bulunmaktadır. Ancak, sınırlı sayıda hedef bölgeye odaklanma ve önceden belirlenmiş bir panel kullanımı gibi dezavantajları da vardır (McCue & ark., 2012).

4.1.3. DNA Dizileme (DNA Sequencing)

DNA sekanslama, atların genetik yapısını anlamak için kullanılabilen kapsamlı bir yöntemdir. Bu teknik, atın tüm DNA dizisini belirleyerek genetik kodunun tamamını incelemeyi sağlar. Bu sayede atın genetik özellikleri, potansiyel risk faktörleri ve performansı üzerinde etkili olan genler daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılabilir iki ana alt türü bulunmaktadır: Sanger Dizileme ve Next-Generation Sequencing (NGS).

4.1.3.1. Sanger Dizileme

Klasik bir DNA dizileme yöntemidir. Uzun süreçler gerektirir ve maliyetlidir, ancak tek baz çifti çözünürlüğü yüksektir ve hata oranı düşüktür.

4.1.3.2. Next-Generation Sequencing (NGS)

Next-Generation Sequencing (NGS), yüksek hızda ve eşzamanlı olarak DNA veya RNA dizilerinin belirlenmesini sağlayan bir teknolojidir. Bu teknoloji, Sanger dizileme yöntemine göre daha hızlı ve ekonomik bir şekilde çalışır. NGS, milyonlarca kısa DNA parçasını eş zamanlı olarak çoğaltarak ve dizileyerek genomun geniş bir bölümünü analiz etme kapasitesine sahiptir. Bu sayede, daha hızlı ve maliyet açısından daha etkin bir şekilde genetik analizler yapılabilir.

4.1.4. Genotip Analizi

Bu analiz, bir bireyin veya organizmanın belirli bir genin hangi varyantlarına sahip olduğunu belirlemek için yapılır. Genotip analizi, bireyler arasındaki genetik farklılıkları belirlemek için kullanılır ve genellikle PCR, dizi analizi veya mikrodizi gibi yöntemlerle gerçekleştirilir.

4.1.4.1. TaqMan Genotipleme Analizleri

TaqMan Genotipleme Analizleri, özel olarak tasarlanmış TaqMan prob setlerinin kullanıldığı bir SNP genotipleme yöntemidir. Bu yöntem, belirli bir SNP'nin varlığını veya yokluğunu belirlemek için kullanılır.

İlk olarak, SNP'nin bulunduğu bölgede yer alan DNA örnekleri, PCR tekniği ile çoğaltılır. Daha sonra, TaqMan prob setleri, hedef SNP'nin spesifik allelleriyle eşleşen kısa DNA parçalarını içerir. Bu prob setleri, farklı floresan etiketlerine sahip iki probdan oluşur: biri hedef SNP'nin alelinden, diğeri referans alelinden türetilmiştir.

PCR sırasında, TaqMan prob setleri hedef SNP'nin bulunduğu bölgede bağlanır. DNA çoğaltma sırasında, Taq DNA polimerazı her döngüde prob setleri ile eşleşen hedef bölgeyi tanıyarak çoğaltılan DNA'nın üzerinde hareket eder. Prob setleri, SNP'nin varlığına bağlı olarak hedef bölgeye bağlanır veya bağlanmaz.

PCR işlemi tamamlandıktan sonra, bir floresan algılayıcı kullanılarak prob setlerinin bağlanma durumu belirlenir. Eğer hedef SNP bulunuyorsa, TaqMan prob seti floresan yayacaktır. SNP yoksa, prob seti floresan yaymayacaktır.

Bu şekilde, TaqMan Genotipleme Analizleri, belirli SNP'lerin genotiplerini hızlı, hassas ve güvenilir bir şekilde belirlemek için kullanılır. Bu yöntem, genetik araştırmalarda, tıbbi teşhislerde ve diğer uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır (Hui & ark., 2008).

4.1.5. Gen İfadesi Analizleri

Gen ifadesi analizleri, atların genetik bilgilerini daha derinlemesine inceleyen bir diğer tekniktir. Bu analizler, atın genlerinin hangi koşullarda ve ne ölçüde ifade edildiğini belirleyerek, genetik faktörlerin performansla olan etkisini anlamaya yöneliktir.

Bu analizler, gen ifadesi düzeylerini ölçerek, genlerin belirli bir hücresel veya fizyolojik durumda ne kadar aktif olduklarını belirler. Gen ifadesi analizleri genellikle RNA düzeyinde yapılır çünkü RNA, gen ifadesinin bir göstergesi olarak hızlı bir şekilde değişebilir.

Bu genetik analiz yöntemleri, atların genetik yapısını anlamak ve genetik faktörlerin performans üzerindeki etkisini değerlendirmek için önemli araçlardır.

Gen ifadesi analizleri, gen ifadesi profillerini belirlemek için çeşitli yöntemler kullanır. Bu yöntemler arasında

mikroarray teknolojisi, RNA dizileme (RNA-seq), kantitatif PCR (qPCR) ve Northern blot gibi teknikler bulunur. Bu analiz yöntemlerinden mikroarray teknolojisi ve RNA-seq, SNP'lerin analizi için uygun olan yöntemlerdir (Park & ark., 2012).

Mikroarray teknolojisi, birçok genin aynı anda analiz edilmesine izin veren bir tekniktir. Bu yöntem, bir örnekteki gen ifadelerinin göreceli miktarlarını belirlemek için kullanılır. Ancak, mikroarraylerin tasarımı ve kullanımı maliyetlidir ve bazen analizdeki hataların düzeltilmesi zor olabilir.

RNA-seq, yüksek çözünürlükte ve kapsamlı bir şekilde gen ifadesini belirlemek için kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem, bir örnekteki tüm RNA moleküllerini dizinleyerek ve nicelendirerek gen ifade profillerini oluşturur. Ancak, RNA-seq analizi maliyetlidir ve veri analizi karmaşık olabilir.

5. Yapılan Çalışmalar ve Elde Edilen Değerler

Elde edilen sonuçlar, MSTN, ACTN3, DMRT3, COX4I2, PDK4, CKM ve MCT1 gibi genlerdeki varyasyonların, atların kas yapısı, enerji metabolizması ve dayanıklılığı üzerinde belirgin etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Tablo 1).

Yapılan çalışmalarda MSTN genindeki SNP'lerin, atların kas kütlesinde artışa ve daha etkili kas gelişimine yol açtığı görülmüştür (Pira & ark., 2021). Bu çalışmalarda, MSTN genotiplerinin belirlendiği SNP'ler üzerindeki tespitler, farklı genotiplere sahip atların farklı yarış mesafeleri için daha uygun olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, C/C genotipli atların sprint yarışları için, C/T genotipli atların orta mesafe yarışları için ve T/T genotipli atların uzun mesafe yarışları için daha uygun olduğu belirlenmiştir (Rooney & ark., 2018). Bu bulgular, MSTN genindeki SNP'lerin atların yarış performansını belirlemede potansiyel bir gösterge olduğunu öne sürmektedir.

Ayrıca, MSTN geninde birkaç mutasyon veya polimorfizm, sığır, koyun, fare ve insanlarda tanımlanmış olup, hiperplazi ve kas hipertrofisi fenotiplerine yol açmaktadır (McPherron & ark., 1997; Fiems, 2012).

ACTN3 geni, iskelet kas fonksiyonunu ve metabolizmasını etkileyen önemli genetik faktörlerden biri olarak kabul edilirken, bu gen ile belirli kas lifi tipleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (Vincent & ark., 2007). Yapılan diğer çalışmalarda, α -aktinin-3 eksikliği, ACTN3 geninde belirli SNP'lerle ilişkilendirilmiş ve bu durum, kas lifi tipini etkileyerek atların dayanıklılık antrenmanına daha iyi uyum sağlamasına yol açmıştır (Wang & ark., 2018).

Mitokondriyal solunum zincirinin terminal enzimi olan sitokrom c oksidaz 4 (COX4), dayanıklılık performansını belirlemede rol oynadığı öne sürülmektedir. At iskelet kaslarında, COX4 ifadesinin antrenmanla arttığı ve atletik yetenekle pozitif bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Wilkin & ark., 2017).

COX4I2 dizilimindeki bir tek nükleotid polimorfizmi (g.22684390C > T), Safkan atlarında üstün sprint yarış performansı ile zayıf bir bağlantı tespit edilmiştir (Gu & ark., 2010).

COX4'in artan ifadesi, vücutta daha fazla ısı üretimine katkıda bulunur, bu da vücut sıcaklığını ve enerji metabolik dengesini korumaya yardımcı olur. Önceki araştırmalarda, COX4I2 geninin egzersiz kapasitesi ile ilişkilendirilmiştir ve ayrıca Çin sığırlarında COX4I2 geninin bir tek nükleotid polimorfizmi çevresel adaptasyonla ilişkilendirilmiştir (Quji & ark., 2023).

Farelerde yapılan çalışmalar, DMRT3 geninin normal spinal kord gelişimi ve koordinasyonlu bir hareket ağı oluşumunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur

(Andersson & ark., 2012). Dmrt3 eksikliği, interneuronların gelişimini etkileyebilir ve spinal korddaki lokomotor aktiviteyi düzenleyen devrelerde değişikliklere neden olabilir (Perry & ark., 2019).

Jäderkvist & ark. (2014) DMRT3 genindeki mutasyonun atların yürüyüş yeteneği üzerindeki etkisi incelemiştir. Bu mutasyonun, atların yan yürüyüş yeteneğini etkileyerek ve hız kapasitesini artırdığı görülmüştür. Bu mutasyon, belirli at ırklarında daha sık görülür ve bu ırklar genellikle tölt yürüyüşünü daha iyi gerçekleştirirler. Özellikle İzlanda, Tennessee Yürüyüş Horses, Paso Fino ve Mangalarga Marchador gibi belirli at ırkları, DMRT3 mutasyonuna sahip oldukları için tölt yürüyüşünü daha iyi gerçekleştirirler ve genellikle bu özellikleriyle tanınırlar. Bu durum, atların farklı DMRT3 genotiplere sahip olmasının, farklı yürüyüş özelliklerine sahip olmalarına neden olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, DMRT3 genindeki bu mutasyonun varlığı veya yokluğu, atların yan yürüyüş yeteneklerini ve genel olarak hareket kabiliyetlerini etkiler (Patterson & ark., 2017).

CKM, at iskelet kasında en fazla ifade edilen gen olarak belirlenmiştir ve yapılan çalışmalarda CKM genindeki farklı varyasyonların kardiyorespiratuvar dayanıklılığı ve maksimum oksijen alımını artırdığı gözlemlenmiştir (McGivney & ark., 2010).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, CKM genindeki polimorfizmlerin farelerin fiziksel performansını arttırdığı gözlemlenmiştir (Apple & ark., 1994.) Bu polimorfizmlere sahip fareler, normal CKM genine sahip olanlara göre daha yüksek dayanıklılık, hız ve güç gösterme eğilimindeydi. Bu bulgular, insanlarda yapılan benzer çalışmaları destekleyerek CKM geninin farklı varyasyonlarının fiziksel performansı etkileyebileceğini öne sürmektedir (Ginevičienė & ark., 2021).

Öte yandan, insanlar ve diğer hayvanlarda yapılan çalışmalar, CKM geninin aerobik kas enerji metabolizması ile ilişkili olduğunu göstermektedir (McGivney & ark., 2010; Ginevičienė & ark., 2021).

PDK4 geni, glukoz metabolizmasında önemli bir rol oynayan bir enzimin kodladığı bir gen olarak bilinir. Bu gen, glukozun hücrelerde enerji üretimi için kullanılmasını düzenleyen bir enzim olan pirüvat dehidrojenaz kompleksi'ni (PDC) inhibe eder. Yani, PDK4 geninin aktivitesi arttığında, hücreler glukoz yerine yağları enerji olarak kullanmaya yönelirler. Bu durum özellikle yüksek yoğunluklu egzersizler sırasında ve kısa süreli enerji ihtiyacının yüksek olduğu durumlarda önemli bir rol oynar (Cadoudal & ark. 2008).

Arap atları, uzun mesafelerde dayanıklılık yarışlarında İngiliz atlarına kıyasla daha fazla kullanılır. Bu yarışlar, genellikle aerobik metabolizmanın daha fazla ön planda olduğu uzun süreli yarışlardır. Araştırmalarda, Arap ırkında PDK4 geninin G alelinin daha yüksek bir sıklığa sahip olduğunu ortaya koymuştur (Regatieri & ark., 2017). Bu durum, Arap atlarında PDK4 geninin aerobik metabolizmadaki önemli rolünü vurgulamaktadır. Bu özel varyasyon, Arap atlarının dayanıklılık yarışlarında daha başarılı olmalarına katkıda bulunabilir.

Bunlara ek olarak, GYS1 geni, glikojen sentetazını kodlayan bir gen olarak bilinir ve kaslarda glikojenin sentezlenmesini düzenler. Yapılan araştırmalar, atların PSSM fenotipinin GYS1 genindeki bir mutasyondan kaynaklandığını ortaya koymuştur (McCue & ark., 2008). Bu bulgu, GYS1 genindeki mutasyonların atların kas metabolizmasını etkileyebileceğini ve bu durumun performanslarına zarar verebileceğini göstermektedir.

6. Genetik Seleksiyon ve Islah Programları

Genetik seleksiyon ve ıslah programları, at ırklarının genetik özelliklerini geliştirmek ve belirli özelliklere sahip bireyleri seçerek nesiller arasında aktarmak için kullanılan stratejilerdir. Bu programlar, atletik yetenekler, morfolojik özellikler ve genetik çeşitliliğin korunması gibi temel hedeflere odaklanır. Performans temelli seleksiyon, atların yarış ve performans kayıtlarını kullanarak en üst düzeyde performans gösteren bireyleri belirler ve bu bireyleri üreme programına dahil eder. Morfolojik seleksiyon ise belirli bir ırk standardına uygun bireyleri seçerek genetik çeşitliliği korur ve ırkın genel görünüşünü iyileştirmeye çalışır.

Genetik çeşitliliğin korunması, akraba çiftleşmelerin önlenmesi ve farklı soy hatları arasında genetik alışverişin teşvik edilmesi gibi stratejileri içerir. Genetik testler ve moleküler işaretçiler, istenmeyen genetik özellikleri elemek ve performansla ilişkilendirilen belirli genlerin varlığını değerlendirmek amacıyla kullanılır. Üreme programları, belirlenen özelliklere sahip en iyi bireyleri seçerek ve bu bireyleri uygun şekilde çiftleştirerek bir sonraki neslin genetik yapısını belirler.

7. Genom Düzenleme (Genome Editing)

Genom düzenleme, genetik materyalin belirli bölgelerinin hassas bir şekilde değiştirilmesini sağlayan güçlü bir teknolojidir. Bu teknoloji, özellikle CRISPR-Cas9 gibi moleküler araçlar kullanılarak hedeflenen genlerin kesilmesi, eklenmesi veya değiştirilmesi yoluyla gerçekleştirilir. Atlarda performansı etkileyen SNP'lerin belirlenmesi ve bu SNP'lerin genom düzenleme teknikleriyle düzenlenmesi, at yetiştiriciliğinde büyük bir potansiyel sunabilir. Örneğin, belirli genlerdeki hedeflenmiş değişikliklerin, atların dayanıklılığı, hızı veya dayanıklılığı gibi özellikler üzerinde olumlu etkileri olabilir.

Yapılan alışmalar, CRISPR/Cas9'un atlarda gen düzenleme potansiyelini ve bu teknolojinin spor için faydalı gen varyantlarının üretilmesi ve üreme programlarının geliştirilmesi üzerindeki etkilerini vurgulamıştır (Cong & ark., 2013; Moro & ark., 2020; Guo & ark., 2023).

Sonuç

Yapılan alışmalar genetik varyasyonların atların kas yapısı, enerji metabolizması ve dayanıklılığı üzerinde belirgin etkileri olduğunu göstermektedir. Özellikle MSTN, ACTN3, DMRT3, COX4I2, PDK4, CKM ve MCT1 gibi genlerdeki varyasyonlar, atların performansını etkileyen önemli faktörler olarak ortaya çıkmaktadır. Örneğin, MSTN genindeki SNP'lerin belirli yarış mesafelerine uygun atların belirlenmesinde potansiyel bir gösterge olduğu bulunmuştur. Ayrıca, DMRT3 genindeki mutasyonun atların yürüyüş yeteneğini ve hızını etkilediği ve CKM genindeki varyasyonların fiziksel performans üzerinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, COX4I2, PDK4 ve GYS1 gibi genlerin dayanıklılık ve enerji metabolizması üzerindeki rolleri de araştırılmış ve önemli bulgular elde edilmiştir.

Genetik analiz ve test yöntemleri, atların genetik yapısını anlamak ve belirli genlerdeki varyasyonları belirlemek için kullanılır. Bu yöntemler arasında SNP analizleri, PCR, mikrodizin analizi, DNA dizileme ve genotip analizleri bulunmaktadır. Bu teknikler, at yetiştiricilerine genetik temelli seçim stratejileri oluşurmada ve istenen özelliklere sahip atların üretilmesinde yardımcı olabilir. Bu sayede atların genetik potansiyelleri daha iyi anlaşılır ve performansları üzerindeki etkileri değerlendirilebilir.

Genetik seleksiyon ve ışlah programları, at ırklarının gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Performans temelli seleksiyon ve morfolojik özelliklerin korunması, atların belirli özelliklerinin geliştirilmesine ve genetik çeşitliliğin

korunmasına yardımcı olur. Ayrıca, genom düzenleme teknolojisi, at yetiştiriciliğinde potansiyel bir dönüşüm sağlayabilir. Özellikle CRISPR/Cas9 gibi moleküler araçlar kullanılarak genlerde hedeflenmiş değişikliklerin yapılması, atların performansını artıracak ve üreme programlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilecek yeni gen varyantlarının üretilmesini mümkün kılar. Bu bağlamda, gelecekte at yetiştiriciliğinde genetik yönetim stratejilerinin daha da geliştirilmesi ve genom düzenleme teknolojinin daha yaygın bir şekilde kullanılması beklenmektedir.

Bununla beraber, at yarışlarında genetik faktörlerin yanı sıra çevresel etkenlerin de göz önünde bulundurulması, atların en iyi performanslarını ortaya koymalarına yardımcı olacak bütünsel bir yaklaşımın benimsenmesini gerektirir.

Kaynaklar

Bailey, E., Petersen, J. L., & Kalbfleisch, T. S. (2022). Genetics of thoroughbred racehorse performance. *Annual Review of Animal Biosciences*, 10, 131–150. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020420-035235>

Barron, J. K. (1995). The effect of maternal age and parity on the racing performance of thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal*, 27(1), 73–75. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1995.tb03036.x>

Berman, Y., & North, K. N. (2010). A gene for speed: The emerging role of alpha-actinin-3 in muscle metabolism. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 25(4), 250–259. <https://doi.org/10.1152/physiol.00008.2010>

Bower, M., McGivney, B., Campana, M., et al. (2012). The genetic origin and history of speed in the Thoroughbred racehorse. *Nature Communications*, 3, 643. <https://doi.org/10.1038/ncomms1644>

Cadoudal, T., Distel, E., Durant, S., Fouque, F., Blouin, J. M., Collinet, M., Bortoli, S., Forest, C., & Benelli, C. (2008). Pyruvate dehydrogenase kinase 4: Regulation by thiazolidinediones and implication in glyceroneogenesis in adipose tissue. *Diabetes*, 57(9), 2272–2279. <https://doi.org/10.2337/db08-0477>

Cong, L., Ran, F. A., Cox, D., Lin, S., Barretto, R., Habib, N., Hsu, P. D., Wu, X., Jiang, W., Marraffini, L. A., & Zhang, F. (2013). Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems. *Science*, 339(6121), 819–823. <https://doi.org/10.1126/science.1231143>

Crewe, C., Schafer, C., Lee, I., Kinter, M., & Szweda, L. I. (2017). Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 in the heart through degradation by the Lon protease in response to

mitochondrial substrate availability. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(1), 305–312.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.754127>

Demirci, B., Bulgay, C., Ceylan, H. İ., Öztürk, M. E., Öztürk, D., Kazan, H. H., Ergun, M. A., Cerit, M., Semenova, E. A., Larin, A. K., Generozov, E. V., Ahmetov, I. I., & Cepicka, L. (2023). Association of ACTN3 R577X polymorphism with elite basketball player status and training responses. *Genes*, 14(6), 1190. <https://doi.org/10.3390/genes14061190>

Echegaray, M., & Rivera, M. A. (2001). Role of creatine kinase isoenzymes on muscular and cardiorespiratory endurance: Genetic and molecular evidence. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 31(13), 919–934.
<https://doi.org/10.2165/00007256-200131130-00003>

Fedotovskaya, O. N., Mustafina, L. J., Popov, D. V., Vinogradova, O. L., & Ahmetov, I. I. (2014). A common polymorphism of the MCT1 gene and athletic performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 9(1), 173–180. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2013-0026>

Fiems, L. O. (2012). Double muscling in cattle: Genes, husbandry, carcasses and meat. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 2(3), 472–506.
<https://doi.org/10.3390/ani2030472>

Gaudet, M., Fara, A. G., Beritognolo, I., & Sabatti, M. (2009). Allele-specific PCR in SNP genotyping. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 578, 415–424.
https://doi.org/10.1007/978-1-60327-411-1_26

Gu, J., MacHugh, D. E., McGivney, B. A., Park, S. D., Katz, L. M., & Hill, E. W. (2010). Association of sequence variants in CKM (creatine kinase, muscle) and COX4I2 (cytochrome c oxidase, subunit 4, isoform 2) genes with racing performance in Thoroughbred horses. *Equine Veterinary*

Guo, R., Wang, H., Meng, C., Gui, H., Li, Y., Chen, F., Zhang, C., Zhang, H., Ding, Q., Zhang, J., Zhang, J., Qian, Y., Zhong, J., & Cao, S. (2023). Efficient and specific generation of MSTN-edited Hu sheep using C-CRISPR. *Genes*, 14(6), 1216. <https://doi.org/10.3390/genes14061216>

Hill, C. D., Rogers, R., & Bickford, M. E. (1996). Predicting aggressive and socially disruptive behavior in a maximum security forensic psychiatric hospital. *Journal of Forensic Sciences*, 41(1), 56–59.

Hill, E. W., McGivney, B. A., Gu, J., Whiston, R., & Machugh, D. E. (2010). A genome-wide SNP-association study confirms a sequence variant (g.66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses. *BMC Genomics*, 11, 552. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-552>

Hui, L., DelMonte, T., & Ranade, K. (2008). Genotyping using the TaqMan assay. *Current Protocols in Human Genetics*, Chapter 2. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hg0210s56>

Jäderkvist, K., Andersson, L. S., Johansson, A. M., Árnason, T., Mikko, S., Eriksson, S., Andersson, L., & Lindgren, G. (2014). The DMRT3 'gait keeper' mutation affects performance of Nordic and Standardbred trotters. *Journal of Animal Science*, 92(10), 4279–4286. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7803>

Koho, N. M., Mykkänen, A. K., Reeben, M., Raekallio, M. R., Ilves, M., & Pösö, A. R. (2012). Sequence variations and two levels of MCT1 and CD147 expression in red blood cells and gluteus muscle of horses. *Gene*, 491(1), 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.08.030>

Köseman, A., & Şeker, İ. (2018). Atların yarış ve yarışma performansları üzerine etkili faktörler ve performansı artırma yolları. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37, 38–41. <https://doi.org/10.30782/uluvfd.393535>

Mata, X., Vaiman, A., Ducasse, A., Diribarne, M., Schibler, L., & Guérin, G. (2012). Genomic structure, polymorphism, and expression of the horse alpha-actinin-3 gene. *Gene*, 491(1), 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.09.014>

McCue, M. E., Bannasch, D. L., Petersen, J. L., Gurr, J., Bailey, E., Binns, M. M., Distl, O., Guérin, G., Hasegawa, T., Hill, E. W., Leeb, T., Lindgren, G., Penedo, M. C., Røed, K. H., Ryder, O. A., Swinburne, J. E., Tozaki, T., Valberg, S. J., Vaudin, M., Lindblad-Toh, K., ... Mickelson, J. R. (2012). A high-density SNP array for the domestic horse and extant Perissodactyla: utility for association mapping, genetic diversity, and phylogeny studies. *PLoS Genetics*, 8(1), e1002451. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002451>

McCue, M. E., Valberg, S. J., Lucio, M., & Mickelson, J. R. (2008). Glycogen synthase 1 (GYS1) mutation in diverse breeds with polysaccharide storage myopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(5), 1228–1233. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0167.x>

McCue, M. E., Valberg, S. J., Miller, M. B., Wade, C., DiMauro, S., Akman, H. O., & Mickelson, J. R. (2008). Glycogen synthase (GYS1) mutation causes a novel skeletal muscle glycogenosis. *Genomics*, 91(5), 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.01.011>

McGivney, B. A., McGettigan, P. A., Browne, J. A., Evans, A. C., Fonseca, R. G., Loftus, B. J., Lohan, A., MacHugh, D. E., Murphy, B. A., Katz, L. M., & Hill, E. W. (2010). Characterization of the equine skeletal muscle transcriptome

identifies novel functional responses to exercise training. *BMC Genomics*, 11, 398. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-398>

McPherron, A. C., Lawler, A. M., & Lee, S. J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*, 387(6628), 83–90. <https://doi.org/10.1038/387083a0>

Miyata, H., Itoh, R., Sato, F., Takebe, N., Hada, T., & Tozaki, T. (2018). Effect of Myostatin SNP on muscle fiber properties in male Thoroughbred horses during training period. *The Journal of Physiological Sciences: JPS*, 68(5), 639–646. <https://doi.org/10.1007/s12576-017-0575-3>

Moro, L. N., Viale, D. L., Bastón, J. I., Giordano, A., Lorca, G. L., Marmisolle, F. E., ... & Miriuka, S. G. (2020). Generation of myostatin-edited horse embryos using CRISPR/Cas9 technology and somatic cell nuclear transfer. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72040-4>

Mota, M. D., Abrahão, A. R., & Oliveira, H. N. (2005). Genetic and environmental parameters for racing time at different distances in Brazilian Thoroughbreds. *Journal of Animal Breeding and Genetics = Zeitschrift Fur Tierzucht und Zuchtungsbiologie*, 122(6), 393–399. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2005.00551.x>

Nielsen, B. D. (2023). A review of three decades of research dedicated to making equine bones stronger: Implications for horses and humans. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13(5), 789. <https://doi.org/10.3390/ani13050789>

Oki, H., Sasaki, Y., Lin, C., & Willham, R. (2011). Influence of jockey on racing time in Thoroughbred horses. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 112, 171–175. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1995.tb00555.x>

Oki, H., Willham, R. L., & Sasaki, Y. (1994). Genetics of racing performance in the Japanese Thoroughbred horse: I. Description of the data. *Journal of Animal Breeding and Genetics = Zeitschrift Fur Tierzuchtung und Zuchtungsbiologie*, 111(1-6), 121–127. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.1994.tb00445.x>

Ota, M., Fukushima, H., Kulski, J. K., & Inoko, H. (2007). Single nucleotide polymorphism detection by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Nature Protocols*, 2(11), 2857–2864. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.407>

Padilha, F. G. F., El-Jaick, K. B., de Castro, L., dos Santos Moreira, A., de Almeida, F. Q., & Ferreira, A. M. R. (2018). ACTN3 gene variants as potential phenotype and performance biomarkers in Brazilian sport horses training for eventing in a tropical climate. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Vétérinaire*, 82(3), 236–238.

Park, K. D., Park, J., Ko, J., Kim, B. C., Kim, H. S., Ahn, K., Do, K. T., Choi, H., Kim, H. M., Song, S., Lee, S., Jho, S., Kong, H. S., Yang, Y. M., Jhun, B. H., Kim, C., Kim, T. H., Hwang, S., Bhak, J., Lee, H. K., ... Cho, B. W. (2012). Whole transcriptome analyses of six thoroughbred horses before and after exercise using RNA-Seq. *BMC Genomics*, 13, 473. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-473>

Patterson Rosa, L., Wickens, C., & Brooks, S. (2017). Genetic selection for gaits in the horse. *EDIS*. <https://doi.org/10.32473/edis-an332-2017>

Perry, S., Larhammar, M., Vieillard, J., Nagaraja, C., Hilscher, M. M., Tafreshiha, A., Rofo, F., Caixeta, F. V., & Kullander, K. (2019). Characterization of Dmrt3-derived neurons suggests a role within locomotor circuits. *The Journal*

of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 39(10), 1771–1782.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0326-18.2018>

Pira, E., Vacca, G. M., Dettori, M. L., Piras, G., Moro, M., Paschino, P., & Pazzola, M. (2021). Polymorphisms at Myostatin gene (MSTN) and the associations with sport performances in Anglo-Arabian racehorses. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(4), 964.
<https://doi.org/10.3390/ani11040964>

Quji, S., Wang, S., Luosang, D., Li, Z., Luobu, C., Zhuoga, G., Li, F., Xiao, Z., Lei, C., & Zhuzha, B. (2023). A SNP of the COX4I2 gene associated with environmental adaptation in Chinese cattle. *Gene*, 851, 147043.
<https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.147043>

Regatieri, I., Pereira, G., Neto, A., Ferraz, G., Curi, R., & Queiroz-Neto, A. (2017). Polymorphisms in MCT1, CD147, PDK4, and DMRT3 genes in Arabian and Quarter horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 48, 161–165.
<https://doi.org/10.1016/j.jevs.2016.06.077>

Rohit, A., Maiti, B., Shenoy, S., & Karunasagar, I. (2016). Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) for rapid diagnosis of neonatal sepsis. *The Indian Journal of Medical Research*, 143(1), 72–78.
<https://doi.org/10.4103/0971-5916.178613>

Ropka-Molik, K., Stefaniuk-Szmukier, M., Szmatoła, T., Piórkowska, K., & Bugno-Poniewierska, M. (2019). The use of the SLC16A1 gene as a potential marker to predict race performance in Arabian horses. *BMC Genetics*, 20(1), 73.
<https://doi.org/10.1186/s12863-019-0774-4>

Seto, J. T., Quinlan, K. G., Lek, M., Zheng, X. F., Garton, F., MacArthur, D. G., Hogarth, M. W., Houweling, P. J., Gregorevic, P., Turner, N., Cooney, G. J., Yang, N., & North,

K. N. (2013). ACTN3 genotype influences muscle performance through the regulation of calcineurin signaling. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(10), 4255–4263. <https://doi.org/10.1172/JCI67691>

Słomka, M., Sobalska-Kwapis, M., Wachulec, M., Bartosz, G., & Strapagiel, D. (2017). High resolution melting (HRM) for high-throughput genotyping—limitations and caveats in practical case studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(11), 2316. <https://doi.org/10.3390/ijms18112316>

Swoap, S. J., Hunter, R. B., Stevenson, E. J., Felton, H. M., Kansagra, N. V., Lang, J. M., Esser, K. A., & Kandarian, S. C. (2000). The calcineurin-NFAT pathway and muscle fiber-type gene expression. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 279(4), C915–C924. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.4.C915>

Thomas, K. C., Hamilton, N. A., North, K. N., & Houweling, P. J. (2014). Sequence analysis of the equine ACTN3 gene in Australian horse breeds. *Gene*, 538(1), 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.01.014>

Vincent, B., De Bock, K., Ramaekers, M., Van den Eede, E., Van Leemputte, M., Hespel, P., & Thomis, M. A. (2007). ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. *Physiological Genomics*, 32(1), 58–63. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00173.2007>

Wang, J., Meng, J., Wang, X., Zeng, Y., Li, L., Xin, Y., Yao, X., & Liu, W. (2018). Analysis of equine ACTN3 gene polymorphisms in Yili horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 70, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.08.003>

Wilkin, T., Baoutina, A., & Hamilton, N. (2017). Equine performance genes and the future of doping in horseracing. *Drug*

Testing and Analysis, 9(9), 1456–1471.
<https://doi.org/10.1002/dta.2198>

Yıldırım, F. (2019). The effect of some environmental factors on race performance of purebred Arabian horses. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(1), 1–6.
<https://doi.org/10.30607/kvj.450350>

Yıldırım, F. (2019). The effect of some environmental factors on race performance of purebred Arabian horses. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(1), 1–6.
<https://doi.org/10.30607/kvj.450350>. Erzurum-25240, Turkey: University of Atatürk, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science.

BÖLÜM IV

Süt İneklerinde Embriyonik Ölüm

Ali SONAT¹
Ergun AKÇAY²

Giriş

İnek, yavru ve süt üretimi açısından ülke ekonomisine katkıda bulunan önemli hayvan türlerinden birisidir. Süt inekçiliği işletmelerinde uygulanan sürü yönetim programlarının temel amacı reprodüktif verimliliğin ve dolayısı ile elde edilen yavru ve süt veriminin devamlılığının sağlanmasıdır. Reprodüktif açıdan hedeflenen; sürüdeki her inekten bir yıl içerisinde sağlıklı bir buzağı elde etmektir. Bu hedefe ulaşmak için reprodüktif parametrelerin belirli sınırlar içerisinde kalması gerekmektedir.

Reprodüktif performansın devamlılığı, süt üretimi yapan işletmelerde ekonomik açıdan en önemli kriterlerden bir tanesidir ve üretimin devamlılığında anahtar rol oynar

¹ Etimesgut Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü, Etimesgut, Ankara

² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara

(Youngquist & Shore, 1997; Sheldon & ark., 2006b). Sürü idaresi programlarında temel amaç sürüdeki hayvanların optimal zamanda ve ekonomik olarak kârlılık getirebilecek aralıklarla buzağılamalarının planlanmasıdır (Sheldon & ark., 2006a). Reprodüktif performans üretimi doğrudan etkilemektedir. Reprodüktif performansı etkileyen en önemli faktörlerin arasında fertilizasyon başarısızlığı ve embriyonik ölümler yer almaktadır (Bajaj & Sharma, 2011). Fertilizasyon oranı düvelerde ve düşük süt verimli ineklerde %90-100, yüksek süt verimli ineklerde genellikle %80-90 arasında bildirilmiştir. Buzağılama oranı %40-56 arasında bildirilmiştir. Fertilizasyon oranı ile buzağılama oranı arasındaki bu farkın nedeni embriyonik ve fetal ölümlere bağlanmaktadır (Diskin & ark., 2006).

Embriyonik ölümler hayvansal üretimde %40'a varan ölüm oranı ile birlikte, repeat breeder hayvan sayısının, suni tohumlama maliyeti ve tedavi maliyetinin artması, buzağılama aralığının ve kuruda bekleme süresinin uzaması, süt üretimin azalmasıyla önemli bir ekonomik kayıp nedenidir (Rani & ark., 2018).

Normal embriyonik gelişimi belirleyen faktörler oldukça fazladır. Fertilizasyon, gebelik ve canlı buzağı doğumu; anne, uterus, embriyo ve çevreyi içeren çok karmaşık bir süreçtir. Genetik faktörleri, fertilizasyonu, stresi ve hayvan sağlığını yönetmek embriyonik ölüm oranını önemli ölçüde azaltabilir (Farin & ark., 2001; Ginther & ark., 1996; Sinclair & ark., 2000).

1. Fertilizasyon, embriyonik gelişim ve gebeliğin maternal tanınması

Dişi ve erkek cinsiyet hücrelerinin (Oosit ve spermatozoon) oviduktun ampulla-isthmus geçiş bölgesinde buluşarak, spermatozoonun oosite penetre olması ve yeni bir canlının başlangıcı olan zigotun oluşmasına fertilizasyon veya döllenme denir. Fertilizasyonun şekillenebilmesi için oositin ve

spermatozoonun fertilite yeteneği kazanması ve fertilizasyon bölgesine taşınmaları gerekmektedir. Spermatozoonun dışı genital kanalında taşınma esnasında ejakülasyon noktasından başlayıp özellikle ovidukt sıvılarında fertilizasyon yeteneğini kazanmakta, bu olguya kapasitasyon adı verilmektedir. Spermatozoonların fertil yaşam süresi dışı genital kanalında 24-48 saat, ovumun fertil yaşam süresi 8-24 saattir. Gametlerin fertilite yeteneği ejakülasyon ve ovulasyondan sonra hızla düşmeye başlar (Hafez, 1987; Küplülü, 1990; Alaçam, 1994).

Ovumun, ovulasyondan sonra, isthmusa ulaşana kadar, fertilite yeteneği hızla düşmeye başlar ve döllemeyen ovumun fertilizasyon yeteneği uterusu ulaştığında tamamen kaybolur. Fertil ömrünün sonlarında dölleme olsa bile, ovumun implantasyon yeteneği de kaybolur ve embriyonik ölümlerin büyük bir kısmı yaşlı ovum fertilizasyonlarına bağıdır. Fertilizasyonun başarısında gamet yaşlanmasının dikkate alınması büyük önem taşımaktadır. Yaşlı gametlerde fertilizasyon oranları düşük ve embriyonik ölüm oranları yüksektir (Daşkın, 2005).

Evcil hayvanlarda optimum koşullarda fertilizasyon oranı %90'ın üzerindedir (Hafez & Hafez, 2000). Fertilizasyon düvelerde %95-100, ineklerde % 83-85 oranında oluşmaktadır. Buna bağı olarak 34. günde gebelik oranı fertil düvelerde %75-86, fertil ineklerde %69-70 olarak şekillenmektedir (Ayalon, 1978). Fertilizasyon oranları ortalama %90 seviyelerinde olmasına rağmen, tüm fertilizasyonların sadece % 70'inde canlı buzağı doğumu gerçekleşmektedir. Meydana gelen yaklaşık %30'luk fertilizasyon kayıpları, embriyonik ölümlerdir. Bu kayıplar, dünya sığır yetiştiricilerinin yıllık 1,4 milyar dolarlık zararına yol açmaktadır.

Ovulasyondan sonra, oositlerin yaklaşık %10-15'inde fertilizasyon başarısız olmaktadır. Embriyonik ölümler ve

fertilizasyon başarısızlığı olguları birbirlerinden ayrı olarak değerlendirilmelidir (Kastelic, 1994; Noakes, 1988).

Embriyonik dönem, gebeliğin 0-42. günleri arası olup, fertilizasyon ile başlayıp embriyonun farklılaşma aşamasını tamamlaması ile sona erer. Embriyonik gelişim zigot, bölünme, morula, blastosist, implantasyon ve implantasyon sonrası dönem diye ayrılabilir (Parmar & ark., 2016). Fertilizasyonun son aşamasında erkek ve dişi pronükleusları birleşir ve buna singami denir. Singamiyi takiben zigot, embriyogenezis aşamasına girer. Oviduct içerisinde singami şekillendikten sonra zigot "embriyo" olarak isimlendirilir. Embriyo, gelişimin en erken safhasındaki bir organizmadır (Senger, 2005; Thatcher & ark., 2001; Thatcher & ark., 2003).

Zona pelusida içerisinde, tek hücreli zigot oluştuktan sonra seri halde mitoz bölünme aşamalarından geçer. İlk mitozdan sonra iki hücreli embriyo şekillenir ve her bir hücre "blastomer" olarak isimlendirilir. Her bir blastomer mitoz bölünme geçirerek iki ve katları şeklinde büyümeye başlar. Blastomerdeki mitotik bölünmeler eş zamanlı olarak gerçekleşir ve zona pelusidanın içinde artık tek tek sayılamayacak kadar çoğalırlar. Bu aşamada embriyo "morula" olarak isimlendirilir. Morulanın ileri safhasına embriyo içerisinde içi sıvı dolu bir boşluk oluşur ve bu aşamada embriyo "blastosit" olarak adlandırılır. Bu aşamada blastositte, iç hücre katmanı (embriyoblast) ve trofoblast olmak üzere iki farklı hücre popülasyonu vardır. İç hücre katmanı ileri aşamalarda asıl embriyoyu oluştururken, trofoblast hücreleri koryonu oluştururlar. Morula aşamasından itibaren, fertilizasyon sonrası 4-7. günden sonra ineklerde embriyo, uterus içinde gelişmeye devam eder (Senger, 2005; Thatcher ve ark., 2001; Thatcher ve ark., 2003). Blastosit içerisindeki boşluk, sıvı ile dolarak iç basıncı artırır ve proteolitik enzimler, steroid hormonlar, prostaglandinlerin katkısı ile incelen noktadan zona pelusida yırtılarak blastosit hücreleri zona pelusidadan ayrılırlar (

hatching). Bu evre fertilizasyon sonrası 7-12. günlere denk gelmektedir. Embriyo zona pelusidadan ayrıldıktan sonra küre şeklinde olup; uzamaya ve interferon salınımına başlar ve bir iplikçik tarzında hızla büyüme devam eder. Bu büyümeye en büyük katkı yavru zarlarının büyümesidir. Yavru zarlarının gelişmesi embriyonun uterusu tutunması için mutlak gereklidir. 21-22. günlerde embriyonun yavru zarları aracılığı ile endometriyumla bağlantı kurmasına “implantasyon” denir. Gebeliğin mekanik olarak başladığı dönem olarak da tanımlanmaktadır. Uterusa temas eden embriyo trofoblast hücrelerinden salgıladığı enzimler ile temas noktasındaki endometriyumu lize ederek uterusun stromasına yerleşir. (Alaçam, 1994; Hafez, 1987; Senger, 2005).

Uterus içerisinde sağlıklı bir embriyo olması halinde gebeliğin oluşması ve devamlılığı için ilk olarak embriyo, uterus ve korpus luteum arasında bir takım kompleks mekanizmaların devreye girmesi gerekmektedir. Embriyonun anne tarafından tanındığı mekanizmaların bütününe "gebeliğin maternal kabulü" denir.

İneklerde maternal kabulün ilk safhası, embriyo tarafından luteolitik mekanizmanın engellenmesidir. Bu kompleks mekanizma embriyonun trofoblast hücrelerinden salgılanan interferon tau (IFN-tau) vasıtası ile başlatılır. İnterferon tau inek ve koyunlarda gebeliğin 12-24. günleri arasında embriyonun trofoblast hücreleri tarafından salgılanan ve gebeliğin anne tarafından kabulünü başlatan bir sitokindir. İneklerde interferon tau'nun en önemli fonksiyonlarından birisi $PGF_{2\alpha}$ 'nın pulsatil salınımını durdurarak korpus luteum regresyonunu engellemektir. İnterferon tau uterus endometriyumundaki epitel hücreleri tarafından $PGF_{2\alpha}$ üretilmesini engeller ve bunu endometriyumdaki östrojen reseptör alfa ve oksitosin reseptörlerini baskılayarak gerçekleştirir (Güzeloğlu, 2006; Senger, 2005; Thatcher ve ark., 2001; Thatcher ve ark., 2003).

2. Embriyonik ölümler

Sığırlarda embriyonik ölümler, hayvancılık işletmelerinde ekonomik kaybın temel kaynağıdır (Zavy, 1994). Süt ve et sığırı işletmelerinden elde edilen gelir doğrudan işletmenin üreme verimliliğine bağlıdır. Reprodüktif verimliliğin düşük olması süt üretimini ve doğan buzağı sayısını etkileceğinden, bu işletmelerde reprodüktif ve ekonomik performans olumsuz etkilenir. Süt sığır işletmelerinde her gebelik kaybının ortalama 640 USD zararla sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Thurmond & ark., 1990).

Reprodüktif Nomenklatür Komitesi'ne göre, ineklerde gebeliğin 42. gününden önce meydana gelen ve ovumun fertilize olmasından organların farklılaşma sürecinin tamamlanmasına kadar olan sürede meydana gelen ölümler, embriyonik ölümler olarak tanımlanmaktadır. Bazı araştırmacılar, bu süreyi genellikle 45 gün olarak kabul etmektedir (Kastelic, 1994; Zavy, 1994).

Fertilizasyon ve embriyo farklılaşmasının tamamlanması (gebeliğin 0-42. günleri) arasındaki dönemde meydana gelen kayıplar embriyonik ölümler, gebeliğin 42. gününden sonraki kayıplar fetal ölümler olarak tanımlanmaktadır (Humbolt, 2001). Embriyonik ölümler ayrıca genetik olarak uygun olmayan embriyoların doğumdan önce eliminasyonu olarak da tanımlanabilirler (King, 1991).

Embriyonik ölümler, embriyonik kaybın zamanına göre farklı kategorilere ayrılabilirler:

Erken embriyonik ölümler; fertilizasyondan gebeliğin 24. gününe kadar meydana gelen ölümler,

Geç embriyonik ölümler; gebeliğin 24-42. günleri arasındaki ölümlerdir (Humbolt, 2001).

Embriyonik ölümler ayrıca gebeliğin dönemlerine göre;

Çok erken embriyonik ölümler (0-7.gün),

Erken embriyonik ölümler (7-24.gün),

Geç embriyonik ölümler (24-42.gün) ve

Erken fötal ölümler (42-285.gün) olarak tanımlanmıştır (Walsh & ark., 2011).

Embriyonik ölüm zamanı hakkındaki en kesin bilgi, ineklerin kesime sevk edildiği çalışmalarda elde edilmiştir. Düve ve normal ineklerde embriyoların %20 oranında, 12-16. günler arasında dejenere olduğu bildirilmiştir. Repeat breeder olarak tanımlanan zayıf fertiliteye sahip hayvanlarda ise, kayıpların 4-7. günler arası şekillendiği bildirilmiştir (Wathes, 1992).

Peters (1996) yaptığı çalışmada, ineklerde suni tohumlama sonrası %90 oranında fertilizasyon oranı tespit etmiş, daha sonra 10-13. günler arasında gebelik oranının, embriyo gelişmesinin başarısız olması sonucu %80'e düştüğünü belirlemiştir. Bu oranın, 19-20. gün civarlarında, luteolizisin embriyo tarafından engellenememesi ve embriyo gelişimi için yeterli progesteron sekresyonunun olmaması sonucu %60-65'lere gerilediğini bildirmiştir. Sonuç olarak, gebeliklerin %25-30 oranında embriyonik ölümlere bağlı sonlandığı bildirilmiştir. Embriyonik kayıpların yaklaşık %80'i gebeliğin 16-17. günlerinden önce, %10-15'i 17-42. günler arasında ve gebeliğin 42. gününden sonra ise %5'lik fötal kayıp meydana gelmektedir (Parmar & ark., 2016).

2.1. Erken embriyonik ölümler

Erken embriyonik ölümler, fertilizasyondan gebeliğin 24. gününe kadar meydana gelen ölümlerdir ve repeat breeder ve artan suni tohumlama maliyetleri nedeni ile önemli bir ekonomik kayıp nedenidir. Ayrıca buzağılama aralığının ve kuruda bekleme süresinin uzamasına sebep olarak süt üretimi ve buzağılama oranının düşmesine neden olur (Parmar & ark., 2016). Erken embriyonik ölümlerin embriyo gelişim bozukluğu

sonucu ortaya çıksa da, daha sık olarak embriyonun luteolozisi engelleyememesi sonucu şekillendiği ileri sürülmektedir (Peters, 1996).

Erken embriyonik ölümlerin, fertilizasyon sonrası 16. günden önce daha sıklıkla görüldüğü, özellikle yüksek süt verimli ineklerde 8. günden önce daha fazla kayıp şekillendiği bildirilmiştir (Parmar & ark., 2016). Fransa'da 44 adet sürüde holstein ırkı ineklerde yapılan çalışmada, ilk tohumlama sonrası erken ve geç embriyonik ölüm oranları sırasıyla %31,6 ve %14,7 olarak tespit edilmiştir (Humbolt, 2001).

2.2. Geç embriyonik ölümler

Geç embriyonik ölümler, gebeliğin 24-42. günleri arasında meydana gelen ölümlerdir. Geç embriyonik ölüm oranının erken embriyonik ölüm oranından düşük olmasına rağmen, özellikle mevsimsel buzağılama yaptırılan sürülerde, iki östrus arasındaki sürenin uzamasına, buzağılama aralığının artmasına ve sürüden ayrılma oranının yükselmesine neden olarak ciddi ekonomik kayıpların en büyük sebebi olduğu rapor edilmiştir (Diskin & ark., 2006). Yapılan bir çalışmada, 24. günden sonra östrusa geri dönüşlerin, gebeliğin 16.günüden sonra meydana gelen embriyonik ölümleri yansıtabileceğini ileri sürülmüştür (Humbolt, 2001).

Mera bazlı üretim yapılan süt ineklerinde, gebeliğin 30-67. Günleri arasında %7,5 oranında geç embriyonik veya fetal kayıp tespit edilmiştir (Horan & ark., 2004). Fransa' da 1285 holstein ineği içeren bir çalışmada, gebeliğin 21-80. günleri arasında genel olarak %25 oranında geç embriyonik ölüm oranı tespit edilmiştir. Bu oranların suni tohumlama periyodu, süt üretimi miktarı ve vücut kondisyon skoru ile ilişkili olduğu fakat üreme değeri ile ilişkili olmadığı aktarılmıştır (Grimard ve ark., 2006).

İrlanda'da 6000-8000 kg süt üreten ineklerde geç embriyonik ölüm oranı %3,2 olarak bildirilmiş, ancak sıcaklık stresi altında üretim yapan ineklerde bu oranın %42,7'ye kadar yükseldiği bildirilmiştir (Silke & ark., 2002; Cartmill & ark., 2001). Süt sığırlarında görülen geç embriyonik ölüm oranları besi sığırlarına oranla daha yüksektir. Süt ineklerinde, gebeliğin 30-45. günleri arasında ortalama %12,8 ve günlük %0,85 oranında gebelik kaybı tespit edilmiştir (Beal & ark., 1992).

3. Süt İneklerinde Embriyonik Ölüm Nedenleri

3.1. Genetik Faktörler ve Kromozomal Anomaliler

Genetik anormallikler, embriyonik kayıpların yaklaşık %10'unu oluşturur ve genellikle gebeliğin ilk iki haftası içerisinde embriyo ölümlerine neden olur. Letal genin, gebeliğin ilk 5 gününde embriyo ölümlerine neden olduğu bildirilmiştir (King, 1990).

Embriyo ölümlerine neden olan bir diğer genetik faktör ise, anormal kromozom sayısı olarak belirtilmektedir. Anormal kromozom sayısı en yaygın genetik anormalliktir ve genellikle embriyonik ölümle sonuçlanır (King, 1990). Anormal kromozom sayılarına, polispermi (birden fazla spermatozoonun ovumu döllemesi) ve gametlerdeki veya gelişen embriyodaki mayotik hatalar sebep olur. Suni tohumlamaların ovulasyona yakın sürede yapılması yüksek polispermi oranlarına sebep olur (Saacke & ark., 2000). Ayrıca süperovulasyon ile tohumlanan ineklerde polispermi oranı ve kromozomal sayıların arttığı da bildirilmiştir (King, 1985).

Sığırlarda ilk tespit edilen ve en yaygın kromozom anomalisi sentrik füzyon translokasyonudur. Sığırlarda 30'un üzerinde farklı sentrik füzyon translokasyon belirlenmiştir. Bunların en yaygın olanı 1/29 Robertsonian translokasyonudur. Normal bir inek 60 kromozoma sahip iken homozigot veya heterozigot bireyler bu translokasyon sonucu 58-59 kromozoma

sahiptirler (King, 1991; Long, 2001). Bu anomalide iki kromozom (1 ve 29) arasında yapışma söz konusudur ve bu yapışma sonrası tek kromozom şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde bir translokasyondan altı değişik tipte gamet şekillenmektedir. Şekillenen gametlerden sadece iki tip yaşamını sürdürebilen embriyo oluşturabilmektedir. Diğer dört tipten şekillenen embriyolar ise, gelişmelerinin birinci veya ikinci haftasında ölmektedir (Parmar & ark., 2016).

Heterozigot olan sığırların fertilitesi, 1/29 translokasyonu için, %5 oranında düşüktür. Fertilitedeki azalma, mayoz bölünme sırasında kromozomların ayrılmasından ve kromozomal olarak dengesiz gametlerin oluşmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum erken embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Sığır ırkları arasında 1/29 sentrik füzyon translokasyon anomalisi görülme oranları, İsviçre esmerinde %0,2, Şarolede %1,9, Simentalde %3, limuzinde %6' dır (Kılıçarslan, 1999; Long, 2001).

3.2. Hormonal Faktörler

Hormonal yetmezliğin embriyonik ölümlerin en önemli nedenlerinden biri olduğu, luteal yetmezliğin korpus luteumdan (CL) salgılanan progesteron üretiminin azalması sonucunda meydana geldiği ileri sürülmektedir (Kastelic, 1994). CL tarafından progesteron salgılanması, embriyonun beslenmesi ve histotrofik ortamın düzenlenmesi için esastır. Bu nedenle gebeliğin devam edebilmesi için embriyo tarafından luteolitik mekanizmanın engellenmesi ve 15-17. günlerden itibaren CL' un varlığının devam etmesi gerekir. Aksi halde bu günlerden sonra PGF₂α'nın etkisi altındaki CL regrese olacak ve dolayısıyla salgıladığı progesteron hormonu hızla azalarak gebeliğin sona ermesine yani embriyonik ölümlere yol açacaktır. Yüksek embriyonik ölüm oranı görülen işletmelerde, CL'dan salgılanan progesteron hormon yetersizliğinin, embriyonik

ölümün en önemli nedeni olduğu belirtilmektedir (Noakes, 1988; Flint, 1992).

Fertilizasyondan sonraki ilk iki hafta boyunca, dolaşımdaki progesteron ve östradiol arasındaki ilişkinin luteal fonksiyonun ve gebeliğin korunmasında önemli bir rol oynadığı kanıtlanmıştır. Fertilizasyon başarılı olsa bile, ovaryumda luteal fazda yeni bir folikül dalgası gelişir. Gelişen bu luteal faz foliküllerinin östradiol üretimi yeterince erken azaltılmazsa, luteoliz tetiklenir ve CL geriler. Buna bağlı olarak progesteron seviyesi düşer ve erken embriyonik ölüm şekillenir. Progesteron yetersizliğinin iki ana nedeni vardır. Birincisi, CL kısa bir ömre sahiptir (6-12 gün) ve bu nedenle luteoliz, embriyonun IFN-tau üretimine başlamasından önce şekillenir. İkincisi ise, CL normal ömre sahiptir (14 günden fazla) ancak salgıladığı progesteron seviyesinin düşük olması nedeniyle, PGF₂α' nın luteolitik etkileri baskılanmaz (Parmar & ark., 2016).

İnekler üzerinde yapılan birçok çalışmanın bulgularına göre, östrusu izleyen diöstrus döneminde düşük progesteron konsantrasyonuna sahip ineklerde konsepsiyon oranları da düşük olarak belirlenmektedir (Lopez-Gaitus & ark., 2004; Shams-Esfanabadi & Shirazi, 2006). Yüksek süt verimli ineklerde düşük konsepsiyon oranlarının önemli bir nedeninin, düşük progesteron konsantrasyonuna bağlı implantasyon öncesi yetersiz embriyo gelişimi olarak bildirilmiştir (Larson & ark., 2007). İneklerde tohumlama sonrası erken dönemde yüksek sistemik progesteron konsantrasyonunun embriyonik büyümeyi, IFN-tau üretimini ve gebelik oranlarını artırdığını bildirilmiştir (Carter & ark., 2008).

Oosit kalitesi, foliküler ve hormonal etki ile ilişkili durumdadır. Östrus siklusu boyunca düşük progesteron etkisi altında olan veya senkronizasyon için düşük progesteron uygulaması sonrası, dominant folikül persiste hale gelebilmekte ve östradiol sekresyonu yükselmektedir. Persiste folikülden

ovule olan oosit ileri olgunlaşma safhasında olabilir. Bu oosit fertilize olabilme yeteneğine sahip iken, gelişen embriyoların 16 hücreli aşamadan önce öldükleri bildirilmektedir (Ahmad & ark., 1995). Bu tarz foliküllerden bırakılan oositlerde prematüre mayozis, perivitellin boşlukta genişleme, intraselüler vakuoller ve lipid damlacıklarının sayısında artış gözlenmektedir (Mihm & ark., 1999).

İneklerde her seksüel siklus sırasında genellikle 2 veya 3 foliküler dalga şekillenmektedir. Foliküler dalgalar bir grup folikülün gelişimi ile başlar, bunlardan yalnızca biri dominant hale gelir ve sadece son dalganın dominant folikülü ovulasyon gösterir. Siklus uzunlukları değişmemekle birlikte, 2 foliküler dalga sonucu gelişen ovulatorik folikülün baskınlık dönemi daha uzun, çapı büyük, östradiol üretimi yüksek olmaktadır. Bu bilgiden yola çıkılarak sütçü ineklerde yapılan bir çalışmada gebelik oranları 2 dalgalı siklusa sahip hayvanlarda (%58), 3 dalgalı siklus gösterenlere oranla (%95) düşük bulunmuştur. Etçi ineklerde ise, gebelik oranları 2 dalgalı siklus gösterenlerde %82, 3 dalgalı siklus gösterenlerde %100 olarak tespit edilmiştir (Inskeep, 2000).

3.3. Beslenme faktörleri

Beslenme özellikle negatif enerji dengesi (NED) yoluyla gebelik oranlarını etkilemektedir. Şiddetli NED altında, özellikle yüksek süt verimli ineklerde reproduktif performans azalmaktadır (Nebel & McGilliard, 1993).

Yüksek süt verimli inekler, laktasyonun başındaki süt verimini destekleyebilmek için önemli miktarda vücut yağı ve proteini mobilize etmektedirler (Pryce & ark., 2001; Wathes & ark., 2007). Zira gebeliğin sonundaki hızlı fetal gelişim ve erken laktasyonun yüksek süt verimi için ihtiyaç duyulan besin madde gereksinimleri hayvanın tükettiği yemle karşılanamamaktadır. Bu nedenlerle özellikle yüksek verimli ineklerin çoğu bu dönemlerde negatif enerji dengesine girer. NED süt ineklerinin

sağlığını bozan ve döl verimini de olumsuz etkileyen metabolik bir problemdir (Grummer, 1995). Yapılan çalışmalar şiddetli negatif enerji dengesindeki ineklerde, immün sistemin baskılanması, retensiyo, metritis, anöstrus, suböstrus, ovulasyonun olmaması, kistik ovaryum ve erken embriyonik kayıplar gibi problemlerin arttığını göstermiştir (Mulligan & ark., 2006). Bunlara ek olarak, doğum sonrası şiddetli NED, plazma progesteron düzeyini de düşürmektedir (Butler, 2000). Plazma progesteron düzeyinin doğum sonrası NED etkisiyle düşük olması uterus involusyonunda, embriyonun implantasyonunda ve gebeliğin korunmasında sorunlar oluşturduğu bildirilmiştir (Folman & ark., 1973).

Ayrıca elde edilen bulgular, en uygun tohumlama zamanı tesbitinde NED'nin önemli olduğunu ortaya koymuştur. NED durumunda IGF-1 üretimi azalmaktadır, IGF-1 düzeyi düşük olduğunda, ovaryumların gonodotropinlere yanıtı yetersiz olmakta ve foliküler gelişim aksamaktadır. Dolayısıyla hayvanın kızgınlık belirtileri baskılanmaktadır. Ayrıca ovidukt ve uterusun mikro çevresini değiştirerek embriyonun yaşamı üzerine zararlı etki yapmaktadır (Schopper & ark., 1993). İnsulin ve IGF-1 ovaryumun LH ve FSH'a duyarlılığını artırmakta, uterus ve embriyo üzerinede olumlu etki yaratmaktadır (Lucy, 2008). Diğer taraftan doğum sonrası NED'e maruz kalmış ineklerde gelişim ve büyümesi yavaşlamış foliküllerin, ovulasyon sonrası daha düşük progesteron üretimine neden oldukları bildirilmektedir.

Tohumlama sonrasında plazma progesteron düzeyi oositlerin yaşaması için hayati rol oynar. Çünkü endometriumun sekresyonları ve uterusun embriyoyu kabul etmesini progesteron düzenlemektedir. Ovulasyondan sonra progesteron sentezi ve kandaki düzeyinin yükselmesi geciktiğinde veya luteal fazda plazma bazal düzeyi düşük kaldığında gebelik oranı düşmektedir (Leroy & ark., 2008). Postpartum NED'e maruz

kalan ineklerde ilk üç östrusta progesteron düzeyinin yeterince artış göstermediği belirlenmiştir (Villa-Godoy & ark., 1988).

Enerji alımında kısa süreli değişimler embriyo üzerinde olumsuz etkilerde bulunmaktadır. Rasyondaki enerji miktarının tohumlamanın hemen sonrasında, iki hafta süreyle, yaşama payı gereksiniminin 2 katından 0,8 katına indirildiğinde toplanan embriyo sayısının kontrol grubuna oranla %30 azaldığı izlenmiştir. Tohumlama sonrası dönemde ani rasyon değişikliklerinden kaçınılması gerektiği vurgulanmıştır (Dunne & ark., 1999).

Rasyonda protein düzeyinin yüksek olması uterus pH'sını düşürdüğü için uterus endometriumunun ürettiği salgının değişmesine ve embriyo kalitesinin kötüleşmesine, negatif enerji dengesinin şiddetlenmesinin sonucu olarak progesteron üretiminin düşmesine ve PGF2 α üretiminin artmasına neden olmaktadır (Butler, 1998; Rhoads & ark., 2004). Ayrıca yüksek protein alan hayvanların folikül sıvısında da üre düzeyinin arttığı saptanmış ve bu durumun yumurtaların olgunlaşmasını ve erken blastosit gelişimini aksattığı bildirilmiştir (Leroy & ark., 2008; Sinclair & ark., 2000). Ferguson & Chalupa (1989) yüksek protein alımının neden olduğu yüksek amonyak ve ürenin gametler ve embriyo üzerine toksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Fazla miktarda yıkılabilir protein alan ineklerde daha düşük foliküler aktivite görüldüğü, luteal aktivitenin geciktiği ve progesteron üretiminin düştüğü saptanmıştır (Garcia-Bojalil & ark., 1998).

Negatif enerji dengesi olan hayvanlarda, rasyon proteininin olumsuz etkisi daha da artmaktadır. Süt üre azotu sağmal hayvanlarda protein ve enerji beslemesi hakkında fikir veren önemli bir kriterdir. Süt üre düzeyinin 19 mg/dl'den fazla olmasının uterus pH'sını etkilemek suretiyle döl verimini düşürdüğü bildirilmektedir (Butler, 1998; Sinclair & ark., 2000).

3.3.1. Toksinler

Toksik bitkilerin etkileri çevre ile birlikte çeşitlilik göstermektedir. Bazı toksinler yılın belli sezonlarında toksik etki gösterirken, bazıları ise embriyonun farklı gelişim aşamalarında etkili olmaktadır. Toksik bitkiler boğalarda spermatogenezisi, ineklerde ise oogenezi etkileyerek de fertilitiyi düşürmektedirler. Toksik bitkilerin embriyonik ölümlerin yanı sıra abortlara, iskelet sistemi anomalilerine ve fetal büyüme geriliğine de neden oldukları bildirilmektedir (James & ark., 1992). Üreme sorunlarına neden olabilen daha yaygın bitki toksinlerinden bazıları mikotoksinler, alkaloidler ve nitratlardır (Porter & Thompson, 1992).

Mikotoksinler küflü yemlerde ortaya çıkabilir. Bir mikotoksin olan zeralenonun progesteron konsantrasyonlarını azaltarak ineklerde, embriyonik ölümlere ve abortlara sebep olduğu düşünülmektedir (Parmer & ark., 2016).

Alkaloidler bitkilerde en fazla yer alan toksik maddelerden birisidir. Çayır mera otlarında bulunan ergot alkaloidleri (Ergovalin), östrus başlangıcının uzamasına ve progesteron sentezini yeterince inhibe ederek embriyonik yaşamın azalmasına yol açmaktadır (Porter & Thompson, 1992).

Nitratın kendisi hayvanlar için özellikle toksik değildir. Yüksek miktarda nitrat genellikle kuraklık, serin ve bulutlu hava, dolu ve don gibi kötü yetiştirme koşullarından dolayı stres altındaki yulaf, darı, sorgum ve mısır gibi bitkilerde bulunur. Sığırlar normal miktarda nitratı sindiren ve proteine çevirebilen hayvanlardır. Rumende bulunan bakteriler tarafından nitrat nitrite, sonra amonyağa, amino asitlere ve proteine dönüştürülür. Kaba yemlerde biriken nitrat, sular ile alınan nitrat veya kaza ile nitratlı gübre yemlerin aşırı miktarda alınması zehirlenmeye sebep olur. Fazla miktarda nitrat, nitrite dönüştürülür. Nitritler hemoglobine bağlanır ve dokulara oksijen taşıma kapasitesini

azaltarak embriyonik ölümlere sebep olabilir (Brownson & Zollinger, 2003).

Östrojenik etkili yem maddeleri de embriyonik ölümlere sebep olabilmektedir. Tohumlama gününde periferik östrojen konsantrasyonlarının gebelik oranları ve embriyonik kayıplara etkilerinin izlendiği bir çalışmada, rasyonlarında 1-2 kg/gün fiğ (Vicia Sativa) bulunan ineklerde östrojen konsantrasyonlarının ve embriyonik ölüm oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir (Shore & ark., 1998). Baklagiller familyasına ait birçok bitki türü yapısında fitoöstrojenler içermektedir. Yonca, üçgül gibi bitkilerde, soya fasülyesi, pamuk tohumu, keten tohumu, kolza tohumu gibi yağlı tohumlarda, soya ve mısır yağında, patates, şeker pancarı, arpa, pirinç, çavdar, mercimek, fiğ gibi birçok yem maddesinde östrojenik bileşikler bulunmaktadır (Yalçın, 2002).

3.3.2. Vitaminler ve mineraller

A vitamini hayvanların normal büyümesi, üremesi ve sağlıkları için en önemli vitaminlerden biridir ve normal şartlar altında inekler doğal A vitaminini sindiremezler. Bu nedenle, β -karoten gibi yeşil bitkilerde bulunan provitaminlerden sentezlerler. İneklerde luteal gelişim ve progesteron üretimi için özellikle β -karoten alımının gerekli olduğu, sığırların korpus luteumunun yüksek oranda β -karoten içerdiği ortaya konmuştur. Plazma progesteron seviyeleri ile CL çapı ve ağırlığı, serum progesteron seviyeleri ve folikül sıvıları arasında pozitif bir korelasyon vardır (Çelik & ark., 2009; Kaçar & ark., 2008).

Aslan & ark. (1998), erken gebelik ve embriyo/fötal kayıplarda periferik kanda progesteron, vitamin E, vitamin B12, β -karoten ve folik asit konsantrasyonlarını incelemişler ve gebe hayvanlarda, gebe olmayan ve embriyo/fötal kayıp şekillenene kıyasla CL çapının daha büyük, progesteron, β -karoten ve vitamin E konsantrasyonlarının daha yüksek

olduğunu, vitamin B12 ve folik asit konsantrasyonlarının ise farklılık göstermediğini bildirmişlerdir.

Bakır (Cu) ve çinko (Zn) evcil hayvanların üreme fonksiyonlarının normal işlemesi için gerekli en önemli esansiyel minerallerdendir. Bu minerallerin yetersizliğinde, fertilitite oranında azalma, ovulasyon bozukluğu, fertilizasyonda düşüş, fetal gelişme bozukluğu, embriyonik ölüm, endokrin bezlerin fonksiyon yetersizliği, östrus siklusunun farklı safhalarının baskılanması, suböstrus, anöstrus, güç doğum, doğum esnasında aşırı kanama ve retensiyon sekondaryum gibi bozuklukların görülebileceği bildirilmiştir (Erkal, 1984). Düşük Zn içeren rasyonla beslenen sığırlarda embriyonik ölüm oranı yüksek bulunmuştur (Clark & ark., 1995). Zn, Cu ve manganezin (Mn) yeterli oranda rasyona ilave edilmesinin, fertilizasyon ve embriyonun yaşama şansının artırılmasında önemli rol oynadığı kaydedilmiştir (Doyle & ark., 1990).

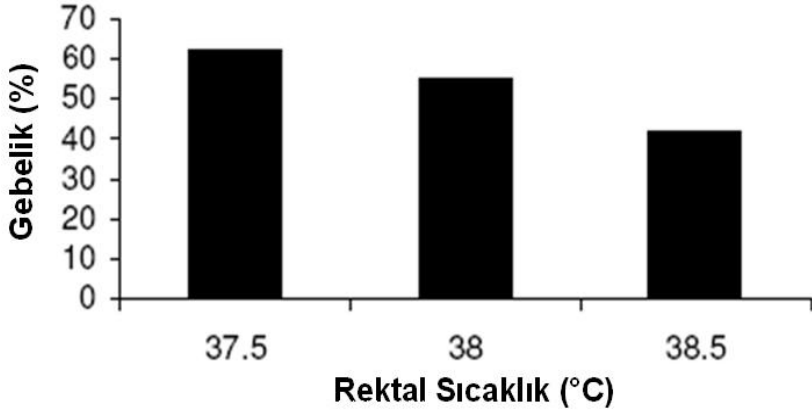
Yıldız & Balıkcı (2004), ineklerin kan serumundaki bazı mineral maddeler (Ca, Cu, Zn, Mg ve K) ile embriyonik ölüm arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve serum Zn ve Cu düzeylerindeki azalmanın embriyonik ölümün nedenlerinden biri olabileceği kanısına varmışlardır.

3.4. Sıcaklık stresi

İneklerde süt verimi, üreme ve sağlık durumuna ilişkin genetik potansiyelin ortaya çıkması çevre koşullarına bağlıdır. Çevre koşulları uygun değilse performans beklenin altında olabilir. Sıcak stresi, süt verimi ve reproduktif performans düşüşüne neden olan çevre faktörlerinden birisidir. Sıcak stresinin foliküler dinamik, östrus belirleme, konsepsiyon oranı, steroid ve gonadotropin konsantrasyonları üzerine etkileri yanında embriyogenezis ile uterus ve ovidukt üzerinde de önemli olumsuz etkileri bulunmaktadır (Wolfenson & ark., 2000).

Sıcak stresinin reproduksiyon üzerine etkisi, yüksek ısıya bağılı olarak ineğin beden ısısının yükselmesiyle yakından ilişkilidir. İnek, metabolizma sonucu artan beden ısını evaporasyon sonucu düşüremezse vücut ısısı artmaktadır. Uterus ısısının ortalama 0,5°C civarında artması konsepsiyon oranında düşüş (%12,8) ile sonuçlanmaktadır (Gwazdauskas & ark., 1973). Süt verimi yüksek olan ineklerde metabolizma hızı da fazladır. Buna bağılı olarak yüksek süt verimli inekler daha az verimli hayvanlara nazaran sıcak stresine karşı daha duyarlı olabilirler (Sartori & ark., 2002).

İneklerin sıcak stresi içerisinde olup olmadığını anlamanın en iyi yolu rektal ısıнын ölçülmesidir. İnekte normal beden ısısı yaklaşık 38,6°C (101,5 F) dir. Sağlıklı bir inekte öğleden sonra beden ısısı 39,0°C (102.2 F) ise şüphelenmek gerekir. Beden ısısı 39,5°C (103,1 F)'den fazlaysa inek muhtemelen sıcak stresindedir ve süt verimi ve reproduktif performans düşer. Sıcaklık stresi, gebelik oranında düşmeye neden olur (Grafik 1) (Sartori & ark., 2002). Yapılan çalışmalar normal koşullarda %40-60 aralığında olan gebelik oranının sıcak mevsimlerde %10-20'ye kadar düşebileceğini göstermiştir (Cavestany & ark., 1985; Wolfenson & ark., 2000).

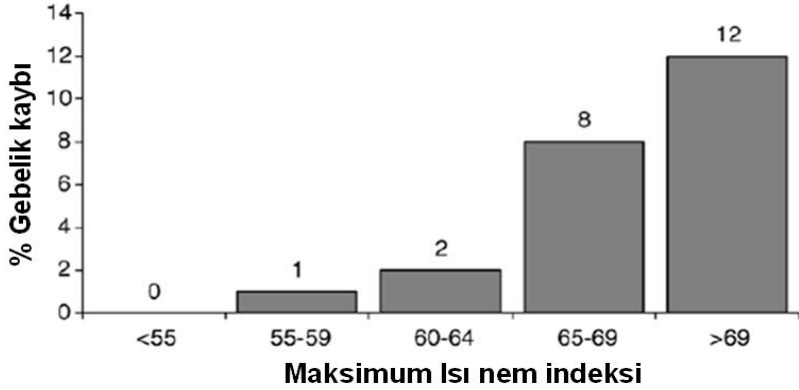


Grafik 1: Sıcak stresi altında laktasyondaki ineklerde beden ısısı ve gebelik oranları arasındaki ilişki (Sartori & ark., 2002).

İneğin ısı dengesi, hava sıcaklığı ve deri ısısı arasındaki denge, güneş ışığı ve havadaki nem oranıyla ilişkilidir. İnekler deriden evaporasyon yoluyla ve akciğerlerle (solunum) ısı kaybettiği için nem oranı önemlidir. Havadaki nem oranının çok yüksek ya da düşük olması, çiftlik hayvanlarını olumsuz yönde etkiler. Çok kuru ortamda (%10-20 nemde) inekler sıcaklık stresinin etkisini 26,6°C ortam sıcaklığına kadar hissetmez. Nem oranı %75 üzerine çıktığında sıcaklık stresi 21°C'de başlar. Sıcaklık ve nem oran kombinasyonu ile elde edilen sıcaklık nem indeksi sıcak stresinin hesaplanmasında kullanılmaktadır. Hava sıcaklığı T (santigrat derece) ve rölatif nem RN olarak hesaplandığında THI (Temperature Humudity Index) aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$THI = (1,8 \times T + 32) \times ((0,55 - 0,0055 \times RN) \times (1,8 \times T - 26))$$

THI'de reproduktif fonksiyonlar için kritik değer 72'dir. 76'nın üzerinde sıcaklık stresi şiddetlidir (Grafik 2).



Grafik 2: *Isı nem indeksinin gebelik kayıpları üzerine etkisi*
(Hansen, 2009).

Sıcaklık stresi altındaki ineklerde; artan beden ısıısını dengelemek üzere kan akışı hayati organlardan çevre dokulara kaydırılmaktadır ve dolayısıyla uterus ve ovaryuma ulaşan besin maddesi ve hormon düzeyleri düşmek suretiyle uterus ve ovaryum fonksiyonları bozulabilmektedir (Hansen ve Arechiga, 1999). Sıcak stresi altında yem tüketimi azalır ve buna bağlı olarak negatif enerji dengesi şekillenir. Gonadotropin salınımı azalır, ovaryum fonksiyonları etkilenir, foliküler gelişim bozulur, östradiol üretimi ve LH salınımı azalır (Khodaei-Motlagh & ark., 2011; Wilson & ark., 1998). Sıcaklık stresi altında fiziksel hareketler azaltmakta, östrus süresi kısaltmakta ve belirtileri zayıflamaktadır. Ayrıca, sıcak stresi foliküler dominansı azaltabilir ve ovule olan oosit yaşlanabilir. Embriyonun gelişimi çoğunlukla oositin sağlıklı olmasına bağlıdır. Eğer oosit uygun bir şekilde üretilemezse veya oluşumu sırasında strese maruz kalırsa oluşan embriyo anormal gelişme gösterebilir ve embriyonik ölüm olabilir (Hansen, 2009; Rensis & Scaramuzzi, 2003).

Fertilizasyon ve embriyonik gelişme maternal hipertermiden etkilenir. Süperovulasyon gösteren ineklerde yapılan bir çalışmada tohumlama sonrası birinci günde sıcak stresinin embriyonun yaşama süresini kısalttığı fakat tohumlama sonrası üç, beş ve yedinci günlerdeki sıcak stresinin embriyonun yaşama süresi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı ortaya konmuştur. Embriyonun gelişimi ile birlikte ısıya toleransı artmaktadır. Embriyo tarafından ısı şoku proteinleri üretilmekte ve bunların stres esnasında embriyonun korunmasında potansiyel etkileri bulunmaktadır. Sıcaklık stresi esnasında konseptus tarafından IFN-tau üretimi azalmaktadır. PGF₂ α üretim ve sekresyonu artmakta, bu durum gebeliğin tanınmasını ve CL devamlılığını olumsuz etkilemektedir (Wolfenson & ark., 2000).

Plazma progesteron seviyelerinin de sıcak stresi altındaki ineklerde azaldığı belirtilmiştir. Düşük progesteron konsantrasyonu dominant folikülde ve korpus luteumdaki steroidogenezisi etkileyerek, anormal oosit maturasyonuna neden olmakta ve endometrial morfolojiyi etkilemektedir. Bu da embriyo ölümlerine neden olabilmektedir (Wolfenson & ark., 2000).

3.5. Enfeksiyöz etkenler

Bakteri, virüs, protozoon ve mantarların neden olduğu enfeksiyon etkenleri ineklerde infertilite, embriyonik ölümler ve abortların en önemli nedenlerindendir (Zavy, 1994).

Corynebacterium pyogenes, inek uterusunda bulunan en yaygın bakteridir ve ineklerde endometritisin başlıca nedenidir. Bu etken, özellikle embriyonik ve fetal ölümlere, plasental retensiyon ve vajinal akıntılara sebep olduğu bildirilmiştir (Griffin & ark., 1974). *Campylobacter fetus* (Vibrio), doğal aşım ile inekten boğaya veya boğadan ineğe kolayca bulaşır. İnekler altı aya kadar enfekte kalabilir. *C. fetus* ineklerde infertilite ve erken embriyonik ölümlere sebep olur (Adler,

1960). Diğer bakteriyel etkenlerinde, *Brucella* abortus, *Haemophilus sommus*, *Leptospira interrogans hardjo* ve *Leptospira pomona*, *Mycoplasma bovis* ve *Mycoplasma agalactiae subsp bovis*, *Ureaplasma diversum*, *Mycobacterium paratuberculosis* ve *Chlamydia psittaci* gibi embriyonik ölümlere yol açtığı bildirilmektedir (Zavy, 1994).

Bakterilerin embriyo üzerine doğrudan etkileri gametleri veya embriyoyu öldürmek, dolaylı etkileri ise uterus ortamını değiştirerek, endometritis ve kronik histolojik lezyonlar oluşturmaktır (Dinç, 1990). Ayrıca suni tohumlama sırasında vagina ve spermada bulunan fakültatif patojenik bakteriler de uterus enfeksiyonlarına neden olabilir. Bu tür enfeksiyonlar fertilizasyonu etkilememekle birlikte, embriyo-maternal etkileşimleri veya embriyoların implantasyon sürecini bozarak embriyonik ölümlere neden olur (De Winter & ark., 1995).

Viral etkenler arasında Bovine herpesvirus-1 (BHV-1), IBR (Infectious bovine rhinotracheitis virus) ve IPV (Infectious pustular vulvovaginitis) bulunan virüs grubudur. BHV-1 erken embriyonik ölümlere, kistik CL' lara, uterusdaki bazı patolojik değişikliklere ve abortlara sebep olmaktadır. Aynı zamanda Bovine viral diarrhea (BVD), erken embriyonik ölümlere neden olmaktadır. Fakat ineklerde embriyonik ölümlerin ana nedeni değildir (Zavy, 1994).

Protoozoon etkenlerden *Trichomonas fetus*, ineklerde erken embriyonik ölüm, abortus ve pyometra ile karakterizedir. İnekte uterus, serviks ve vaginayı kolonize eder ve vulvada kötü bir şekilde hayatta kalır. T. fetus vulva, perivaginal doku ve uterus duvarı ödemi ile birlikte kataral endometritis ve vaginitise neden olur. T. fetus fertilizasyonu engellemez, ancak gebeliğin erken evresinde embriyonik ölümlere neden olur. Tipik olarak, embriyonik ölüm gebeliğin maternal tanınmasından sonra (16.gün) meydana gelir ve düzensiz şekilde östrusa geri dönüşe

neden olur. Bazı ineklerde çiftleşme sonrası pyometra şekillenir (Onyango, 2014).

Mikotik etkenlerden *Candida tropicalis* ve *Acremonium kiliense*'nin embriyonik ölüm oluşturduğu, ancak henüz yeterli bilginin olmadığı bildirilmektedir (Zavy, 1994).

3.6. Uterus Ortamı

İneklerde yapılan embriyo nakli çalışmalarında, embriyonun yaşayabilirliği ve gelişimi üzerine uterus ortamının etkisinin büyük önemi olduğu gösterilmiştir. Normal ve repeat breeder ineklerde 5-11. günler arasında endometrial sekresyonun kompozisyonu karşılaştırıldığında, repeat breeder'larda glikoz, Na, P ve total protein konsantrasyonlarının daha az, Ca, K ve Mg konsantrasyonlarının ise daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Ayalon 1978).

Anormal embriyo taşıyan ineklerde tohumlamadan sonraki 7-8. günlerde uterus sıvısında Ca, Zn, P ve K seviyeleri, normal embriyo taşıyan ineklere göre daha yüksek olmaktadır. Ovidukt sıvısında da buna benzer paralellikler görülmektedir. İntraselüler olarak bulunması gereken Ca'un ekstraselüler olarak normal ineklerden 12 kat daha yüksek bulunması doku fonksiyonlarında bir bozukluğun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Genital organlarda hormonlar, proteinler ve iyonlar arasında bir ilişki olduğu, çünkü Zn'nun proteinlere aracılık ederek progesteronun proteinlere bağlanma derecesini arttırdığını dolayısıyla plazma progesteron seviyesini etkileyebileceği belirtilmektedir (Dinç, 1990).

3.7. Sperma kalitesi ve tohumlama zamanı

Fertilizasyonun sadece ovuma bağlı olmadığı, sperma kalitesinin de fertilizasyon oranı ve embriyonik ölümler üzerine etkisinin olduğu ifade edilmektedir. Spermanın fertilite yeteneği yüksek gebelik oranlarını etkileyen faktörlerden birisidir. Yüksek fertiliteye sahip boğalardan %100, düşük fertiliteye

sahip boğalardan %71,4 fertilizasyon oranı elde edildiği, embriyonik ölümlerin ise sırasıyla %10,5 ve %19,2 olduğu bildirilmektedir (Ayalon, 1978).

Suni tohumlamada başarı, donmuş spermanın kısa yaşam süresinden dolayı kızgınlığın doğru saptanması ve tohumlamanın en uygun zamanda yapılmasına bağlıdır. Tohumlamaların, östrusun ikinci yarısında ve sonlarına doğru ovulasyona yakın zamanda yapılması gerekir. İneklerde östrus süresi ortalama 18 saat (12-24) olarak kabul edilmektedir. Ovulasyon ise, östrus bitiminden 10-12 saat sonra olmaktadır. Yüksek bir fertilite ve gebelik oranı için tohumlamaların östrus başlangıcından 6 saat sonra başlayıp izleyen 18 saat içinde bitirilmesi gerekir (Daşkın, 2005).

Ovumun fertil ömrü 8-12 saat, spermatozoonun fertil ömrü ise 24-48 saattir. Suni tohumlama uygulamalarında en uygun tohumlama zamanının belirlenmesinde, gamet yaşlanmasının fertilite üzerine etkisinin dikkate alınması gerekir. Yanlış zamanda tohumlanarak daha sonra mezbahada kesilen hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, ovumun yaşının embriyonun gelişimi üzerine etkili olduğu gösterilmiştir. İneklerin ovulasyondan 6 saat sonra veya daha sonraki bir dönemde veya gebe iken tohumlanmasının embriyonik ölüm ihtimalini arttırdığı belirtilmektedir. Tohumlamanın geç yapılması veya ovulasyonun engellenmesinden dolayı ovumun yaşlanması fertilizasyon oranını ve embriyonun yaşayabilirliğini düşürmektedir (Ayalon, 1978; Ball, 1983).

3.8. Diğer Faktörler

Dişi hayvanlarda yaşın artmasıyla anormal embriyo ve uterus koşullarının yetersiz olma ihtimalide artmaktadır. Süt ineklerinde artan yaşla birlikte hem erken, hem de geç embriyonik kayıp oranları artmıştır (Humbolt, 2001). Beş ve üzeri doğum yapmış ineklerde embriyonik ölüm oranlarında

artış gözlenmektedir. Yaşlı ineklerde embriyonik ölümlerin nedeni olarak, luteal dokudan yetersiz progesteron salınımı gösterilmektedir (Zavy, 1994).

Embriyo sağ kalım oranları düvelerde, besi sığırlarında ve düşük-orta verimli süt ineklerinde büyük ölçüde bezerlik gösterebilir, yüksek verimli süt ineklerinde bu oranlar düşüktür (Diskin ve ark., 2006).

İneklerde vücut kondüsyon skoru (VKS) kayıpları da embriyonik ve fetal sağ kalım oranlarını etkiler. Postpartum 0-30. günlerde VKS' da 1 birim düşüşün, gebelik kayıp oranını 2,41 kat arttırdığı belirtilmiştir (Lopez-Gaitus ve ark., 2004). Benzer şekilde gebeliğin 28-56. günlerinde VKS' da 1 birim düşüğünde, gebelik kayıp oranında 3,2 kat artış olduğu gözlenmiştir (Silke & ark., 2002).

İatrojenik olarak, rektal palpasyon ile genital sistemin muayenesi sırasında amniyon kesesinin elle rupturu embriyonik ölüme neden olabilmektedir. Gebeliğin 39-45. günleri arasında amniyon kesesinin rupturu için çok az bir basınç yeterli olduğu fakat ilerleyen gebeliklerde zor olduğu bildirilmektedir (Bessof, 1990).

Gebe ineklerin tekrar tohumlanmaları ve hatalı PGF_{2α} enjeksiyonları sonucu da embriyonik ve fetal kayıplar şekillenebilmektedir. Hayvanlarda transport, travma, ağrı ve ateş ile seyreden hastalıklar, korku, hayvanın zaptı rapta alınması gibi faktörler de embriyonik kayıplara yol açabilmektedir.

4. Embriyonik ölümlere tanısal yaklaşımlar

4.1. Embriyonik ölümlerin semptomları

İneklerde tohumlama/doğal aşım-yeniden östrus gösterme aralığının ortalama 17-25 günden fazla olduğu durumların genellikle embriyonik ölümlere bağlı olduğu

düşünülmektedir. İnekler tohumlamayı/doğal aşımı takiben beklenen normal sürelerde östrus göstermişse, fertilizasyonun olmadığı veya 16. günden önce meydana gelen bir embriyonik ölüm olabileceği belirtilmektedir. Eğer doğal aşım veya suni tohumlama sonrası östrus 24. günden daha sonra gözlenirse, östrus takibinde bir aksaklık, geç embriyonik ölüm veya erken fetal ölüm olabileceği bildirilmektedir (Arthur ve ark., 1989; Ayalon, 1978; Ball, 1983; Wolff, 1992).

Embriyonun kaybı 16-17. günden önce oluşursa siklus normal olarak devam ederken, bu günlerden sonra oluşan kayıplarda sikluslar uzamakta ve düzensiz östrus siklusları oluşmaktadır. Embriyonik ölümlerin çoğu rezorbe edildiği için gözlenemez. Ölümler embriyonik dönemin sonlarında veya fetal dönemde şekillenirse, atılan yavru veya membranlar fark edilebilmektedir.

4.2. Embriyonik ölümlerin teşhis yöntemleri

4.2.1. Uterusun yıkanması

Uterus yıkaması, suni tohumlama ve doğal aşım sonrası farklı günlerde in vivo flushing yöntemi ile toplanan embriyoların morfolojik olarak değerlendirilmesidir. Yöntemin ekipman, zaman ve maliyet oluşturmaları bakımından pratikte sahada uygulanabilirliği oldukça sınırlıdır. Bazı araştırmacılar embriyonik ölümlerin tespiti için doğal aşım ve suni tohumlama sonrası 35. güne kadar farklı zamanlarda kesilen hayvanların uteruslarını yıkayarak post-mortem olarak incelemişlerdir (Ayalon, 1978; Arthur & ark., 1989; Wolff, 1992). Embriyo transferi çalışmalarında donör ineklerin uteruslarının yıkanması ile toplanan embriyolar, embriyonik ölüm açısından değerlendirilir. Morfolojik yapılarına göre ölü ve dejenere embriyolar transfer için kullanılmaz.

4.2.2. Kan ve sütte progesteron seviyesinin belirlenmesi

İneklerde süt, plazma ve serum progesteron seviyesi fonksiyonel bir CL varlığının veya yokluğunun göstergesidir. Süt ineklerinde progesteron değerlerinin ölçülmesi ve bilinmesi;

- i. Tohumlama anında östrus zamanının doğrulanması,
- ii. Erken gebeliklerin tanınması,
- iii. Postpartum ovaryum aktivitesinin değerlendirilmesi,
- iv. Ovaryum fonksiyon bozukluklarına bağlı infertilite nedenlerinin araştırılması,
- v. Embriyonik ölümlerin belirlenmesi

gibi durumlarda önemli rol oynamaktadır (Arthur & ark., 1989).

Süt sığırlarında kan progesteron seviyesinin kızgınlıkta en düşük (0.21 ng/ml) olduğu, 7. günde arttığı (1.5 ng/ml) ve 14. günde en yüksek olduğu (2.21 ng/ml) ve daha sonra 21. günde düştüğü (0.38 ng/ml) bildirilmektedir. Tohumlanan ineklerden, gebe olanlarda progesteron seviyesi, 21. günde yüksek (2.69 ng/ml) kalmaktadır. Eğer progesteron seviyesi sıfıncı günde (tohumlama günü) 1 ng/ml den daha düşük ve 21. günde 2ng/ml den daha yüksek ise, ineğin gebe olabileceği, aksi takdirde eğer progesteron seviyesi 21. günde <1 ng/ml ise, ineğin gebe kalmadığı düşünölmelidir. Suni tohumlamayı takip eden 24. günde alınan tek örnek gebe olmayan hayvanların kesin bir şekilde tespitini sağlamaktadır. Düşük progesteron seviyesine sahip ineklerin >%95'i gebe değildir. Ancak gebe olan ineklerin tespitinde progesteron testinin güvenilirliği %80 oranındadır. Bu da progesteron seviyesi ile gebe olarak tespit edilen ineklerin %20'sinin aslında gebe olmadığı anlamına gelmektedir (Muhammad, 2009).

Toolsee (2003), sığırlarda süt progesteron testi ile gebe olmadığı ve gebe olduğu teşhis edilenlerin doğruluk derecesini sırası ile %97.5 ve %83 olarak bildirmektedir. Araştırmacı süt progesteron testi ile gebelik tahmininin doğruluğunun iki

kızgınlık arasında geçen sürenin hayvandan hayvana değişmesi, luteal kist olguları, tohumlamanın luteal fazda yapılmış olması, embriyonik ölümler gibi çok sayıda faktör tarafından etkilenebileceğini bildirmektedir.

4.3. Gebelikle İlişkili Glikoprotein (PAG) Testi

İneklerde gebelik teşhisi için en sık kullanılan gebelik spesifik glikoproteini PAG (gebelikle ilişkili glikoprotein)' dir. Gebelik spesifik proteinlerin ineklerde gebelik teşhisinde kullanılmasının başlıca avantajı, plasantasyon varlığının ve uterusu canlı bir embriyo varlığının göstergesi olmasıdır. Progesteron ise sadece CL varlığını kanıtlar (Parmar & ark., 2016). Ruminantlarda da implantasyonun başlangıcıyla villi koryalislerin dış yüzeyindeki tek/çift çekirdekli dev hücrelerin uterus epitelyumuna göç etmesiyle oluşan hibrid hücrelerden salgılanan gebelik ilişkili proteinlerden (PAG) bazıları maternal kan dolaşımına geçmektedir (Peter, 2013). Bu moleküllerin plazma konsantrasyonu plasental fonksiyonun göstergesi olduğundan (Patel & ark., 1997) kanda ve sütte bu moleküllerin tespitine dayalı gebelik tanısı ve gebeliğin devamlılığının izlenmesi mümkün olmaktadır (Lopez-Gaitus & ark., 2007; LeBlanc, 2013). Gebelik kaybı şekillendiğinde maternal kanda PAG konsantrasyonları düşer ve kaybolur. Kan ve süttten PAG testi ile gebelik teşhisi, ruminantlarda embriyonik ölümlerin belirlenmesinde yardımcı olmaktadır (Parmar & ark., 2016).

Erken gebelik döneminde, periferik kanda PAG' ların gebelik tanısı için yeterli konsantrasyona 28. günde ulaştığı ve gebelik yaşıyla paralel olarak yükseldiği bildirilmiştir. Tohumlama sonrası 28. günde kan ve süt örnekleri kullanılarak PAG test kitleri ile gebelik tespiti yapılabilmektedir. PAG' ların tespiti önceleri RIA "Radio Immun Assay" testi ile yapılmakta iken, daha sonraları benzer etkinlikte olan ELISA "Enzym Immun Assay" testleri geliştirilmiştir (Kaya & ark., 2017).

Ricci & ark, (2015), 141 Holstein inekle gerçekleştirdiği çalışmada transrektal ultrasonografiyi referans test olarak kabul ederek, suni tohumlama sonrası 32. günde sütten ve plazmadan PAG ELISA ile gebelik tespiti yöntemlerinin tutarlılığını araştırmış, buna göre, plazma PAG için %100 doğru pozitif, %13 yanlış pozitif sonuç elde etmiş, süt PAG için ise, %98 doğru pozitif ve %17 yanlış pozitif sonuca ulaşmışlardır. Yapılan bazı çalışmalarda da hatalı pozitif sonuçların embriyonik ölümler, PAG benzeri proteinlerden kaynaklı kross reaksiyonlar ve önceki gebelikten kaynaklı PAG' lardan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Kaya & ark., 2017). İneklerde gebelik kayıplarının çoğunlukla erken embriyonal dönemde oluştuğu çok iyi bilinmekle birlikte geç embriyonal ve erken fetal dönemde oluşan gebelik kayıplarının da %17'ye kadar yükselebileceği (Humbolt, 2001) ve bu kayıplarında daha çok geç embriyonal dönemin başlangıcında oluştuğu bildirilmiştir (Silke & ark., 2001). Erken gebelik döneminde PAG test kitleri ile elde edilen pozitif sonuçların, ilerleyen dönemde tekrarlanan gebelik kontrolünde negatif çıkması geç embriyonik ölümleri yansıtabilir.

4.4. Erken Gebelik Faktörü (EPF)

İmmunosupresif özelliğe sahip bir glikoprotein olan erken gebelik faktörü (EPF), fertilizasyondan sonra yaklaşık 6-24 saat içerisinde maternal serumda RIA yöntemi ile tespit edilebilmektedir. İneklerde tohumlamayı izleyen 24 saat içindeki gebelikleri %87,5 doğrulukla belirleyebilmekte ve uygulamalardan %12,5 oranında da yalancı pozitif sonuçlar alınabilmektedir (Baştan & ark., 2007). Yıldız & Balıkcı (2004), ineklerin kan serumundaki bazı mineral maddeler ile embriyonik ölüm arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Tohumlamadan sonra 7. Gündeki serum EPF'sine ait analizleri (Rozet inhibisyon testi) 5 ve 5'in üzerinde olan inekler gebe, 5'in altında olanlar ise gebe olmayan olarak kabul edilmiş, 7. günde EPF aktivitesine ait titre 5 ve 5'in üzerindeyken, 21. gündeki titre

5'in altına indiğinde aradaki fark embriyonik ölüm olarak değerlendirilmiştir.

4.5. Ultrasonografik muayene

Ultrasonografi günümüzde gebe ve gebe olmayan hayvanların uterusundaki fizyolojik ve patolojik değişimleri açıklamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Ultrasonografi aracılığı ile gebeliğin saptanması daha erken dönemde (25-30. gün) yapılmakta, embriyo ortalama 28. günde, amniyon kesesi ise 34. günde embriyonun çevresinde ekojen bir bant şeklinde görülmektedir. Ayrıca ultrasonografi aracılığı ile folikül ve korpus luteum dinamiğine ilişkin de önemli bilgiler elde edilmektedir (Aslan & ark., 1998). Yapılan çalışmalarda ultrasonografi ile gebeliğin 10-12. günleri arasında yuvarlaklıktan ovale değişen konsepsiyon alanları belirlenmiştir (Curran & ark., 1986; Pierson & Ginther, 1984). Curran & ark. (1986), ineklerde tohumlama sonrası 10. günde ultrasonografik yöntemlerle uterusu anekojenik sınırları belli alanlar saptamışlar ve bu saptanan alanların %79'un da embriyo gelişimi belirlemişlerdir. Daha sonraki kontrollerde %21 oranında hayvanın gebe kalmadığı saptanmış ve bu olgu embriyonik ölüm olarak değerlendirilmiştir.

İneklerde ultrasonografik bakılar ile 8. günden başlayarak 5-15 mm arasında değişen nidasyon alanları saptanmıştır. Gebe hayvanlarda (%70; n:40) 8. günde dominant, sınırları belli anekojenik bir alan görünümündeki konseptus'un saptanmasından sonra, yavru keselerinin anekojenik ekrana yansımaları (18. gün), ekojen embriyonun anekojenik yavru zarlarıyla çevrelenmiş olarak görülmesi (28. gün), tüm bulgulara ek olarak kalp atışlarının gözlenmesi ve amniyon-allantois arasındaki sıvının ve yarım ay şeklindeki embriyonun belirlenmesi (38. gün), yavrunun büyüyerek baş ve ekstremitelerin belirginleşmesi (48. ve 58. günler) bulgularıyla gebe hayvanlardaki gelişimi ortaya konmuştur. Erken

embriyonik ölümlerde (%8,8; n:5), tohumlamadan 8 gün sonra saptanan nidasyon alanları, 10 gün sonra yapılan ultrasonografik kontrollerde (18. gün) görülmemiş ve östrus normal fizyolojik süreden uzun olarak 8-22 gün geçikmiştir. Geç embriyonik ölümlerde (%14; n:8), 28. günden itibaren yavru keselerinin bütünlüğünün bozulması, ekojen bölgede oluşan daralmalar, kar tanesi şeklinde dağılmalar ve kalp aktivitesinin saptanamaması embriyonik ölüm tanısını vermiştir. Araştırmada ayrıca embriyonik ölümlerde korpus luteum çapının gebe kalan ineklere göre daha küçük olduğu saptanmıştır (Aslan & ark., 1998).

5. Embriyonik Yaşamın Desteklenmesine Yönelik Hormonal Uygulamalar

Embriyonik ölümlerde luteal fonksiyonun yetersizliği önemli bir sebep olarak bildirilmektedir. Korpus luteumun regresyonu veya fonksiyonunun kısa-uzun süre yetersizliği embriyonik ölüm veya abortus ile sonlanmaktadır. Erken embriyonik ölümleri engellemek amacı ile son yıllarda gebeliğin anne tarafından tanınması süresinde PGF₂ α salgılanmasını engellemek ve yeterli progesteron desteği sağlamak üzere progesteron, GnRH veya hCG hormonu uygulamaları önerilmektedir (King, 1990; Mann, 2002).

5.1. Progesteron Hormonu Uygulamaları

İneklerde embriyonik ölümlerin azaltılmasına yönelik girişimlerden bir tanesi, tohumlama sonrası doğrudan progesteron uygulamaları olarak ortaya çıkmıştır. Progesteron salan intravaginal gereç (PRID), kontrollü intravaginal ilaç salınımı (CIDR), kulak implantları (Crestar) uygun progesteron hormonu seçenekleridir (Shams-Esfanabadi & Shirazi, 2006).

İnekler üzerinde yapılan araştırmalara göre, östrusu izleyen diöstrus döneminde düşük progesteron konsantrasyonuna sahip ineklerde konsepsiyon oranları da

düşük olarak çıkmaktadır (Lopez-Gaitus & ark., 2004, Shams-Esfanabadi & Shirazi, 2006). Çalışmaların bazılarında ekzojen progesteronun gebelik üzerine olumlu etkileri tespit edilirken bazılarında herhangi bir olumlu etki bildirilmemiştir (Mann, 2002).

Larson & ark. (2007), yüksek süt verimli ineklerde düşük konsepsiyon oranlarının önemli bir nedeninin yetersiz progesteron konsantrasyonuna bağlı olarak implantasyon öncesi yetersiz embriyo gelişimi olarak bildirmiştir. Yapılan çalışmada, embriyo gelişimine yardımcı olmak amacı ile tohumlama sonrası 3-5. ve 10. günler arası progesteron uygulaması yapıldı. Kontrol grubundaki hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmazken, tedavi grubundaki hayvanlara tohumlama sonrası 3-5. günden 10. güne kadar CIDR uygulaması yapıldı. Progesteron analizi için tohumlama gününde, tohumlama sonrası 2 veya 3. gün, 4 ve 22. gün süt örnekleri toplandı. Araştırmacılar çalışma sonucunda CIDR uygulanan tedavi grubundaki hayvanlarda progesteron konsantrasyonunda 4. günde kontrol grubuna göre 0.7 ng/ml'lik bir artış gözlemlenmişler ve gebelik oranlarını kontrol grubunda %35, tedavi grubunda %48 olarak bildirmişlerdir. İlk ve ikinci laktasyonda bulunan ineklerde yapılan tedavi değerlendirilmesinde ise, kontrol grubunda %33, tedavi grubunda %51 gebelik oranı saptanmıştır. Sonuç olarak, araştırmacılar özellikle ilk ve ikinci laktasyondaki ineklerde gebelik gelişimi için ekzojen progesteron etkisinin önemli olduğunu rapor etmişlerdir. Buna paralel olarak, Lopez-Gatius & ark. (2004), embriyonik ve erken fetal dönemde normalin altındaki progesteron konsantrasyonunun sütçü ineklerde konseptusun gelişimini olumsuz etkilediği bildirmişler ve eksojen ya da intravaginal progesteron uygulamalarının gebeliği desteklediğini saptamışlardır.

Carothers (2006), sıcaklık stresi altındaki sütçü ineklerde gebelik oranlarını ve serum progesteron konsantrasyonunu

artırmak için CIDR uygulamasının etkisini araştırmış ve sıcaklık stresi altındaki sütçü ineklerde tohumlama sonrası progesteron uygulamalarının gebelik oranları ve serum progesteron konsantrasyonunu artırmada bir etkisi olmadığını ileri sürmüşlerdir. Buna karşın, Starbucks & ark. (2001), süt progesteron analizi ile düşük progesteron konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenen hayvanlarda yapılan progesteron tedavileri ile gebelik oranının %29'dan %58'e yükseldiğini bildirmişlerdir.

5.2. GnRH uygulamaları

Repeat breeder ineklerde gebelik şansını artırmak amacıyla, GnRH hormonu önceleri suni tohumlama ile birlikte kullanılmıştır. GnRH'ın uyardığı LH'nın, ovulasyona yardımcı olduğu ve sonraki luteinizasyonu da stimüle ettiği ileri sürülmüştür (Alaçam & ark., 1986; Morgan & Lean, 1993; Peters, 2005). Parmar & ark., (2016), tohumlama zamanında GnRH uygulamasının, gebelik oranlarını %12,5 oranında arttırdığını ve bu etkinin özellikle repeat breeder ineklerde yüksek olduğunu belirtmiştir. Ayrıca östrusta GnRH uygulaması serum progesteron seviyesini ve korpus luteumdaki büyük luteal hücrelerin oranını da artırdığını rapor etmiştir.

Tohumlama sonrası 11-14. günler arasında yapılan GnRH uygulamalarında da embriyonik yaşamın desteklendiği ve fertilité üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmektedir (Peters, 2005). GnRH uygulamalarının luteolitik sinyalleri azaltarak yada zayıflatarak, embriyoya kendi luteotrofik yeteneğini geliştirebilmesi için zaman kazandırdığı bildirilmiştir (Mann & ark., 1995). Tohumlama sonrası 11-14. günler arasında yapılan GnRH uygulamalarının embriyo tarafından antiluteolitik mekanizmada etkili bir protein olan interferon- τ salgılanma ve gebeliğin anne tarafından tanınma zamanına rastladığı için olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Peters, 2005).

GnRH uygulamaları ile östrus siklusunun luteal fazında aksesör korpus luteum oluşumunun uyarılması, plazma progesteron konsantrasyonlarının artırılmasında bir stratejidir. GnRH ve analogları luteal fazda dominant folikül ovulasyonuna neden olmaktadır. Bu sayede aksesör bir korpus luteum oluşturulup ilave bir progesteron kaynağı şekillenmektedir. GnRH ve analoglarının bu etkisi ovaryumda dominant folikülün bulunduğu 4-6 ve 11-13. günlerde en yüksek düzeyde olmaktadır. Ayrıca progesteron sekresyonunun stimüle edilmesi östradiol üretiminde de düşüşe neden olmaktadır. Bu da oksitosin reseptör artışının ve PGF₂ α salgısının baskılanması ile sonuçlanmaktadır. Bu dönemdeki östradiol sekresyonundaki azalma luteolitik mekanizmanın baskılanmasına ve gebeliklerin devamına izin vermektedir (Peters, 2005; Schmitt & ark., 1996).

5.3. hCG uygulamaları

Progesteron seviyelerini artırmak için alternatif diğer bir yaklaşım, tohumlama sonrası hCG kullanımıdır. Tohumlama sonrası hCG kullanımı, luteal fazdaki gelişen folikül ovulasyonuna ve fonksiyonel aksesör CL oluşumuna neden olmaktadır. Aksesör CL sayesinde progesteron konsantrasyonu ve embriyo sağkalım oranı yükselmektedir.

Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada, suni tohumlamadan 5 gün sonra 3300 IU hCG enjeksiyonu sonrası CL sayılarında artış, plazma progesteron konsantrasyonlarında yükselme gözlenmiştir. HCG tedavisi ile 28, 42 ve 90. günlerdeki gebelik oranları artmıştır, ancak geç embriyonik ve fetal kayıplar değişmeden kalmıştır. Gebelik oranlarındaki artışın hCG uygulamasının erken embriyonik kayıpları azaltması yönündeki olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir (Santos ve ark., 2001). Benzer bir araştırmada ise, tohumlama sonrası 6. günde yapılan hCG uygulaması sonrasında, tedavi grubunda %67,5, kontrol grubunda %45 gebelik oranları elde edilmiştir (Nishigai ve ark., 2002).

5.4. PMSG uygulamaları

PMSG'nin ineklerde luteotrofik etkili olduğu bildirilmiştir. Östrus sonrası 7. günde 500 IU PMSG uygulanmasında progesteron konsantrasyonunda anlamlı bir artış olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar PMSG tedavisinin aşırı foliküler gelişim olmadan, progesteron sekresyonunu ve luteal fonksiyonu arttırdığı sonucuna varmışlardır (Hirako ve ark., 1995).

Sonuç

Embriyonik ölümler, embriyonal dönemde karşılaşılan ve fertilite kaybına neden olan bir sorun olarak tanımlanmakta ve çiftlik hayvanlarında infertilitenin önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir. Embriyonik kayıplar üzerine yapılan birçok araştırmada, embriyonik ölümlerin nedenlerinin ve tespitinin çok zor olduğu belirtilmektedir.

İneklerde doğal aşım veya suni tohumlama ile fertilizasyon oranları %89-100 olmasına rağmen, buzağılama oranlarının %45-65 arasında olduğu bildirilmektedir. Fertilizasyon ve buzağılama oranları arasındaki bu farkın aşağıdaki faktörlerden ileri geldiği bildirilmiştir.

1. Ovulasyondan sonra oositlerin yaklaşık %10-15'i fertilize olamamaktadır.
2. Embriyoların yaklaşık %15-20'si östrus siklusunun 13. gününden önce ölmektedir.
3. Embriyoların yaklaşık %10'u siklusun 14-42. günler arasında ölmektedir.
4. 42. günden sonra yaklaşık %5 fetal ölüm meydana gelmektedir

Bazı araştırmacılar fertilizasyon başarısızlığını, embriyonik ölümlerle birlikte değerlendirmektedir. Buna karşın embriyonik ölüm-fertilizasyon olmaması olguları birbirinden ayrı olarak değerlendirilmelidir. Ancak bunun ayırdedilmesi

oldukça zordur (Ayalon, 1978; Kastelic, 1994; Youngquist ve Braun, 1986).

Embriyonik ölümler ineklerde infertilitenin önemli sebeplerinden birisi olarak kabul edilmektedir. Seksüel siklusun 12-15. gününden önce oluşan embriyonik ölümlerde siklusun seyri değişmemekte, ancak 12-15. günden sonra oluşan embriyonik ölümlerde siklusun seyri değişmekte ve uzamaktadır. Embriyonik ölümler; repeat breeder hayvan sayısının artması, buzağılama aralığının uzaması, laktasyon süresinin kısılması, verim kaybı ve suni tohumlama maliyetlerinin artması gibi nedenlerle hayvansal üretimde büyük ekonomik kayıplar oluşturmaktadır.

Kaynaklar

Adler, H.C. (1960). Genital vibriosis in the bovine an experimental study of early embryonic mortality. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1, 1-11.

Ahmad, N., Schick, F.N., Butcher, R.L., & Inskeep, E.K. (1995). Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biology of Reproduction*, 52, 1129-1135. Doi: 10.1095/biolreprod52.5.1129

Alaçam, E. (1990). Gebelik tanısı. Erol Alaçam (Ed.). *Theriogenoloji içinde* (s. 109-114). Ankara: Nurol Matbaacılık.

Alaçam, E. (1994). Büyük ruminantlarda infertilite. Erol Alaçam (Ed.). *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Obstetrik ve İnfertilite içinde* (S. 265-289). Konya: Ülkü Basımevi

Alaçam, E., Tekeli, T., & Gökçay, Y. (1986). Sütçü ineklerde GnRH enjeksiyonu ile gebelik oranlarının yükseltilmesi üzerine çalışma. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2 (1), 27-36.

Arthur, G.H., Noakes, D.E., & Pearson, H. (1989). *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (6th edit). London: Bailliere Tindall.

Aslan, S., Handler, J., & Arbeiter, K. (1998). Frühgravidität und embryonale bzw. Frühfetale mortalität bei der kuhgelbkörperdynamik progesteron, vitamin-E vitamin-B12, β -carotin und folsäurekonzentrationen im peripheren blut. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 85(5), 141-147.

Ayalon, N. (1978). A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 483-493.

Bajaj N.K., & Neelesh Sharma. (2011). Endocrine causes of early embryonic death. An overview. *Current Research in Dairy Sciences*, 3, 1-24. Doi: 10.3923/crds.2011.1.24

Ball, P. (1983). Fertility problems in dairy herds. *In Practice*, 11, 189-191.

Baştan, A., Özenç, E., Macun, H.C., Acar, D.B., & Güngör, Ö. (2007). Use of early conception factor test (ECF) determining pregnancy and embryonic mortality status of dairy cows. *Medycyna Weterynaryjna*, 63, 670-673.

Beal, W.E., Perry, R.C., & Corah, L.R. (1992). The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 70, 924-929.

Bessoff, H. (1990). Risk of iatrogenic abortion by rectal palpation in the cow. A review. *The Bovine Practitioner*, 25, 124- 126.

Butler, W.R. (1998). Review, effect of protein nutrition on ovarion and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 81, 2533-2539. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)70146-8

Butler, W.R. (2000). Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60, 449-457. Doi: 10.1016/s0378-4320(00)00076-2

Carothers, E.R. (2006). The effects of post insemination progesterone supplementation on pregnancy rates and serum progesterone in dairy cows exposed to mild heat stress. *Thesis of North Caroline State University*. North Caroline, USA.

Carter, F., Forden, N., Duffy, P., Wade, M., Fair, T., Crowe, A.M., Evans, O.C.A., Kenny, A.D., Roche, F.L., Lonergan, P. (2008). Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo

survival and development in beef heifers. *Reproduction Fertility Development*, 20, 268-375. Doi: 10.1071/rd07204

Cartmill, J.A., El-Zarkouny, S.Z., Hensley, B.A., Rozell, T.G., Smith, J.F., & Stevenson, J.S. (2001). An alternative AI breeding protocol for dairy cowsexposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *Journal of Dairy Science*, 84, 799-806. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74536-5

Cavestany, D., El-Whishy, A.B., & Foote, R.H. (1985). Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 68, 1471-1478. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(85)80985-1

Clark, C.K., Anesotegui, R.P., & Paterson, J.A. (1995). The relationship between feeding mineral nutrition of the beef cows and reproductive performance. *The Bovine Practitioner*, 29, 38-42. Doi: 10.21423/bovine-vol1995no29p38-42

Curran, S., Pierson, R.A., & Ginther, O.J. (1986). Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189, 1289-1294.

Çelik, H.A., Avcı, G., Aydın, İ., Bülbül, A., & Bülbül, T. (2009). Effect of β -carotene on ovarium functions and ovsynch success in repeat breeder cows. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.* 15(1), 87-94. Doi: 10.9775/kvfd.2008.82-A

Daşkın A (2005). *Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yönetimi ve Suni Tohumlama*. Ankara: Aydan Web Ofset.

De Winter, P.J., Verdonck, M., De Kruif, A., Devriese, L.A., Haesebrouck, F. (1995). Bacterial endometritis and vaginal discharge in the sow prevalence of different bacterial species and experimental reproduction of the syndrome. *Animal*

Reproduction Science, 37, 325-335. Doi: 10.1016/0378-4320(94)01342-J

Dinç, D.A. (1990). Döl tutmayan (Repeat Breeder) hayvanlar. Erol Alaçam (Ed.), *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Obstetrik ve İnfertilite içinde* (s. 223-240), Ankara: Nurol Matbaacılık.

Diskin, M.G., Murphy, J.J., & Sreenan, J.M. (2006). Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science*, 96, 297-311. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.008

Doyle, J.C., Huston, J.E., & Thompson, P.V. (1990). Influence of mineral supplementation on bovine serum liver and endometrium at day 12 of the oestrus cycle. *Theriogenology*, 34, 21-31. Doi: 10.1016/0093-691x(90)90573-c

Dunne, L.D., Diskin, M.G., Boland, E.T., O'Farrell K.J., & Sreenan, J.M. (1999). The effect of pre- and postinsemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Animal Science*, 69,411-417. Doi: 10.1017/S1357729800050980

Erkal, N. (1984). Samsun yöresi sığırlarının kan serumunda bakır çinko düzeyleri üzerinde araştırma. *Doğa Bilim Dergisi*, 8(2), 101-115.

Farin, P.W., Crosior, A.E., & Farin, C.E. (2001). Incidence of in vitro systems on embryo survival and foetal development in cattle. *Theriogenology*, 55, 151-170. Doi: 10.1016/s0093-691x(00)00452-0

Ferguson, J.D., & Chalupa, W. (1989). Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 746-766. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79168-2

Flint, A.P.F. (1992). Steroid effect on embryo survival. Role of luteal secretion of progesterone and oxytocin in the

aetiology of embryo mortality. *12th International Congress on Animal Reproduction*. August 23-27, The Hague-The Netherlands (pp. 22-25).

Folman, Y., Rosenberg, M., Herz, Z., & Davidson, M. (1973). The relationship between plasma progesterone concentration and conception in postpartum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *Journal of Reproduction and Fertility*, 34, 267-278. Doi: 10.1530/jrf.0.0340267

Garcia-Bojalil, C.M., Staples, C.R., Risco, C.A., Savio, J.D., & Thatcher, W.W. (1998). Degradability and calcium salts of long chain fatty acids in the diets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81,1385-1395. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75702-9

Ginther, O.J., Wiltbank, M.C., Fricke, P.M., Gibbons, J.R., & Kot, K. (1996). Minireview, Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology Reproduction*, 55, 1187-1194. Doi: 10.1095/biolreprod55.6.1187

Griffin, J.F.T., Hartigan, P.J., & Nunn, W.R. (1974). Non-specific uterine infection and bovine infertility infection pattern and endometritis during first seven weeks post-partum. *Theriogenology*, 1(3), 91-106. Doi: 10.1016/0093-691x(74)90052-1

Grimard, B., Freret, S., Chevallier, A., Pinto, A., Ponsart, C., & Humblot, P. (2006). Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. *Animal Reproduction Science*, 91, 31-44. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.03.003

Grummer, R.R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science*, 73, 2820-2833. Doi: 10.2527/1995.7392820x

Güzeloğlu, A. (2006). İneklerde gebeliğin maternal kabulü sürecinde anti-luteolizisin moleküler mekanizması. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 22, 83-88.

Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W.W., & Wilcox, C.J. (1973). Physiological environmental and hormonal factors at insemination which may affect conception. *Journal of Dairy Science*, 56, 873-877. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(73)85270-1

Hafez B, & Hafez ESE (2000). Fertilizasyon ve cleavage. In Hafez ESE (Ed.), *Reproduction in Farm Animals*. (7th edit., chapter 6)). Philadelphia: Lea and Febiger.

Hafez, E.S.E. (1987). *Reproduction in farm animals* (5th edit). Philadelphia, Lea and Febiger.

Hansen, P.J. (2009). Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 364, 3341-3350. Doi: 10.1098/rstb.2009.0131

Hansen, P.J., & Arechiga, C.F. (1999). Strategies for managing reproduction in the heat stressed dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 82, 36-50. Doi: 10.2527/1997.77suppl_236x

Hirako, M., Karmomae, H., & Domeki, I. (1995). Luteotrophic effect of pregnant mare serum gonadotrophin in cattle. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 57, 317-321. Doi: 10.1292/jvms.57.317

Horan, B., Mee, J.F., Rath, M., O'connor, P., & Dillon, P. (2004). The effect of strain of Holstein-Friesian cow and feeding system on reproductive performance in seasonal-calving milk production systems. *Animal Science*, 79, 453-467. Doi: 10.1017/S1357729800090329

Humbolt, P. (2001). Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing frequencies and sources of embryonic mortality in

ruminants. *Theriogenology*, 56, 1417-1433. Doi: 10.1016/s0093-691x(01)00644-6

Inskeep, E.K. (2000). Factors that effect embryonic survival in the cow. Application of technology to Improve Calf Crop. In Proc 49th Annual Beef Cattle Short course (pp.19-28). Gainesville, Florida.

James, L.F., Panter, K.E., Nielsen, D.B., & Molyneux, R.J. (1992). The effect of natural toxins on reproduction in livestock. *Journal Animal Science*, 70, 1573-1579. Doi: 10.2527/1992.7051573x

Kaçar, C., Kamiloğlu, N.N., Uçar, Ö., Arı, U.Ç., Pancarcı, Ş.M., & Güngör, Ö. (2008). İneklerde β -karoten + E Vitamini uygulamasıyla kombine edilen ovysynch ve cosynch senkronizasyon programlarının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1), 45-50. Doi: 10.9775/kvfd.2008.02-A

Kastelic, J.P. (1994). Noninfectious embryonic loss in cattle. *Veterinari Medicina*, 6, 584-589.

Kaya, M.S., Bademkiran, S., Kose, M., Ucar, E.H., Mutlu, H., & Atlı, M.O. (2017). Sığırlarda Gebelikle İlişkili Glikoproteinlerin Tespitinde Kullanılan İki Test Kitinin Karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(1), 45-53. Doi: 10.17094/ataunivbd.309772

Khodaei Motlagh, M., Zare Shahneh, A., Masoumi, R., & De Rensis, F. (2011). Alterations in reproductive hormones during heat stress in dairy cattle. *African Journal of Biotechnology*, 10, 5552-5558. Doi: 10.5897/AJB09.033

Kılıçarslan, M.R. (1999). Gebelik patalojisi. Erol Alaçam (Ed.) *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite* içinde (s.121-129). Ankara: Medisan.

King, W.A. (1985). Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology*, 23, 161-174. Doi: 10.1016/0093-691X(85)90080-9

King, W.A. (1990). Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, 34, 229-250. Doi: 10.1016/B978-0-12-039234-6.50013-6

King, W.A. (1991). Embryo mediated pregnancy failure in cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 32, 99-103.

Küplülü, Ş. (1990). Plasentasyon ve gebelik süreci. Erol Alaçam (Ed.) *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Obstetrik ve İnfertilite* içinde (s. 97-107). Ankara: Nurol Matbaacılık.

Larson, F.S., Butler, R.W., & Currie, B.W. (2007). Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 102, 172-179. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2007.02.023

Le Blanc, S.J. (2013). Short communication: field evaluation of a pregnancy confirmation test using milk samples in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 2345-2348. Doi: 10.3168/jds.2012-6414

Leroy, J.L.M.R., Van Soom, A., Opsomer, G., & Bols, P.E.J. (2008). The consequences of metabolic changes in high yielding dairy cows on oocyte and embryo quality. *Animal*, 2, 1120-1127. Doi: 10.1017/S1751731108002383

Long S (2001). Abnormal development of the conceptus and its consequences. In Noakes D.E, Parkinson T.J, England G.C.W (Eds.), *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics* (8th Edit. Pp. 119-143). London: Saunders.

Lopez Gatiús, F., Hunter, R.H.F., Garbaya, J.M., Santolaria, P., Yaniz, J., Serrano, B., Ayad, A., De Sousa, N.M., & Beckers, J.F. (2007). Plasma concentrations of pregnancy associated glycoprotein 1 (PAG-1) in high producing dairy cows suffering early fetal loss during the warm season. *Theriogenology*, 67, 1324-1330. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.02.004

Lopez Gatiús, F., Santolaria, P., Yaniz, J.L., Garbaya, J.M., & Hunter, R.H.F. (2004). Timing of early foetal loss for single and twin pregnancies in dairy cattle. *Reproduction Domestic Animals*, 39, 429-433. Doi: 10.1111/j.1439-0531.2004.00533.x

Lucy, M.C. (2008). Functional differences in the growth hormone and Insulin-like growth factor axis in cattle and pigs. Implications for Post-partum Nutrition and reproduction. *Reproduction Domestic Animals*, 43, 31-39. Doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01140.x

Mann, G.E. (2002). Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. 22. *World Buiatrics Congress*, August 18-23. Hannover, Germany.

Mann, G.E., Lamming, G.E., & Fray, M.D. (1995). Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effect of treatment with buserelin. *Animal Reproduction Science*, 37, 121-131. Doi: 10.1016/0378-4320(94)01325-G

Mihm, M., Curran, N., Hyttel, P., Knight, G., Boland, M.P., & Roche, J.F. (1999). Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, 116, 293-304. Doi: 10.1530/jrf.0.1160293

Morgan, W.F., & Lean, I.J. (1993). Gonadotrophin releasing hormone treatment in cattle. A meta analysis of the

effects on conception at the time of insemination. *Australian Veterinary Journal*, 70, 205- 209. Doi: 10.1111/j.1751-0813.1993.tb03304.x

Muhammad, K.S. (2009). Pregnancy diagnosis in the cow. pHD Thesis, Uvas, Lahore.

Mulligan, F.J., O'grady, L., Rice, D.A., & Doherty, M.L. (2006). A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science*, 96, 31-353. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2006.08.011

Nebel, R.L., & Mc Gilliard, M.L. (1993). Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 76, 3257-3268. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77662-6

Nishigai, M., Kamomae, H., Tanaka, T., & Kaneda, Y. (2002). Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen thawed embryos. *Theriogenology*, 58, 1597-1606. Doi: 10.1016/s0093-691x(02)01062-2

Noakes, D. (1988). The individual infertile cow. *In practice*, 1, 32-42. Doi: 10.1136/inpract.10.1.32

Onyango, J. (2014). Cow postpartum uterine infection. A review of risk factors prevention and the overall impact. *Veterinary Research International*, 2(2), 18-32.

Parmar, S.C., Dharni, A.J., Hadiya, K.K., & Parmar, C.P. (2016). Early embryonic death in bovines. *Raksha Technical Review*, 6(1), 6-12.

Patel, O.V., Sulan, J., Beckers, J.F., Takahashi, T., Hirako, M., Sasaki, N., & Domeki, I. (1997). Plasma bovine pregnancy associated glycoprotein concentrations throughout gestation in relationship to fetal number in the cow. *European*

Journal of Endocrinology, 137, 423-598. Doi: 10.1530/eje.0.1370423

Peters, A.R. (1996). Embryo mortality in the cow. *Animal Breeding Abstracts*, 64(8), 587-598.

Peters, A.R. (2005). Veterinary clinical application of GnRH questions of efficiency. *Animal Reproduction Science*, 88, 155-167. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.05.008

Peters, A.T. (2013). Bovine placenta: A review on morphology, components and defects from terminology and clinical perspectives. *Theriogenology*, 80, 693-705. Doi:10.1016/j.theriogenology.2013.06.004

Pierson, R.A., & Ginther, O.J. (1984). Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*, 21, 95-504. Doi: 10.1016/0093-691x(84)90411-4

Porter, J.K., & Thompson, F.N. (1992). Effects of fescue toxicosis on reproduction in livestock. *Journal of Animal Science*, 70, 1594-1603. Doi: 10.2527/1992.7051594x

Pryce, J.E., Coffey, M.P., & Simm, G. (2001). The relationship between body condition score and reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 84, 1508-1515. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70184-1

Rani, P., Dutt, R., Singh, G., & Chandolia, R.K. (2018). Embryonic mortality in cattle a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(7), 1501-1516. Doi: 10.20546/ijcmas.2018.707.177

Rensis, F.D., & Scaramuzzi, R.J. (2003). Heat stress and season effect on reproduction in dairy cows. *Theriogenology*, 60, 1139-1151. Doi: 10.1016/s0093-691x(03)00126-2

Rhoads, M.L., Gilbert, R.O., Lucy, M.C., & Butler, W.R. (2004). Effects of urea infusion on the uterine luminal

environment of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 2896-2901. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73420-7

Ricci, A., Carvalho, P.D., Amundson, M.C., Fourdraine, R.H., Vincenti, L., & Fricke, P.M. (2015). Factors associated with pregnancy associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *Journal of Dairy Science*, 98, 2502- 2514. Doi: 10.3168/jds.2014-8974

Saacke, R.G., Dalton, J.C., Nadir, S., Nebel, R.L., & Bame, J.H. (2000). Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Animal Reproduction Science*, 60, 663-677. Doi: 10.1016/s0378-4320(00)00137-8

Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Pool, L., & Overton, M.W. (2001). Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of highproducing lactating holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*, 79, 2881-2894. Doi: 10.2527/2001.79112881x

Sartori, R., Sartor, Bergfel, T.R., Mertens, S.A., Guenther, J.N., Parrish, J.J., & Wiltbank, M.C. (2002). Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *Journal of Animal Science*, 85, 280-312. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74367-1

Schmitt, E.J.P., Barros, C.M., Fields, P.A., Fields, M.J., Diaz, T., Kluge, J.M., & Thatcher, W.W. (1996). A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin relasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. *Journal of Animal Science*, 74, 1915-1929. Doi: 10.2527/1996.7481915x

Schopper, D., Schemer, R., Weiler, U., & Claus, R. (1993). Effects of milk yield on fertility of dairy cows post partum: Evolution of progesterone profiles. *Reproduction in Domestic Animals*, 28, 225-235. Doi: 10.1111/j.1439-0531.1993.tb00131.x

Senger, P.L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition* (3rd edit.). Current Conception Inc.

Shams Esfanabadi, N., & Shirazi, A. (2006). Effects of supplementation of repeat breeder dairy cows with CIDR from 5-19 post insemination on pregnancy rate. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(11), 2173-2176. Doi: 10.3923/pjbs.2006.2173.2176

Sheldon, I.M., Lewis, G.S., Leblanc, S., & Gilbert, O.R. (2006a). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 51, 101-107. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.08.021

Sheldon, I.M., Wathes, D.C., & Dobson, H. (2006b). The management of bovine reproduction in elite herds (review). *The Veterinary Journal*, 171, 70-78. Doi: 10.1016/j.tvjl.2004.06.008

Shore, L.S., Rios, C., & Marcus, S. (1998). Relationship between peripheral estrogen concentrations at insemination and subsequent fetal loss in cattle. *Theriogenology*, 51, 101-107. Doi: 10.1016/s0093-691x(98)00117-4

Silke, V., Diskin M.G., Kenny, D.A., Boland, M.P., Dillon, P., Mee, J.F., & Sreenan, J.M. (2002). Extent, pattern and factors associated with late embryonic losses in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 71, 1-12. Doi: 10.1016/s0378-4320(02)00016-7

Sinclair, M.A., Young, L.E., Wilmut, I., & McEvoy, I. (2000). In utero overgrowth in ruminants following embryo culture: Lessons from mice and warning men. *Human*

Reproduction, 15(5), 68-86. Doi:
10.1093/humrep/15.suppl_5.68

Starbucks, R., Darwash, A.O., Mann, G.E., & Lamming, G.E. (2001). The detection and treatment of post insemination progesterone insufficiency in dairy cows. *BSAP Occasional Publication*, 26(2), 447-450. DOI: 10.1017/S0263967X00034091

Thatcher, W.W., Güzelöğlu, A., Mattors, R., Binelli, M., Hansen, T.R., & Pru, J.K. (2001). Uterine conceptus interaction and reproductive failure in cattle. *Theriogenology*, 56, 1435-1450. Doi: 10.1016/s0093-691x(01)00645-8

Thatcher, W.W., Güzelöğlu, A., Meikle, A., Kamimura, S., Bilby, T., Kowalski, A.A., Badinga, L., Pershing, R., Bartolome, J., & Santos, E.P. (2003). Regulation of embryo survival in cattle. *Reproduction Supplement*, 61, 253-266. Doi: 10.1530/biosciprocs.5.019

Thurmond, M.C., Picanso, J.P., & Jameson, C.M. (1990). Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 197, 1305-1312. DOI: 10.2460/javma.1990.197.10.1305

Toolsee, P. (2003). Accuracy and economic evaluation of nonpregnancy diagnosis in dairy cattle in mauritius by milk progesterone determination, Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritius.

Villa Godoy, A., Hughes, T.L., Emery, R.S., Chapin, L.T., & Fogwell, R.L. (1988). Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 71, 1063-1072. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(88)79653-8

Walsh, S.W., Williams, E.J., & Evans, A.C.O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123, 127-138. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2010.12.001

Wathes, D.C. (1992). Embryonic mortality and the uterine environment. *Journal of Endocrinology*, 134, 321-325. DOI: 10.1677/joe.0.1340321

Wathes, D.C., Fenwick, M., Cheng, Z., Bourne, N., Llewellyn, S., Morris, D.G., Kenny, D., Murphy, J., & Fitzpatrick, R. (2007). Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology*, 68, 232-241. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.006

Wilson, S.J., Marion, R.S., Spain, J.N., Spiers, D.E., Keisler, D.H., & Lucy, M.C. (1998). Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2124-2131. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75788-1

Wolfenson, D., Roth, Z., & Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat stressed cattle. Basic and applied aspects. *Animal Reproduction Science*, 60(61), 535-547. Doi: 10.1016/s0378-4320(00)00102-0

Wolff, N. (1992). Nachweis embryonaler Mortalität beim Rind mit Hilfe der Sonographie. *Tierärztliche Praxis*, 20(4), 373-380.

Yalçın, S. (2002). Yemlerde antinutrisyonel faktörler. Ergün, A., Çolpan, İ., Yıldız, G., Küçükersan, S., Tuncer, Ş.D., Yalçın, S., Küçükersan, M.K., Şehu A. (Eds), *Yem Hijyeni ve Teknolojisi içinde* (s. 318-345). Ankara: Pozitif Matbaacılık.

Yıldız, A., & Balıkcı, E. (2004). İneklerin kan serumlarındaki bazı mineraller ile embriyonik ölüm arasındaki

ilişki. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2), 11-15.

Youngquist, R.S., & Shore, M.D. (1997). Postpartum uterine infections. In Youngquist R.S. (Ed), *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 335-340). Philadelphia: Saunders Company.

Zavy, M.T. (1994). Embryonic mortality in cattle. In Zavy M.T., Geisert, R.D. (Eds), *Embryonic Mortality in Domestic Species* (pp. 99-140). Boca Raton: CRC press.

BÖLÜM V

Erkek Üreme Sistemi Üzerinde Nanopartiküllerin Etkileri: Artılar ve Eksiler

Mine HERDOĞAN¹
Muhammed Enes İNANÇ²

Giriş

"Nanoteknoloji" terimi ilk olarak 1974 yılında Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi tarafından tanımlanmıştır ve atomik veya moleküler düzeyde maddelerin manipülasyon süreci olarak ifade edilmektedir (Agrawal & Rathore, 2014). Boyutları 1 ila 100 nanometre (nm) arasında değişen nanopartiküller (NP'ler), üretildiği esas malzemelerden belirgin şekilde farklı fiziksel ve kimyasal özellikler sergilemektedir (İftikhar & ark., 2021). Yüksek yüzey alanı-hacim oranı ve kuantum etkilerinden kaynaklanan bu özgün

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye, Orcid: 0000-0003-0911-3901, herdoganmine@gmail.com

²Doç. Dr. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye, Orcid: 0000-0001-6954-6309, enesinanc@hotmail.com

özellikler, NP'lerin biyomedikal, elektronik, çevre teknolojisi ve malzeme mühendisliği gibi çeşitli alanlarda geniş bir uygulama alanı bulmasını sağlamaktadır. NP'lerin sentezi, kimyasal buhar biriktirme, sol-jel işlemi ve hidrotermal sentez gibi farklı yöntemlerle gerçekleştirilebilmekte olup her bir yöntemin ölçeklenebilirlik, saflık ve parçacık özellikleri üzerindeki kontrol derecesi açısından belirli avantaj ve sınırlılıkları bulunmaktadır (J. R. V. Silva & ark., 2021).

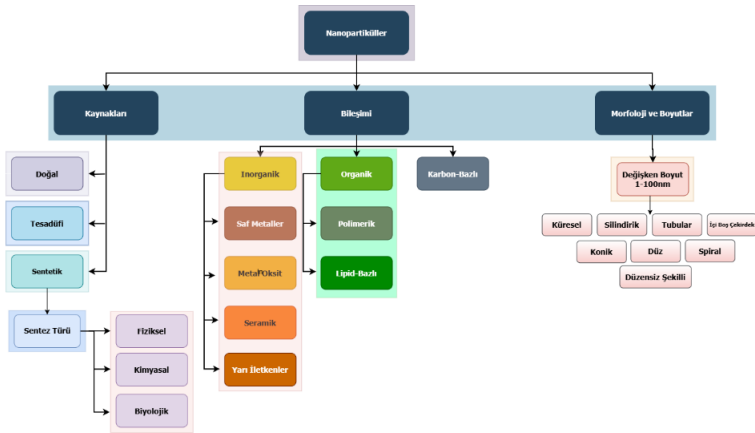
NP'ler, endüstriyel ve biyomedikal uygulamalarda yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. NP'leri içeren tekstil, sağlık uygulamaları, spor malzemeleri ve gıda maddeleri gibi 1814'ten fazla ürünün bulunduğu ve bu ürün sayısının hızla arttığı bildirilmektedir (Şekil 1) (Phogat & ark., 2016; Vance & ark., 2015). Ancak, nanoteknoloji endüstrisinin hızlı büyümesi, her yıl yaklaşık 300.000 ton NP'nin üretilmesi ve çevreye salınmasıyla sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, giderek artan sayıda insan ve hayvan, bu partiküllere çeşitli yollarla (solunum, yutma, deri teması ve enjeksiyon) maruz kalmakta olup bu maruziyet, tüketici ürünleri ve tıbbi uygulamalar yoluyla kasıtlı olarak veya çevresel ve mesleki kirlenme yoluyla istem dışı gerçekleşebilmektedir (M. R. Souza, Mazaro-Costa, & Rocha, 2021).



Şekil 1. NP'lerin yaygın kullanım alanları

1. NP'lerin Sınıflandırılması ve Sentezi

NP'ler, çeşitli boyut, şekil, malzeme bileşimi, kaynak ve üretim yöntemi gibi birçok kritere göre sınıflandırılabilen nanoskalada yapılarıdır (Şekil 2). NP'lere atfedilebilecek pek çok sınıflandırma bulunmasına rağmen, hepsinin ortak bazı özellikleri vardır. Küçük boyutları, yüksek yüzey alanı-hacim oranı ile ilişkilidir ve fiziksel özellikleri değiştirilebilir niteliktedir. Ayrıca yüzey fonksiyonelleştirmeye elverişlidirler ve üretildikleri esas malzemeye kıyasla farklı fiziksel özellikler sergilerler. Genellikle küresel olmakla birlikte, NP'ler silindirik, tübüler, konik, içi boş çekirdekli, spiral, düz veya düzensiz şekilli gibi çeşitli şekillerde ve değişen boyutlarda olabilmektedir (Cormode, Naha, & Fayad, 2014; Ealia & Saravanakumar, 2017).



Şekil 2. NP'lerin kaynaklarına, bileşimlerine, morfolojilerine ve boyutlarına göre sınıflandırılması

Günümüzde NP'ler insan faaliyetlerinin bir sonucu olarak kasıtsız bir şekilde üretilmekte, endüstriyel ve evsel süreçlerin yan ürünleri olarak ortaya çıkmakta ve yanlışlıkla çevreye salınabilmektedir. Ayrıca, atomik yeniden düzenleme yoluyla yeni özelliklere sahip sentetik NP'ler oluşturulabilmektedir. NP'lerin yalnızca modern teknolojinin bir ürünü olmadığına dikkat etmek önemlidir; doğal olarak bulunurlar ve hidrosfer, atmosfer, litosfer ve biyosferde bulunarak Dünya'da yaygın olarak dağılmışlardır (Jeevanandam & ark., 2018). Bu nedenle, NP'ler kökenlerine göre tesadüfi, sentetik/mühendislik ürünü veya doğal olarak sınıflandırılabilir.

NP'lerin sentezi, yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya yaklaşımlar da dahil olmak üzere çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilir. Yukarıdan aşağıya yöntemler yığın halindeki malzemeleri nano ölçekli parçacıklara ayırmayı içerirken, aşağıdan yukarıya yöntemler moleküler öncülerden NP'ler oluşturmaktadır. Hidrotermal sentez, yüksek sıcaklık ve basınçlarda reaktiflerin çözünürlüğünü kontrol ederek yüksek

saflıkta ve tek dağılımlı NP'lerin üretimine olanak sağlayan popüler bir tekniktir (Ly & Marks, 2017). Bu yöntem, amaçlanan uygulamalar için özel olarak tasarlanmış belirli özelliklere sahip metal oksitler ve diğer inorganik NP'lerin üretilmesi için özellikle avantajlıdır.

NP'lerin bileşimi, fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini doğrudan etkilediği için büyük önem taşımaktadır. Örneğin, gümüş (Ag) NP'ler antimikrobiyal özellikleri nedeniyle yaygın olarak araştırılmaktadır ve sentezleri, polifenoller ve şekerler açısından zengin bitki özleri kullanılarak biyolojik sentez dahil olmak üzere çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilir (Hebbalalu & ark., 2013; Mustapha & ark., 2022; Shydlovska & Kharchenko, 2022). Bu yöntem yalnızca çevresel etkiyi azaltmakla kalmaz, aynı zamanda tıp ve çevresel iyileştirme gibi uygulamalardaki etkinlikleri için çok önemli olan partikül boyutu ve şeklinin düzenlenmesini de sağlamaktadır (Álvarez-Chimal, 2023; Durán, Nakazato, & Seabra, 2016; Tanwar & ark., 2024).

Morfoloji, NP'lerin karakterizasyonu açısından bir diğer önemli konudur. NP'lerin şekli ve boyutu, reaktiviteleri ve biyolojik sistemlerle etkileşimleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Örneğin, mikrodalga destekli sentez yoluyla üretilen AgNP'ler, uygulamalarda tutarlı performans için hayati önem taşıyan tek tip boyutlar ve şekiller göstermiştir (Dzido & ark., 2015). Mikroakışkan sentezi gibi teknikler de NP'leri sürekli olarak üretmek için geliştirilmiştir, böylece partiden partiye değişkenliği en aza indirir ve partikül özellikleri üzerinde hassas kontrol sağlar (James & ark., 2020; Nkele & Ezema, 2021). Ayrıca, NP'lerin boyutları uygulamalarının belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Daha küçük boyutlara sahip NP'ler tipik olarak daha yüksek yüzey alanı/hacim oranları sergiler, böylece reaktivitelerini arttırdığı için kataliz ve ilaç dağıtım sistemleri gibi uygulamalar için uygun hale gelmektedir (Çelebioğlu, İmamoğlu, & Taş, 2021; Negi &

Singh, 2018). Lazer ablasyon veya birlikte çökeltme gibi kullanılan sentez yöntemleri de üretilen NP'lerin nihai boyutları ve morfolojisi üzerinde etkili olabilir (Arularasu & ark., 2018; Khashan, Sulaiman, & Abdulameer, 2015).

2. NP'lere Maruziyet Yolları

NP'ler, tıp, kozmetik ve çevre teknolojileri de dahil olmak üzere çeşitli endüstrilerdeki yaygın olarak kullanılmaları sebebiyle, NP'lere maruz kalmayla ilişkili potansiyel sağlık riskleri giderek artan bir endişe oluşturmaktadır. Maruz kalma yollarını anlamak, bu malzemelerin oluşturduğu riskleri değerlendirmek için oldukça önemlidir. NP'lere maruz kalmanın başlıca yolları arasında inhalasyon, dermal temas ve yutma yer almaktadır. Bunların her biri insan sağlığı için farklı mekanizmalar ve etkiler sunmaktadır.

Soluma, özellikle havayla taşınan NP'ler için genellikle en önemli maruziyet yolu olarak kabul edilir. Çalışmalar, solunan NP'lerin solunum sisteminin derinliklerine nüfuz ederek sistemik olarak dağılabileceği ve potansiyel toksisiteye yol açabileceğini göstermektedir. Örneğin, Fernández-Pampín & ark. (2022) Mangan oksit (Mn_2O_3) NP'ler için başlıca maruziyet yolunun soluma olduğunu ve NP'lerin boyutunun solunum yolundaki dağılımlarını etkilediğini belirtmektedir. Benzer şekilde, Shakeel & ark. (2015) titanyum dioksit (TiO_2) NP'lerinin solunmasını tartışmakta ve TiO_2 'nin çeşitli ürünlerde yaygın kullanımı nedeniyle solunum maruziyetinin özellikle endişe verici olduğunu ve bunun da havadan maruz kalma olasılığını artırdığını belirtmektedir. Ayrıca, Rodrigues & ark. (2022) mikro ve nanoplastiklerle ilişkili sağlık risklerinin altını çizerek, solunmasının bronşit ve astım gibi solunum sorunlarına yol açabileceğini belirtmektedir.

Dermal maruziyet, NP'lerin insan vücuduna girebileceği bir diğer kritik yoldur. Cilt, koruyucu bir bariyer görevi görse de özellikle güneş kremleri ve kozmetikler gibi tüketici

ürünlerine dahil edildiklerinde, belirli NP'ler deriye nüfus edebilir. Çeşitli ürünlere entegre edilmiş NP'ler dermal maruziyete yol açabilmekte, partikül boyutu ve formülasyon gibi faktörlere bağlı olarak cilt emilimini etkileyebilmektedir (Filon & ark., 2016). Ayrıca, çalışmalar Ag NP'lerin cilde nüfuz edebildiğini göstermiş ve altta yatan dokular üzerindeki potansiyel toksik etkileri gösterebileceğini belirtmişlerdir (Kulthong & ark., 2010). Ayrıca, Goetz & ark. (2013), tekstil ürünlerinde kullanılan sentetik NP'lerin fiziksel aktivite sırasında serbest kalabileceğini ve ciltle doğrudan temasa yol açabileceğini belirtmiştir.

Yutma, kontamine yiyecekler, içecekler ve hatta solunan partiküllerin ikincil yutulması yoluyla meydana gelebilen NP'lere maruz kalmanın bir başka önemli yoludur. Yutma NP'lerin vücutta sistemik dağılımına yol açabilir ve boyutlarına ve yüzey özelliklerine bağlı olarak potansiyel olarak çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir (Sahu & Hayes, 2017). Ayrıca, gıda ürünlerindeki NP'ler bu riski arttırarak, gastrointestinal hasara ve diğer olumsuz sağlık etkilerine neden olabilmektedir (Onyeaka & ark., 2022). NP'lerin gıda ambalajlarından gıda maddelerine sızma potansiyeli, gıda üretiminde NP'lere maruz kalma seviyeleri ile ilgili konuyu daha da karmaşık hale getirmektedir.

NP'lerin biyolojik sistemlerle etkileşimi karmaşıktır ve maruziyetle ilişkili toksisite giriş yoluna bağlı olarak değişebilir. Örneğin, solunan NP'ler akciğerlerde oksidatif stres ve iltihaplanmaya neden olabilirken, deriden emilen NP'ler bağışıklık tepkilerini ve cilt tahrişini tetikleyebilir (Reijnders, 2012). Yutulan NP'lerin sistemik etkileri, karaciğer ve dalak dahil olmak üzere çeşitli dokularda birikebildikleri için organa özgü toksisitelere yol açabilmektedir (Bhatti & ark., 2021). Toksisite mekanizmaları genellikle reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve DNA hasarı potansiyeli ile bağlantılıdır (Romoser, Criscitiello, & Sayes, 2014).

NP'lerin çevreye salınması ekolojik risklere yol açabileceğinden, NP maruziyet yollarının çevresel etkileri göz ardı edilemez. Örneğin NP'lerin çevresel yollarla sucul ortamlara geçmesi hem hayvan hem insan sağlığı açısından bir diğer risk faktörüdür. NP'lerin tüketici ürünlerinden çevreye geçme potansiyeli, ekosistemler ve insan sağlığı üzerindeki uzun vadeli etkileri düşünüldüğünde oldukça endişe vericidir (Arvidsson & ark., 2011).

Sonuç olarak, NP'lere maruz kalma yollarından olan inhalasyon, dermal temas ve yutma kapsamlı bir araştırma gerektiren önemli sağlık riskleri oluşturmaktadır. Her bir yol, insan sağlığı için zorluklar ve çıkarımlar sunmakta, ayrıca risk değerlendirmesi ve yönetimi açısından kapsamlı bir yaklaşım gerektirmektedir. NP'lerin kullanımı yaygınlaşmaya devam ettikçe, maruziyeti azaltmak ve halk sağlığını korumak için stratejiler geliştirmek gerekebilir.

3. NP'lerin Kan-Testis Bariyerini Geçme Yolları

NP'lerin biyolojik bariyerleri aşma kabiliyeti, ilaç dağıtımı ve terapötik müdahalelerdeki uygulamalarının kritik bir yönüdür. Kan-beyin bariyeri (BBB), kan-testis bariyeri (BTB), plasenta bariyeri ve epitelyal membranlar gibi biyolojik bariyerler, terapötik ajanların etkili bir şekilde verilmesinde önemli zorluklar teşkil etmektedir. NP'lerin bu bariyerleri aşma mekanizmalarını anlamak, tasarımlarını optimize etmek ve klinik uygulamalardaki etkinliklerini artırmak için gereklidir (Şekil 3). NP'ler bu biyolojik bariyerleri aşma kapasitesine sahiptir. Örneğin, uygulanan toplam NP sayısının %2,67'si BBB, BTB, kan-plasental bariyeri ve kan-süt bariyerini başarıyla geçmiştir (Jia & ark., 2020).

Sertoli hücreleri arasındaki tight junctionlardan (TJ'ler) oluşan BTB, kan dolaşımı ile spermatogenezisin gerçekleştiği seminifer tübüller arasındaki maddelerin geçişini düzenleyen kritik bir koruyucu bariyer görevi görür (Bai & ark., 2010;

Miller & Cherrington, 2018) . BTB, bütünlüğüne ve işlevselliğine toplu olarak katkıda bulunan TJ'ler, gap junctionlar ve desmozomlar dahil olmak üzere çeşitli bağlantı kompleksleri ile karakterize edilir (Lie, Cheng, & Mruk, 2013; Mruk & Cheng, 2010; Pan & ark., 2018). TJ'ler, moleküllerin ve iyonların geçişini kısıtlayarak intratübüler ortamın stabil kalmasını ve spermatozoa gelişimi için elverişli olmasını sağladıkları için özellikle önemlidir (Lie, Cheng, & Mruk, 2013; Mruk & Cheng, 2010; Pan & ark., 2018). BTB'nin dinamik yapısı, spermatogenezisin farklı aşamalarında yeniden şekillenme kabiliyetindedir ve germ hücrelerinin bazaldan adluminal kompartmana translokasyonuna izin vermektedir (Bekheet, 2010; Ercan & Elmas, 2022) Ayrıca, claudins ve occludins gibi spesifik proteinlerin varlığı BTB'nin yapısal bütünlüğünü korumak için kritik öneme sahiptir (Lie, Cheng, & Mruk, 2013; Lui & Lee, 2006; Pan & ark., 2018). NP'lerin bu bariyeri nasıl aştığını anlamak hem risklerini değerlendirmek hem de nanotıpta faydalarından yararlanmak için gereklidir.

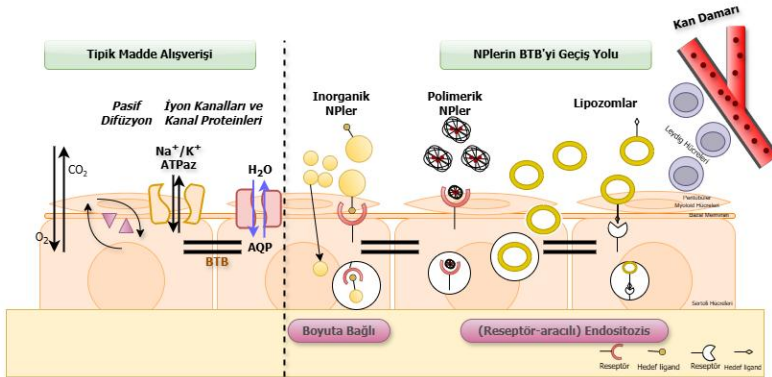
NP'ler hedef bölgelerine ulaşmak için tipik olarak iki temel yolla biyolojik bariyerleri aşmaktadır: transselüler ve paraselüler yol. Transselüler yol, transsitoz ve reseptör aracılı taşıma süreçlerini içerirken, paraselüler yol genellikle fiziksel yardım sağlanmasını gerektirir. Transsitoz, spesifik veya spesifik olmayan reseptör aracılı olarak kategorize edilebilir. Spesifik endositoz, NP yüzeylerinin glikoz, amino asitler, apolipoprotein E ve ferritin gibi hedef moleküllerle modifikasyonunu içermektedir. Bunlar hedef hücrelerdeki ilgili reseptörlere bağlanarak etkili bir şekilde taşınmasını kolaylaştırır. Spesifik olmayan transsitoz adsorpsiyon aracılı, klatrin bağımlı ve klatrinden bağımsız olmak üzere üç ana yolu kapsamaktadır. NP iletimi için paraselüler yol, boyut, yüzey yükü, yüzey modifikasyonu ve manyetik ve fototermal özellikler dahil olmak üzere bir dizi faktörden etkilenmektedir (Zhao & ark., 2024).

Daha önce de belirtildiği gibi, NP'ler soluma, yutma ve dermal emilim dahil olmak üzere bir dizi farklı yolla kan dolaşımına erişebilir. (X. Liu & ark., 2010; Skovmand & ark., 2018). Dolaşıma girdikten sonra, NP'lerin testise ulaşma kapasitesi boyutlarına, konfigürasyonlarına ve yüzey özelliklerine bağlıdır. Örneğin, daha küçük metalik NP'ler, özellikle de boyutları 30 nm'nin altında olanlar, küçük boyutları ve küresel şekilleri nedeniyle BTB'ye daha kolay nüfuz edebilir (P. J. John, 2023). Ayrıca, maruz kalma yolunun NP'lerin testis dokusundaki biyopersistansı üzerinde önemli bir etkisi vardır. Örneğin, AgNP'ler oral maruziyetinin intravenöz uygulanmasına kıyasla yarılanma ömrü daha uzun olmuş ve bu da testiste uzun süreli birikime neden olmuştur (Leclerc & ark., 2015; J. H. Lee & ark., 2013).

Ayrıca, NP'lerin neden olduğu enflamatuvar yanıt, BTB'nin bütünlüğünü tehlikeye atabilir, geçirgenliğini artırabilir ve seminifer tübüllere daha fazla NP translokasyonuna izin verebilir (Skovmand & ark., 2018; R. Wang & ark., 2018). Bu olgu, tedavi potansiyellerinin üreme sağlığı üzerindeki olası toksik etkilerine karşı dikkatle dengelenmesi gereken NP'lerin ikili doğasının altını çizmektedir. Örneğin, belirli NP'lere maruz kalma, apoptozis ve BTB'nin korunması için kritik olan proteinlerin değişen ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir (Deng & ark., 2022; Iftikhar & ark., 2021).

NP'lerin BTB'yi geçme mekanizmaları çok yönlüdür. Örneğin, NP'ler Sertoli hücreleri tarafından endositik yolla içeri alınarak daha sonra kapsüllenmiş terapötik ajanları adlumsal bölmeyle salabilir. Bu süreç, preleptoten spermatositlerin geçişine izin vermek için bariyerin geçici olarak parçalandığı spermatogenezis sırasında BTB'nin dinamik olarak yeniden yapılandırılmasından kaynaklanabilir (Xiao & ark., 2014). Ayrıca, NP'ler üzerinde spesifik ligandların veya yüzey modifikasyonlarının kullanılması Sertoli hücrelerine olan affinitelerini artırarak BTB boyunca translokasyonları daha da

teşvik edebilir (Lan & Yang, 2012; Snow-Lisy & ark., 2011). Dahası, testosteron (T) ve diğer androjenler pro-inflamatuar sitokinleri baskılayarak anti-inflamatuar etki gösterir, bu da sitokin dengesini değiştirerek bağışıklık ayrıcalığı (immune-privilege) ortamı yaratır ve potansiyel olarak BTB bütünlüğünü güçlendirir. NP'lerin toksisitesiyle ilgili olarak, bu durum NP'ye maruz kalmanın organizmada yaygın bir enflamasyon durumuna neden olabileceğini ve Leydig hücrelerini etkileyerek serumdaki T seviyelerinde bir azalmaya ve ardından BTB'nin stabilitesinde bir değişikliğe yol açabileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, NP'lerin postmeiyotik spermatojenik hücreler üzerindeki toksik etkilerinin yalnızca söz konusu NP'lerin boyutuna veya spesifik yüzey modifikasyonlarına atfedilemeyeceği sonucuna varılabilir. Sonuç olarak, bireysel NP toksisitesinin altında yatan moleküler mekanizmalar, BTB üzerindeki hem doğrudan hem de dolaylı etkileri doğurabileceği düşünülmektedir (Lan & Yang, 2012). Ek olarak, Lu & ark. (2021) TiO_2 NP'lerin BTB'de yapısal hasara neden olduğunu ve anahtar BTB proteinlerinin (ZO-1, Claudin-11 ve F-aktin) iritabilitesini artırdığını göstermiştir.



Şekil 3 BTB'yi geçen NP'lerin şematik gösterimi (Lan & Yang, 2024)

NP tasarımıındaki son gelişmeler, biyolojik bariyerleri aşma yeteneklerini geliştirmek için fizikokimyasal özelliklerini optimize etmeye de odaklanmıştır. Örneğin, biyouyumlu malzemelerin dahil edilmesi ve NP'lerin lipoprotein partiküllerini taklit edecek şekilde tasarlanmasının, reseptör aracılı endositoz yoluyla alımlarını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Blanco, Shen, & Ferrari, 2015). Bu yaklaşım sadece terapötik ajanların iletimini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda sistemik uygulama ile ilişkili potansiyel toksisiteyi de en aza indirmektedir. Ayrıca, laminin gibi proteinlerden türetilen peptitlerin kullanımı, NP'lerin testise iletimini artırmak için bir araç olarak araştırılmıştır. Bu peptidler Sertoli hücrelerini seçici olarak hedefleyebilir ve böylece verilen terapötik ajanların lokalizasyonunu ve etkinliğini artırabilir (Su & ark., 2012).

4. Erkek Üremesinde NP'lerin Güncel Terapötik ve İn-Vitro Uygulamaları

NP'ler hem terapötik potansiyeli hem de üreme sağlığını iyileştirme amacıyla kullanılacak önemli bileşenler olarak ortaya çıkmaktadır. Uygulamaları, ilaç dağıtım sistemleri, fertilitite tedavileri ve üreme toksisitesinin değerlendirilmesi dahil olmak üzere çeşitli alanları kapsamaktadır.

Nanoteknoloji, özellikle infertilite tedavileri ve spermatozoanın koruması bağlamında üreme tıbbı alanında önemli bir yer oluşturmaktadır. Son çalışmalar, NP'lerin terapötik ajanların doğrudan üreme dokularına verilmesini artırdığını ve böylece tedavi etkinliğini geliştirdiğini göstermiştir. NP'lerin fertilitenin korunması ve üreme patolojilerinin yönetimi için hedefli ilaç dağıtımı gibi klinik uygulamalardaki potansiyeli göz ardı edilemez (Shandilya & ark., 2020). NP'lerin ilaçların hassas bir şekilde verilmesini kolaylaştırma yeteneği, geleneksel yöntemlerin yetersiz kalabileceği erkek infertilitesinde terapötik sonuçları önemli ölçüde artırabilmektedir.

Ayrıca, NP'lerin kullanımı üreme yolu enfeksiyonlarının ve kanserlerin teşhisine kadar uzanmaktadır. Klinik çalışmalar, zamanında müdahale ve tedavi amacıyla önemli olan erken teşhis için NP'lerin kullanılabileceğini göstermiştir (Shandilya & ark., 2020). Nanoteknolojinin teşhis prosedürlerine entegrasyonu yalnızca hassasiyeti ve özgünlüğü artırmakla kalmayıp, aynı zamanda geleneksel teşhis yöntemlerinin invazivliğini de azaltmaktadır. Bu ilerleme, özellikle testis kanseri gibi durumların erken tespitinin prognozunu önemli ölçüde iyileştirebilir. Erkek üreme sistemiyle ilgili NP'lerin in-vivo terapötik çalışmaları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. *NP'lerin Erkek üreme sisteminde in-vivo terapötik kullanımı*

NP Türü	Ana Bulgular	Referans
Sertoli hücrelerinden türetilen eksosomal miR-30a-5p	Spermatogonial kök hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını MAPK sinyal yolunu düzenleyerek artırmıştır. Bu yolla, infertilite teşhis edilebilir.	B. Wang & ark. (2023)
Lipozom tabanlı honokiol antioksidan nanoparçacıkları (nHNK)	DNA onarımını teşvik etmiş, oksidatif hasarı azalmış ve testislerde ve spermatozoada ATP üretimini düzenlemiştir. Ayrıca hipermotilite için gerekli olan hücre içi kalsiyum girişini onarmış, cisplatin kaynaklı fertilitte bozukluklarını iyileştirici etki göstermiştir.	Wei & ark. (2023)

Tablo 1. (Devamı)

NP Türü	Ana Bulgular	Referans
Kolesterolamino-fosfat(CAP) lipit nanoparçacıkları (LNP'ler)	CAP LNP'ler, spermatositlere kendi kendini çoğaltan RNA taşıyarak, Dmc1 gen nakavtlı fare modelinde Dmc1 proteinini etkin şekilde üretilmesini ve böylece spermatogenezisin yeniden şekillenmesini sağlamıştır.	Du & ark. (2023)
Fibroin nanoparçacıkla kapsüllenmiş katyonik lipit kompleksi (Fibroplex)	Fibroplex, PIN1 proteinini doğrudan testis hücrelerine ileterek, spermatogenezisi kurtarıp BTB bütünlüğünü koruyarak PIN1 nakavt farelerde fertilitiyi geri kazandırmıştır. Bu yaklaşım, gen terapisiyle ilişkili riskler olmaksızın spermatogonial hücre proliferasyonunu etkili bir şekilde teşvik etmektedir.	Kim & ark. (2020)
Kitosan içinde bulunan C vitamini ve E vitamini nanoparçacıkları	Erkek ratlarda sisplatin kaynaklı üreme toksisitesini, ağırlığı, T seviyelerini ve testis histolojisini geri kazandırarak azaltmıştır. Tedavi, testis atrofisini tersine çevirmiş ve sisplatine maruz kalmanın ardından sperma kalitesini iyileştirerek kanser hastaları için potansiyel bir terapötik strateji olduğunu göstermiştir.	Rauf & ark. (2021)

Tablo 1. (Devamı)

NP Türü	Ana Bulgular	Referans
Carica papaya tohumlarından MCP I ile konjuge edilmiş altın nanoparçacıkları (AuNP)	AuNP-MCP I, erkek ratlarda kontraseptif etkiler göstermiş ve 30 gün sonra tam sterilite sağlamıştır.	Mohammad (2019)
Kurkumin yüklü demir oksit NP'leri	Skrotal hipertermiye maruz bırakılan farelerde testis hacmini, seminifer tübül uzunluğunu, sperma parametrelerini ve testosteron seviyelerini artırarak spermatogenezisi iyileştirmiştir.	Afshar & ark. (2021)
Ferritin-nanokapsüllü ATP	Kan-testis bariyerini geçerek spermatozoa başlarında birikmiş ve gossipol kaynaklı asthenozoospermia fare modelinde sperm motilitesini iyileştirmiştir.	Pang & ark. (2022)
Antiretroviral ilaç yüklü polimerik NP'ler	Bu NP'ler in vitro HIV-1 enfeksiyonunu inhibe etmiştir ve reseptöre özgü bağlanma sağlamak için polietilen glikol ekleyerek HIV rezervuarlarına hedeflemeyi artırabilir.	Ogunwuyi & ark. (2016)

NP'lerin sperm kalitesini ve işlevini artırmadaki rolü de araştırmaların odak noktası olmuştur. Kaleynikova & ark. (2022) Au NP'lerin deneysel hiperglisemi koşulları altında erkek üreme fonksiyonu üzerindeki etkilerini araştırmış ve bu materyallerin diyabetik modellerde sperma parametrelerini potansiyel olarak iyileştirebileceğini göstermiştir. Bu tür bulgular, NP'lerin metabolik bozukluklarla ilişkili üreme işlev

bozukluklarını ele almak için terapötik yollar sunabileceğini düşündürmektedir.

NP'leri erkek üreme sistemi içinde çeşitli alanlarda tedavi amaçlı kullanmak mümkündür. Halihazırda kullanılan yaklaşımlara ek olarak, bu sistemlerin geliştirilmesi umut verici tedavilerin önünü açmıştır. NP'ler, olası HIV tedavileri (Ogunwuyi & ark., 2016), epididimo-orşit benzeri enflamatuvar durumlar (Y. Li & ark., 2022)i androjen organlarda gelişen kanserlerin erken teşhisi (Harisinghani & ark., 2005; Vassal, Rebelo, & Pereira, 2021), kimyasal doğum kontrol yöntemleri (Mohammad, 2019; Thukral & ark., 2024), genetik hastalıklarla mücadelede gen tedavisi (Fraser & ark., 2021), azoospermi (Vatanpour & ark., 2024), çeşitli faktörlerin neden olduğu infertilite ve kanser tedavisi veya doğrudan kanser tedavisi amacıyla kullanılan kemoterapötiklerin yıkıcı etkilerinin hafifletilmesi (Bhattacharya & Majumdar nee Paul, 2023; Rauf & ark., 2021; L. Zhang & ark., 2014) gibi amaçlarla kullanılabilir.

İn vivo tedavi yöntemlerine ek olarak, NP'ler yardımcı üreme teknikleri (ART) bağlamında in vitro olarak da kullanılmaktadır. İn vitro fertilizasyon (IVF), in vitro olgunlaşma veya intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulamaları (Barkalina & ark., 2014), özellikle sperm seçimi ile ilgili olarak (Bisiau & ark., 2024), gonad hücrelerinin kriyoprezervasyonu, semenin saflaştırılması ve ayrılması (Feugang, 2017; Paul & ark., 2022) ve spermada cinsiyet ayrımı (Domínguez & ark., 2018) ile ilgili olarak giderek yaygınlaşmaktadır. Spermanın kriyoprezervasyonu sırasında, dondurma-çözme işlemleri sırasında oluşabilecek ROS veya lipid peroksidasyonuna karşı antioksidanların spermada kullanımında nanoteknolojiden yararlanılmaktadır. Ayrıca soğuk şokunu azaltmak için çeşitli kaynaklardan elde edilen lesitin nano boyutlu formları kullanılmaktadır (Koca, 2023; Öztürk & Omur, 2022). Birçok araştırmacı, spermanın

dondurulması sürecinde, özellikle antimikrobiyal ve antioksidan aktivite açısından çeşitli NP'lerin kullanımının olumlu sonuçlar verdiğini bildirmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Bazı NP'lerin farklı hayvan türleri için sperma sulandırıcılarda kullanımı

Referans	Hayvan Türü	NP Malzemesi	Ana Bulgular
M. S. Yousef & ark. (2021)	Boğa	Gümüş-Karbon	Sperma sulandırıcılarında antimikrobiyal amaçlar için kullanılabileceği, ancak yüksek dozlar zararlı etkilere yol açabildiği ve spermatozoa ultrastrüktüründe herhangi bir olumsuz etki oluşturmadığı belirtilmiştir.
Jahanbin & ark. (2021)	Boğa	Çinko	Plazma membran bütünlüğünü ve mitokondriyal membran potansiyeli iyileştirmiş, Malondialdehit (MDA) seviyelerini azaltmış; ancak motilite, canlılık, DNA fragmantasyonu veya gebelik oranları üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır.
Khalil & ark. (2019)	Boğa	Selenyum	Sperm kalitesini ve canlılığını iyileştirdiği, apoptozisi ve lipid peroksidasyonu azalttığı, kriyoprezervasyon kaynaklı hasarı hafiflettiği, in vivo doğurganlık oranlarını artırdığı belirtilmiştir.

Tablo 2. (Devamı)

Referans	Hayvan Türü	NP Malzemesi	Ana Bulgular
Jahanbin & ark. (2015)	Boğa	Çinko	Plazma membran fonksiyonelliğini ve mitokondriyal aktiviteyi doz bağımlı olarak arttırmıştır, motilite parametreleri üzerinde zararlı bir etkisi gözlenmemiştir.
Fadl & ark. (2022)	Koç	Çinko Oksit	Sperm motilitesini, canlılığını, akrozom bütünlüğünü, membran bütünlüğünü ve antioksidan seviyelerini iyileştirmiştir.
Güngör & ark. (2021)	Koç	Karbon 60 Fulleren	Motiliteyi ve HOST değerlerini arttırdığı, ölü sperm sayısını azalttığı, MDA seviyelerini düşürdüğü, glutasyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir.
Falchi & ark. (2018)	Koç	Seryum Dioksit	Spermanın kısa süreli saklanması için motilite ve membran bütünlüğü gibi kinetik ve morfolojik parametrelerde faydalı etkiler gösterdiği, genotoksik olmadığı, ancak antioksidan aktivite gözlenmediği belirtilmiştir.

Tablo 3. (Devamı)

Referans	Hayvan Türü	NP Malzemesi	Ana Bulgular
Ismail & ark. (2020)	Teke	Nane, Kekik ve Kurkumin Nanosıvıları	Motiliteyi, canlılığı ve plazma membran bütünlüğünü hem ekilibrasyon hem de çözüm sonunda iyileştirdiği, apoptozisi, MDA seviyelerini ve kromatin kondensasyonunu azalttığı; antioksidan kapasiteyi ve CAT aktivitesini artırdığı gözlenmiştir. En iyi sonuçları Kurkumin göstermiştir.
Nadri & ark. (2019)	Teke	Lesitin	Daha yüksek motilite, canlılık ve HOST değerleri gösterdiği, apoptozisi azalttığı ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IVF sonuçlarında bölünme veya blastokist oranlarında anlamlı bir fark gözlemlenmediği belirtilmiştir.

NP'ler, sperma saflaştırma ve cinsiyet ayırma alanında geleneksel yöntemlere göre önemli avantajlar sunan dönüştürücü bir teknoloji olarak ortaya çıkmıştır. Sperma işlemede NP'lerin uygulanması, yüksek kaliteli spermatozoa seçimini artırmakta, böylece suni tohumlamanın verimliliğini ve çiftlik hayvanlarında genel üreme başarısını iyileştirmektedir.

NP'lerin sperma pürifikasyonundaki temel avantajlarından biri, motil spermatozoayı seminal plazma ve diğer artık maddelerden seçici bir şekilde izole edebilme

yetenekleridir. Araştırmacılar, hasarlı spermatozoayı verimli bir şekilde hedefleyip uzaklaştırmak için manyetik nano-seçimin avantajlarını vurgulamışlardır, bu da sperma örneklerini yüksek motiliteye sahip, canlı ve verimli spermatozoa ile hızlı ve kolay bir şekilde zenginleştirmeyi mümkün kılmaktadır. Bu teknik, özellikle sıcaklık stresi gibi zorlayıcı dönemlerde anormal spermatozoayı uzaklaştırarak erkek fertilitasını iyileştirme konusunda umut vaat etmektedir (Durfey & ark., 2019). Benzer şekilde, Rateb (2020), lektin ile fonksiyonelleştirilmiş manyetik nanopartiküllerin (MNP'ler) hasarlı spermatozoaları hedeflemedeki etkinliğini göstererek ve bu yöntemi geleneksel pürifikasyon yöntemlerine alternatif olabileceğini belirtmiştir. Bu yaklaşım, yalnızca canlı spermatozoa verimini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda geleneksel pürifikasyon teknikleriyle ilişkilendirilen oksidatif stresi de azaltmaktadır (Lone, 2016).

Ayrıca, NP'lerin eklenmesinin sperma motilitesi ve canlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir. Orzolek & ark. (2021), çinko ve manganez NP'lerinin nano-koruyucu olarak hareket ettiğini ve kısa süreli saklanan hindi spermalarının motilitesini artırdığını belirtmiştir. Ayrıca, Alemdar ve Tirpan (2023), dondurulmuş teke spermasının pürifikasyonunda NP'lerin kullanımının, fertilitate ile ilişkili parametreleri iyileştirdiğini ve NP uygulaması ile üreme sonuçları arasında doğrudan bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Cinsiyet ayırma bağlamında, NP'ler X ve Y kromozomu taşıyan spermatozoanın ayırt edilmesini kolaylaştırabilir. Örneğin, Mancini (2015), lazerle üretilen Au NP biyokonjugatlarıyla belirli genetik dizileri tespit ederek spermatozoa genlerini hedef alan yeni bir yöntem sunmuştur. Çalışması, triplex hibridizasyonun, Y kromozomundaki benzersiz bağlanma bölgelerini kullanan bir teknik, sığırlarda Y kromozomu taşıyan spermatozoayı tanımlamada yardımcı olabileceğini öne sürmüştür. Bir araştırma grubu, MNP'lerin eşek spermasında X ve Y kromozomu taşıyan spermatozoanın

ayrılmasında potansiyelini incelemiştir. Çalışmada, spermanın negatif yüklü manyetik mikrokürelerle (yaklaşık 50 nm) karıştırılması ve inkübasyonun ardından X veya Y kromozomu taşıyan spermatozoayı Zeta potansiyelindeki farklara dayanarak ayırmak için 20 dakika boyunca manyetik alan uygulanmıştır. Y kromozomu taşıyan spermatozoanın -16 mV Zeta potansiyeline sahip olduğunu, X kromozomu taşıyan spermatozoanın -20 mV Zeta potansiyeline sahip olduğunu gözlemlemişlerdir (Domínguez & ark., 2018). Bu Zeta potansiyelindeki fark, Y kromozomu taşıyan spermatozoanın MNP'lere bağlanma eğilimlerini arttırmaktadır. Manyetik kuvvet uygulandığında, Y kromozomu taşıyan spermatozoa tüpün duvarına yapışırken, X kromozomu taşıyan spermatozoa askıda kalmakta ve bu da onların toplamasını kolaylaştırmaktadır. Bu yöntem, X kromozomu taşıyan spermatozoanın pürifikasyonunda %90 verimlilik gösterirken, spermatozoa canlılık, motilite ve kromatin bütünlüğü gibi parametreleri etkilememiştir. Eşekler üzerinde yapılan ilk testler, bu teknikte %80 gebelik başarı oranı elde edilmesini sağlamış ve ultrasonla yapılan kontrollerde gebeliklerin %95'inin dişi olduğu tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, Moradi & ark. (2021), 50, 100 ve 200 µg/ml MNP'ler kullanarak koç sperması üzerinde yaptıkları çalışmada, PCR ile 50 µg/ml MNP'lerin X kromozomlarını ayırmada en etkili grup olduğunu doğrulamışlardır. Ayrıca, araştırmacılar bu dozajın sperma canlılığı veya DNA bütünlüğü üzerinde olumsuz bir etki yapmadığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışmanın bir devamı olarak, sperma dondurulmuş ve 50 µg/ml MNP grubunun çözüm sonu durumu incelenmiştir. Bulgular, MNP'ler ile önceden tedavi edilen spermanın çözüm sonu canlılık, membran fonksiyonu, anormallikler, lipid peroksidasyonu ve DNA bütünlüğü parametrelerinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tutarlı kaldığını göstermiştir.

5. NP'lerin Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Olumsuz Etkileri

NP'ler, umut verici sonuçlarla birçok alanda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, NP'lerin giderek daha fazla endüstride kullanılması ve üretimlerinin artması ile bunlara maruziyetin yükselmesi dikkat edilmesi gereken bir konudur. Terapötik amaçlarla geliştirilen sentetik NP'ler, biyolojik bariyerleri aşma ve ilaçları istenilen yere ulaştırma kapasitesine sahiptir. Ancak, bu NP'lere önemli derecede maruziyet olasılığı, bu materyallerin vücutta biyolojik birikim veya olumsuz etkiler oluşturma potansiyeli ile ilgili endişelere yol açmıştır. Yakın zamanda yapılan bir araştırma, dört insanın penisinde 20 ile 500 µm arasında genişliklere sahip mikropplastiklerin tespit edildiğini bildirmiştir (Codrington & ark., 2024). NP'lerin erkek üreme sistemi üzerindeki potansiyel toksik etkileri, özellikle erkek üreme sağlığını bozma potansiyelleri nedeniyle araştırmaların odak konusu olmuştur.

Çeşitli çalışmalar, çinko oksit (ZnO), gümüş, TiO₂ ve demir oksit (Fe₂O₃) gibi farklı NP türlerine maruz kalmanın, testis yapısı ve fonksiyonunda zararlı değişikliklere yol açabileceğini göstermiştir. ZnO NP'lerin, testis yapısını ve spermatogenezisi olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Araştırmalar, ZnO NP'lerinin, hem ebeveyn hem de yavru erkek ratlarda testis ve epididimis gibi üreme organlarının ağırlıklarında azalmaya neden olabileceğini ve bunun erkek üreme organları üzerinde toksik bir etkiye işaret ettiğini göstermektedir (Hong & ark., 2022). Ayrıca, bu NP'ler, testis lezyonları, spermatozoa anormallikleri ve normal üreme fonksiyonu için kritik öneme sahip olan serum cinsiyet hormon düzeylerinde değişikliklerle ilişkilendirilmiştir (Tang & ark., 2019). Histopatolojik değerlendirmeler, ZnO NP'lerinin BTB'yi geçebileceğini ve germ hücrelerinde önemli zararlara yol açabileceğini ortaya koymuştur (Mozaffari & ark., 2015). Ayrıca, Ag NP'leri, sperma kalitesinde azalma, spermatozoa

anormalliklerinde artış ve germ hücrelerinde apoptozis ile ilişkilendirilmiş olup, bu da onların toksik potansiyelini daha da vurgulamaktadır (Gromadzka-Ostrowska & ark., 2012). Ek olarak, manyetit NP'lerinin testis dokusunda birikimi doğrulanmış ve maruziyet ile üreme toksisitesi arasında doğrudan bir bağlantı olduğu belirtilmiştir (Gamal & ark., 2022).

TiO₂ NP'lerin de testis toksisitesinde rol oynadığı belirtilmiştir. Araştırmalar, TiO₂ NP'lerinin oksidatif stres ve inflamasyona yol açarak spermatogenezisin bozulmasına ve T düzeylerinin azalmasına neden olabileceğini göstermiştir (Miura & ark., 2017; Orazizadeh & ark., 2014). Toksikite mekanizmasının, testis fonksiyonunun korunmasında kritik rol oynayan Leydig ve Sertoli hücrelerinde hücrel sinyalizasyon ve metabolik süreçlerin bozulmasını içerdiği düşünülmektedir (Scalisi & ark., 2023). Ayrıca, TiO₂ NP'lerinin testis dokusunda, germ hücre katmanlarının düzensizleşmesi ve apoptozisin artması gibi önemli histolojik değişikliklere yol açtığı tespit edilmiştir (Miura & ark., 2019). Benzer şekilde, Fe₂O₃ NP'leri de erkek üreme sistemi üzerinde olumsuz etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmalar, bu NP'lere maruz kalmanın oksidatif stres, hormonal dengesizlikler ve spermatozoada morfolojik anormalliklere yol açabileceğini ortaya koymuştur (Adebayo, Akinloye, & Adaramoye, 2017). Fe₂O₃ NP'lerine maruz kalmanın ardından testis dokularında gözlenen histopatolojik değişiklikler arasında seminifer tübüllerin dejenerasyonu ve oksidatif stres göstergesi olarak MDA düzeylerinin artması bulunmaktadır (Gamal & ark., 2022).

Genel olarak, bu NP'lerin neden olduğu histopatolojik hasar, orta ila şiddetli tübüler vakuolizasyon, dejenerasyon, atrofi ve dejeneratif/apoptotik germ ve somatik hücreler içeren tübüllerde nekroz, germ hücre katmanlarının düzensizleşmesi ile germ hücrelerinin seminifer tübüllerin lümenine dökülmesi ve kaybı şeklinde kendini göstermiştir. Bu değişiklikler, reaktif

oksijen türleri (ROS) seviyelerinin artması ve süperoksit dismutaz (SOD), CAT, GPx ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin seviyelerinin azalmasını içermektedir. Ayrıca, lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu (protein karbonil içeriği) ve DNA hasarı düzeylerinde de artış gözlemlenmiştir (M. R. Souza, Mazaro-Costa, & Rocha, 2021).

NP'lere in vivo maruz kalmanın indüklediği oksidatif stres, testiküler somatik ve germ hücrelerinde genotoksisite, enflamatuvar reaksiyonlar, biyokimyasal disfonksiyonlar, mitokondriyal hasar ve nihayetinde apoptozise neden olmaktadır (Y. Liu & ark., 2013). Bu etkiler, NP'lerin hücre yapılarıyla doğrudan etkileşimi veya dolaylı olarak oksidatif stresi teşvik etmesiyle meydana gelmektedir. Souza, Mazaro-Costa & Rocha (2021), NP'lerin erkek üremesi üzerindeki etkilerine dair 56 bilimsel makaleyi değerlendirdikleri çalışmalarında, hücrelerdeki genotoksik etkiler arasında gen ekspresyonunda değişiklikler (%64), DNA hasarı (%21), epigenetik (%4) ve mutajenik (%2) değişiklikler rapor edilmiştir. Ayrıca, gen ekspresyonundaki değişiklikler tekrar gözlemlenmiş olup, Leydig hücreleri tarafından T biyosentezinin düzenlenmesinde (%25), Sertoli hücreleri tarafından BTB bütünlüğünde (%16) ve germ hücreleri tarafından spermatogeneziste (%25) rol oynayan enzimleri kodlayan genlerde değişiklikler görülmüştür.

NP'lerin hipofiz ve hipotalamus üzerinde baskılayıcı etki göstererek salgılanan hormon seviyelerini etkileyebileceği ve bunun sonucunda follikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salgısının azalmasına ve dolayısıyla T seviyelerinde bir düşüşe yol açabileceği belirtilmiştir. FSH seviyelerindeki azalma, testiküler hasarı daha da kötüleştirirken, T seviyelerinin germ hücrelerinin tükenmesini ve spermatogenezisin düzeyini yansıttığı bilinmektedir. Nikel NP'lerine maruz kalmanın FSH ve T seviyelerinde bir düşüşe neden olduğu ve bunun da testis hasarının gelişimine yol açtığı tespit edilmiştir (Kong & ark., 2014). Ayrıca, Au NP'lerinin

intraperitoneal olarak 25, 50 ve 100 ppm konsantrasyonlarında uygulanmasının erkek ratlarda T seviyelerinde belirgin bir artışa yol açtığı gösterilmiştir. Au NP'lerine 10 gün boyunca maruz kalan erkek ratlarda infertilite artışı ile birlikte LH ve FSH seviyelerinde de önemli bir artış gözlemlenmiştir (Iftikhar & ark., 2021). Düşük dozda Ag NP'lerinin (1 mg/kg/doz) intravenöz uygulaması, neonatal farelerin kan serumunda T seviyelerini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (XF. Zhang, Gurunathan, & Kim, 2015). Bundan farklı olarak, prepubertal erkek Wistar ratlarında Ag NP'lerinin 15 ve 30 µg/kg dozlarında uygulanması, FSH, LH ve T seviyelerinde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır (Mathias & ark., 2015). Ek olarak, Wistar erkek albino ratlarına 75 gün boyunca Al₂O₃ NP'leri ve ZnO NP'lerinin oral uygulanması, TSH ve T seviyelerinde bir düşüşe ve sırasıyla LH ve FSH seviyelerinde bir artışa yol açmıştır (M. Yousef, Al-Hamadani, & Kamel, 2019).

Yapılan bir meta-analiz, spermatozoanın organik, inorganik ve karbon bazlı olanlar dahil 13 farklı NP türüne maruz bırakılması durumunda, Ag, Au, CeO₂ ve TiO₂ NP'leri gibi bazı NP'lerin spermatozoanın plazma membranı, baş, orta ve kuyruk kısımlarında biriktiğini belirtmiştir (M. R. Souza, Mazaro-Costa, & Rocha, 2021). Öropidyum(III) oksit NP'leri ve polivinil alkol (PVA) ile yüzey modifikasyonu yapılmış PVA-Fe₃O₄ NP'leri gibi diğer NP'lerin ise plazma membranını geçerek sitoplazma, sitoskeleton, çekirdek ve mitokondride birikebildiği gözlemlenmiştir (Makhluf & ark., 2008). Yüzey modifikasyonunu takiben, NP'ler üç ana mekanizma yoluyla sitotoksositeye neden olabilir: hücre yapılarıyla doğrudan etkileşime girerek, materyalin çözünmesi ile ve oksidatif strese yol açabilen ROS üretimi yoluyla. Bu son mekanizma, NP toksisitesinin birincil mekanizması olarak kabul edilmektedir ((Boyes & van Thriel, 2020). Spermatozoanın NP'lere maruz kalması, LPO, protein oksidasyonu, DNA hasarı ve apoptozise neden olan oksidatif hasarın ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.

Ag NP'leri ve çok duvarlı karbon nanotüplerin uygulanması, ROS üretiminde artışa, SOD, glutatyon ve GPx gibi antioksidan savunma sistemlerinde azalmaya, boğa spermatozoasının plazma membranı bütünlüğü ve canlılığında düşüşe neden olmuştur. Ayrıca, LPO'nun indüklendiği gözlemlenmiştir (Sanand & ark., 2018). TiO₂ NP'lerinin intragastrik uygulanması ise erkek farelerde üreme toksisitesine yol açmıştır. TiO₂ NP'lerine maruz kalmanın, anormal spermatozoa sayısında artışa ve germ hücrelerinin sayısında eşzamanlı bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Song & ark., 2017).

Rodent türlerinin germ hücrelerinde Ag, SiO₂, TiO₂ ve ZnO NP'lerinin in vivo uygulanması, spermatogonia, spermatositler ve spermatidlerin çoğalması ve farklılaşmasına yol açmıştır. Buna ek olarak, hücre döngüsü, mayoz (Sohlhl1, siklin A1, CDK1, CDK2, siklin B), spermatozoa olgunlaşması (Adam3, Prm1, Spata19, Tnp) ve sperma kalitesiyle (DDx3Y, E1F1AY) ilişkili genler inhibe edilmiştir. Bu bulgular, NP'lerin hücre döngüsünde duraklama ve spermatogenezisin bozulmasını indükleyerek bu NP'lere maruz kalan memelilerde testis histolojisi ve sperm kalitesindeki değişikliklerin altında yatan neden olabileceğini göstermektedir (M. R. Souza, Mazaro-Costa, & Rocha, 2021).

Bazı NP'ler, germ hücrelerinde kalıcı DNA değişiklikleri indükleyebilmiş, bu da çeşitli hastalıkların gelişimine ve ilerlemesine yol açma potansiyeline sahip mutajenik ve epigenetik değişikliklere neden olabilmektedir. Bu durum yalnızca yavruların gelişimini değil, aynı zamanda sonraki nesilleri de etkileyebilir (Donkin & Barrès, 2018). Örneğin, farelere intraperitoneal olarak Au NP'lerinin uygulanmasından 14 gün sonra yuvarlak spermatid popülasyonunda kromozomal anormallik sıklığında artış gözlemlenmiştir (Zakhidov & ark., 2012).

Sonuç

Nanopartiküllerin kullanım alanları ve kullanım sıklığı gün geçtikçe genişlemektedir. Bu her ne kadar teknolojik anlamda iyi bir gelişme olsa da insanların ve hayvanların her geçen gün nanopartiküllere maruz kalma seviyesini arttırmaktadır. Günümüzde özellikle insanlarda infertilite ciddi bir sorun teşkil ettiği için, nanopartiküllerin erkek üremesi üzerine öngörülemez etkisi çoğu araştırmacının ilgisini çekmiştir. Nanopartiküllere in vivo maruziyetin partikül çeşidi, boyutu ve yüzey modifikasyonları gibi özelliklere göre değişiklik göstermekle birlikte erkek üreme sistemi üzerine ciddi toksik etkileri olduğuna dair birçok bulgu mevcuttur. Bunun yanı sıra, nanopartiküllerin yardımcı üreme tekniklerinde in vitro kullanımı oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. In vivo kullanımı özellikle HIV gibi cinsel yolla bulaşan ve eradikasyonu zor olan hastalıklar açısından araştırılmaya açıktır. Ayrıca erkek üreme sistemlerinde oluşabilecek birçok hastalık ve infertilite gibi sorunların teşhis ve tedavisinde nanopartiküllerin kullanımı oldukça etkileyicidir. Dahası spermatozoanın cinsiyet kromozomlarına göre ayrımı için yapılan çalışmaların, mevcut üretimde flow sitometri kullanılarak yapılan cinsiyet ayrımına göre maliyetinin daha az olması ve spermanın uğradığı işlemler düşünüldüğünde ümit verici olarak görülmektedir. Nanopartiküllerin sperma sulandırıcılarda antioksidan amaçla kullanımı, çözüm sonu spermatolojik parametrelere uygun dozla kullanımı ile birlikte oldukça olumlu etkilere sahiptir. Sonuç olarak nanopartiküllerin kullanımı, veriliş yolu, nanopartikül çeşidi, partikül boyutu, maruz kalma süresi gibi değişkenlere bağlı olarak hem olumlu hem olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Bu bağlamda nanopartiküllerin erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin iki yönlü olarak ele alınması ve değerlendirmelerin bu durum gözetilerek yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Kaynaklar

Adebayo, O. A., Akinloye, O., & Adaramoye, O. A. (2017). Cerium Oxide Nanoparticle Elicits Oxidative Stress, Endocrine Imbalance and Lowers Sperm Characteristics in Testes of Balb/C Mice. *Andrologia*, 50(3), e12920. doi:10.1111/and.12920

Afshar, A., Aliaghaei, A., Nazarian, H., Abbaszadeh, H.-A., Naserzadeh, P., Fathabadi, F. F., Abdi, S., Raei, P., Aghajani, F., & Norouzi, M. (2021). Curcumin-loaded iron particle improvement of spermatogenesis in azoospermic mouse induced by long-term scrotal hyperthermia. *Reproductive Sciences*, 28, 371-380.

Agrawal, S., & Rathore, P. (2014). Nanotechnology pros and cons to agriculture: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 43-55.

Alemdar, H., & Tirpan, M. B. (2023). A Novel Approach to Sperm Selection: Nanoparticle-Based Purification Improves Quality of Angora Cryopreserved Buck's Semen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(4), 4881-4890. doi:10.12681/jhvms.28206

Álvarez-Chimal, R. (2023). Green Synthesis of Nanoparticles: A Biological Approach. In *Advances in Green Chemistry: Scientific Research*.

Arularasu, M. V., Anbarasu, M., Poovaragan, S., Sundaram, R., Kanimozhi, K., Magdalane, C. M., Kaviyarasu, K., Thema, F. T., Letsholathebe, D., Mola, G. T., & Maaza, M. (2018). Structural, Optical, Morphological and Microbial Studies on SnO₂ Nanoparticles Prepared by Co-Precipitation Method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(5), 3511-3517. doi:10.1166/jnn.2018.14658

Arvidsson, R., Molander, S., Sandén, B. A., & Hassellöv, M. (2011). Challenges in Exposure Modeling of Nanoparticles in Aquatic Environments. *Human and Ecological Risk Assessment an International Journal*, 17(1), 245-262. doi:10.1080/10807039.2011.538639

Bai, Y., Zhang, Y., Zhang, J., Mu, Q., Zhang, W., Butch, E. R., Snyder, S. E., & Yan, B. (2010). Repeated Administrations of Carbon Nanotubes in Male Mice Cause Reversible Testis Damage Without Affecting Fertility. *Nature Physics*, 5(9), 683-689. doi:10.1038/nnano.2010.153

Barkalina, N., Charalambous, C., Jones, C., & Coward, K. (2014). Nanotechnology in reproductive medicine: emerging applications of nanomaterials. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(5), e921-e938.

Bekheet, S. H. (2010). Cadmium Chloride Rapidly Alters Both BTB Tight Junction Proteins and Germ Cells in Young Rat Testes. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences B Zoology*, 2(1), 59-64. doi:10.21608/eajbsz.2010.15916

Bhattacharya, S., & Majumdar nee Paul, S. (2023). Application of conventional metallic nanoparticles on male reproductive system—challenges and countermeasures. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 69(1), 32-49.

Bhatti, R., Shakeel, H., Malik, K., Qasim, M., Khan, M., Ahmed, N., & Jabeen, S. (2021). Inorganic Nanoparticles: Toxic Effects, Mechanisms of Cytotoxicity and Phytochemical Interactions. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. doi:10.34172/apb.2022.077

Bisiau, C., Moffett, P., Graham, J., & McCue, P. (2024). Comparison of Nanoparticles and Single-Layer Centrifugation for Separation of Dead from Live Stallion Spermatozoa. *Veterinary Sciences*, 11(7), 307.

Blanco, E., Shen, H., & Ferrari, M. (2015). Principles of Nanoparticle Design for Overcoming Biological Barriers to Drug Delivery. *Nature Biotechnology*, 33(9), 941-951. doi:10.1038/nbt.3330

Boyes, W. K., & van Thriel, C. (2020). Neurotoxicology of nanomaterials. *Chemical research in toxicology*, 33(5), 1121-1144.

Çelebioğlu, H. U., İmamoğlu, R., & Taş, R. (2021). *Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles Using Trachystemon Orientalis L. And Their Antibacterial Activities*. Paper presented at the 13th International Conference on Nanomaterials - Research & Application, Orea Congress Hotel Brno, Czech Republic, EU.

Codrington, J., Varnum, A. A., Hildebrandt, L., Pröfrock, D., Bidhan, J., Khodamoradi, K., Höhme, A.-L., Held, M., Evans, A., Velasquez, D., Yarborough, C. C., Ghane-Motlagh, B., Agarwal, A., Achua, J., Pozzi, E., Mesquita, F., Petrella, F., Miller, D., & Ramasamy, R. (2024). Detection of microplastics in the human penis. *International Journal of Impotence Research*. doi:10.1038/s41443-024-00930-6

Cormode, D. P., Naha, P. C., & Fayad, Z. A. (2014). Nanoparticle contrast agents for computed tomography: a focus on micelles. *Contrast media & molecular imaging*, 9(1), 37-52.

Deng, Y., Meng, X., Ling, C., Lu, T., Chang, H., Li, L., Yang, Y., Song, G., & Ding, Y. (2022). Nanosized Titanium Dioxide Induced Apoptosis and Abnormal Expression of Blood-Testis Barrier Junction Proteins Through JNK Signaling Pathway in TM4 Cells. *Biological Trace Element Research*, 200(12), 5172-5187. doi:10.1007/s12011-022-03099-5

Domínguez, E., Moreno-Irusta, A., Castex, H. R., Bragulat, A. F., Ugaz, C., Clemente, H., Giojalas, L., & Losinno, L. (2018). Sperm sexing mediated by magnetic nanoparticles in

donkeys, a preliminary in vitro study. *Journal of Equine Veterinary Science*, 65, 123-127.

Donkin, I., & Barrès, R. (2018). Sperm epigenetics and influence of environmental factors. *Molecular Metabolism*, 14, 1-11. doi:10.1016/j.molmet.2018.02.006

Du, S., Li, W., Zhang, Y., Xue, Y., Hou, X., Yan, J., Cheng, J., Deng, B., McComb, D. W., & Lin, J. (2023). Cholesterol-Amino-Phosphate (CAP) Derived Lipid Nanoparticles for Delivery of Self-Amplifying RNA and Restoration of Spermatogenesis in Infertile Mice. *Advanced science*, 10(11), 2300188.

Durán, N., Nakazato, G., & Seabra, A. B. (2016). Antimicrobial Activity of Biogenic Silver Nanoparticles, and Silver Chloride Nanoparticles: An Overview and Comments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(15), 6555-6570. doi:10.1007/s00253-016-7657-7

Durfey, C. L., Swistek, S. E., Liao, S. F., Crenshaw, M. A., Clemente, H. J., Thirumalai, R., Steadman, C. S., Ryan, P. L., Willard, S. T., & Feugang, J. M. (2019). Nanotechnology-based approach for safer enrichment of semen with best spermatozoa. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10, 14. doi:10.1186/s40104-018-0307-4

Dzido, G., Markowski, P., Małachowska-Jutcz, A., Prusik, K., & Jarzębski, A. B. (2015). Rapid Continuous Microwave-Assisted Synthesis of Silver Nanoparticles to Achieve Very High Productivity and Full Yield: From Mechanistic Study to Optimal Fabrication Strategy. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(1). doi:10.1007/s11051-014-2843-y

Ealia, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). *A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application*. Paper presented at the IOP conference series: materials science and engineering.

Ercan, F., & Elmas, M. A. (2022). The Alterations of Blood-Testis Barrier in Experimental Testicular Injury Models. *Marmara Medical Journal*. doi:10.5472/marumj.1114971

Fadl, A., Abdelnaby, E., El-seadawy, I., Kotp, M., El-Maaty, A. M. A., & El-Sherbiny, H. (2022). Eco-friendly synthesized zinc oxide nanoparticles improved frozen-thawed semen quality and antioxidant capacity of Rams. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 12(3), 259-264.

Falchi, L., Galleri, G., Dore, G. M., Zedda, M. T., Pau, S., Bogliolo, L., Ariu, F., Pinna, A., Nieddu, S., Innocenzi, P., & Ledda, S. (2018). Effect of exposure to CeO(2) nanoparticles on ram spermatozoa during storage at 4 °C for 96 hours. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 19. doi:10.1186/s12958-018-0339-9

Fernández-Pampín, N., Plaza, J. J. G., García, A., Peña, E., Rumbo, C., Barros, R., Martel-Martín, S., Aparício, S., & Tamayo-Ramos, J. A. (2022). Toxicology Assessment of Manganese Oxide Nanomaterials With Enhanced Electrochemical Properties Using Human *in Vitro* Models Representing Different Exposure Routes. *Scientific Reports*, 12(20991). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-022-25483-w>

Feugang, J. M. (2017). Novel agents for sperm purification, sorting, and imaging. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 832-841.

Filon, F. L., Bello, D., Cherrie, J. W., Sleenwenhoek, A., Spaan, S., & Brouwer, D. H. (2016). Occupational Dermal Exposure to Nanoparticles and Nano-Enabled Products: Part I—Factors Affecting Skin Absorption. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 536-544. doi:10.1016/j.ijheh.2016.05.009

Fraser, B., Peters, A. E., Sutherland, J. M., Liang, M., Rebourcet, D., Nixon, B., & Aitken, R. J. (2021). Biocompatible nanomaterials as an emerging technology in reproductive health; a focus on the male. *Frontiers in physiology*, 12, 753686.

Gamal, A., Kortam, L. E., Ghareeb, A., & Heba Ali Abd El, R. (2022). Assessment of the Potential Toxic Effect of Magnetite Nanoparticles on the Male Reproductive System Based on Immunological and Molecular Studies. *Andrologia*, 54(11). doi:10.1111/and.14613

Goetz, N. v., Lorenz, C., Windler, L., Nowack, B., Heuberger, M., & Hungerbühler, K. (2013). Migration of Ag-And TiO_2 -(Nano)particles From Textiles Into Artificial Sweat Under Physical Stress: Experiments and Exposure Modeling. *Environmental Science & Technology*, 47(17), 9979-9987. doi:10.1021/es304329w

Gromadzka-Ostrowska, J., Dziendzikowska, K., Lankoff, A., Dobrzyńska, M. M., Instanes, C., Brunborg, G., Gajowik, A., Radzikowska, J., Wojewódzka, M., & Kruszewski, M. (2012). Silver Nanoparticles Effects on Epididymal Sperm in Rats. *Toxicology Letters*, 214(3), 251-258. doi:10.1016/j.toxlet.2012.08.028

Güngör, İ., Cinkara, S., Acisu, T., Arkali, G., Koca, R., Akarsu, S., Can, C., Kaya, Ş., Kizil, M., Çakır, A., Fırat, F., Halıcı, M., Yılmaz, İ., Badıllı, N., Yüce, A., Gür, S., Sönmez, M., & Türk, G. (2021). Effect of Hydrated Carbon 60 Fullerene on Frozen Ram Semen Quality. *Biopreservation and Biobanking*, 20. doi:10.1089/bio.2021.0001

Harisinghani, M. G., Saksena, M., Ross, R. W., Tabatabaei, S., Dahl, D., McDougal, S., & Weissleder, R. (2005). A pilot study of lymphotrophic nanoparticle-enhanced magnetic resonance imaging technique in early stage testicular

cancer: a new method for noninvasive lymph node evaluation. *Urology*, 66(5), 1066-1071.

Hebbalalu, D., Lalley, J., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2013). Greener Techniques for the Synthesis of Silver Nanoparticles Using Plant Extracts, Enzymes, Bacteria, Biodegradable Polymers, and Microwaves. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(7), 703-712. doi:10.1021/sc4000362

Hong, X., Shao, N., Yin, L., Li, C., Tao, G., Sun, Y., Qian, K., Yang, J., Xiao, P., Yu, X., & Zhou, Z. (2022). Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles Affects Testicular Structure, Reproductive Development and Spermatogenesis in Parental and Offspring Male Rats. *Annals of Translational Medicine*, 10(13), 751-751. doi:10.21037/atm-22-3047

Iftikhar, M., Noureen, A., Uzair, M., Jabeen, F., Abdel-Daim, M. M., & Cappello, T. (2021). Perspectives of Nanoparticles in Male Infertility: Evidence for Induced Abnormalities in Sperm Production. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1758. doi:10.3390/ijerph18041758

Ismail, A. A., Abdel-Khalek, A. E., Khalil, W. A., Yousif, A. I., Saadeldin, I. M., Abomughaid, M. M., & El-Harairy, M. A. (2020). Effects of mint, thyme, and curcumin extract nanoformulations on the sperm quality, apoptosis, chromatin decondensation, enzyme activity, and oxidative status of cryopreserved goat semen. *Cryobiology*, 97, 144-152. doi:10.1016/j.cryobiol.2020.09.002

Jahanbin, R., Yazdanshenas, P., Amin Afshar, M., Mohammadi Sangcheshmeh, A., Varnaseri, H., Chamani, M., Nazaran, M. H., & Bakhtiyarizadeh, M. R. (2015). Effect of zinc nano-complex on bull semen quality after freeze-thawing

process. *Animal Production*, 17(2), 371-380.
doi:10.22059/jap.2015.54040

Jahanbin, R., Yazdanshenas, P., Rahimi, M., Hajarizadeh, A., Tvrdá, E., Nazari, S. A., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., & Ghanem, N. (2021). In Vivo and In Vitro Evaluation of Bull Semen Processed with Zinc (Zn) Nanoparticles. *Biological Trace Element Research*, 199(1), 126-135. doi:10.1007/s12011-020-02153-4

James, M. M., Revia, R. A., Stephen, Z. R., & Zhang, M. (2020). Microfluidic Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(11), 2113. doi:10.3390/nano10112113

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.

Jia, J., Wang, Z., Yue, T., Su, G., Teng, C., & Yan, B. (2020). Crossing Biological Barriers by Engineered Nanoparticles. *Chemical research in toxicology*, 33(5), 1055-1060. doi:10.1021/acs.chemrestox.9b00483

John, P. J. (2023). Nanoparticle Toxicity May Cause Testicular Dysfunction. *Journal of Environmental Biology*, 44(2), i-iii. doi:10.22438/jeb/44/2/editorial

Kaleynikova, O., Ukrainska, S., Sribna, V., Velykyi, V., Vinogradova-Anyk, A., Tarasova, K., Lagodich, T., Karvatskiy, I., Voznesenska, T., & Blashkiv, T. (2022). Effect of gold nanocomposites treatment on male reproductive function under conditions of experimental hyperglycemia. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 11, 2083. doi:10.18203/2320-1770.ijrcog20221917

Khalil, W. A., El-Harairy, M. A., Zeidan, A. E. B., & Hassan, M. A. E. (2019). Impact of selenium nano-particles in semen extender on bull sperm quality after cryopreservation. *Theriogenology*, 126, 121-127. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.12.017

Khashan, K. S., Sulaiman, G. M., & Abdulameer, F. A. (2015). Synthesis and Antibacterial Activity of CuO Nanoparticles Suspension Induced by Laser Ablation in Liquid. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(1), 301-310. doi:10.1007/s13369-015-1733-7

Kim, W. J., Kim, B. S., Kim, H. J., Cho, Y. D., Shin, H. L., Yoon, H. I., Lee, Y. S., Baek, J.-H., Woo, K. M., & Ryoo, H.-M. (2020). Intratesticular peptidyl prolyl isomerase 1 protein delivery using cationic lipid-coated fibroin nanoparticle complexes rescues male infertility in mice. *ACS Nano Journal*, 14(10), 13217-13231.

Koca, R. (2023). The Positive Effects of In Vivo/In Vitro Supplementation of Nanoparticles on Semen. In A. Öztürk (Ed.), *Nanotechnology in Reproduction*. Gaziantep, Türkiye: Özgür Press.

Kong, L., Tang, M., Zhang, T., Wang, D., Hu, K., Lu, W., Wei, C., Liang, G., & Pu, Y. (2014). Nickel nanoparticles exposure and reproductive toxicity in healthy adult rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 21253-21269. doi:10.3390/ijms151121253

Kulthong, K., Srisung, S., Boonpavanitchakul, K., Kangwansupamonkon, W., & Maniratanachote, R. (2010). Determination of Silver Nanoparticle Release From Antibacterial Fabrics Into Artificial Sweat. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(1). doi:10.1186/1743-8977-7-8

Lan, Z., & Yang, W.-X. (2012). Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis

and penetrate the blood–testis barrier. *Nanomedicine*, 7(4), 579-596.

Leclerc, L., Klein, J.-P., Forest, V., Boudard, D., Martini, M., Pourchez, J., Blanchin, M. G., & Cottier, M. (2015). Testicular Biodistribution of Silica-Gold Nanoparticles After Intramuscular Injection in Mice. *Biomedical Microdevices*, 17(4). doi:10.1007/s10544-015-9968-3

Lee, J. H., Kim, Y. S., Song, K. S., Ryu, H. R., Sung, J. H., Park, J. D., Park, H. M., Song, N. W., Shin, B. S., Marshak, D. R., Ahn, K. H., Lee, J. E., & Yu, I. J. (2013). Biopersistence of Silver Nanoparticles in Tissues From Sprague–Dawley Rats. *Particle and Fibre Toxicology*, 10(1). doi:10.1186/1743-8977-10-36

Li, Y., Zeng, Q., Deng, H., Xiang, T., Qi, W., & Wu, D. (2022). Ameliorating effect of gold nanoparticles decorated on biodegradable apple pectin modified magnetic nanoparticles on epididymo-orchitis inducing alterations in sperm quality and spermatogenic cells apoptosis. *Inorganic Chemistry Communications*, 146, 110089.

Lie, P. P., Cheng, C. Y., & Mruk, D. D. (2013). Signalling Pathways Regulating the Blood–testis Barrier. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(3), 621-625. doi:10.1016/j.biocel.2012.12.009

Liu, X., Dingxia, Q., Cui, Y., Chen, L., Li, H., Chen, Z., Li, G., Li, Y., & Liu, J. (2010). The Effect of Calcium Phosphate Nanoparticles on Hormone Production and Apoptosis in Human Granulosa Cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(1), 32. doi:10.1186/1477-7827-8-32

Liu, Y., Zhao, Y., Sun, B., & Chen, C. (2013). Understanding the toxicity of carbon nanotubes. *Accounts of Chemical Research Journal*, 46(3), 702-713. doi:10.1021/ar300028m

Lone, F. A. (2016). Nanotechnology Based Semen Purification: A Panacea. *Veterinary Medicine - Open Journal*, 1(1), e1-e2. doi:10.17140/vmoj-1-e001

Lu, T., Ling, C., Hu, M., Meng, X., Deng, Y., An, H., Li, L., Hu, Y., Wang, H., & Song, G. (2021). Effect of nano-titanium dioxide on blood-testis barrier and MAPK signaling pathway in male mice. *Biological Trace Element Research*, 199, 2961-2971.

Lui, W. Y., & Lee, W. M. (2006). Regulation of Junction Dynamics in the Testis—Transcriptional and Post-Translational Regulations of Cell Junction Proteins. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 250(1-2), 25-35. doi:10.1016/j.mce.2005.12.021

Ly, T., & Marks, L. D. (2017). Growth Regimes of Hydrothermally Synthesized Potassium Tantalate Nanoparticles. *Microscopy and Microanalysis*, 23(S1), 1914-1915. doi:10.1017/s1431927617010236

Makhluף, S. B.-D., Arnon, R., Patra, C., Mukhopadhyay, D., Gedanken, A., Mukherjee, P., & Breitbart, H. (2008). Labeling of sperm cells via the spontaneous penetration of Eu³⁺ ions as nanoparticles complexed with PVA or PVP. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(33), 12801-12807.

Mancini, R. (2015). *Detection of Y-chromosome bearing bovine sperm using laser-generated gold nanoparticle bio-conjugates*. (Doctor of Veterinary Medicine). University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover.

Mathias, F. T., Romano, R. M., Kizys, M. M., Kasamatsu, T., Giannocco, G., Chiamolera, M. I., Dias-da-Silva, M. R., & Romano, M. A. (2015). Daily exposure to silver nanoparticles during prepubertal development decreases adult sperm and reproductive parameters. *Nanotoxicology*, 9(1), 64-70. doi:10.3109/17435390.2014.889237

Miller, S. R., & Cherrington, N. J. (2018). Transepithelial Transport Across the Blood–testis Barrier. *Reproduction*, 156(6), R187-R194. doi:10.1530/rep-18-0338

Miura, N., Ohtani, K., Hasegawa, T., Yoshioka, H., & Hwang, G. W. (2017). High Sensitivity of Testicular Function to Titanium Nanoparticles. *The Journal of Toxicological Sciences*, 42(3), 359-366. doi:10.2131/jts.42.359

Miura, N., Ohtani, K., Hasegawa, T., Yoshioka, H., & Hwang, G. W. (2019). Biphasic Adverse Effect of Titanium Nanoparticles on Testicular Function in Mice. *Scientific Reports*, 9(1). doi:10.1038/s41598-019-50741-9

Mohammad, I. (2019). Gold nanoparticle: An efficient carrier for MCP I of Carica papaya seeds extract as an innovative male contraceptive in albino rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 52, 942-956.

Moradi, M., Hajarian, H., Karamishabankareh, H., Soltani, L., & Soleymani, B. (2021). Recovery of sperms bearing X chromosomes with different concentrations of magnetic nanoparticles in ram. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(2), 263-269.

Mozaffari, Z., Kazem, P., Roodbari, N. H., & Irani, S. (2015). Histopathological Evaluation of the Toxic Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles on Testicular Tissue of NMRI Adult Mice. *Advanced Studies in Biology*, 7, 275-291. doi:10.12988/asb.2015.5425

Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2010). Tight Junctions in the Testis: New Perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences*, 365(1546), 1621-1635. doi:10.1098/rstb.2010.0010

Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M., & Unyah, N. Z. (2022). A Review on Plants and

Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(2), 674. doi:10.3390/ijerph19020674

Nadri, T., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Martínez-Pastor, F., Mousavi, M., Noei, R., Tar, M., & Mohammadi Sangcheshmeh, A. (2019). Lecithin nanoparticles enhance the cryosurvival of caprine sperm. *Theriogenology*, 133, 38-44. doi:10.1016/j.theriogenology.2019.04.024

Negi, S., & Singh, V. B. (2018). Algae: A Potential Source for Nanoparticle Synthesis. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(4), 1134-1140. doi:10.31018/jans.v10i4.1878

Nkele, A. C., & Ezema, F. I. (2021). Diverse Synthesis and Characterization Techniques of Nanoparticles. In A. Ares (Ed.), *Thin Films*: InTech Open.

Ogunwuyi, O., Kumari, N., Smith, K. A., Bolshakov, O., Adesina, S., Gugssa, A., Anderson, W. A., Nekhai, S., & Akala, E. O. (2016). Antiretroviral drugs-loaded nanoparticles fabricated by dispersion polymerization with potential for HIV/AIDS treatment. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 9, IDRT. S38108.

Onyeaka, H., Passaretti, P., Miri, T., & Al-Sharify, Z. T. (2022). The Safety of Nanomaterials in Food Production and Packaging. *Current Research in Food Science*, 5, 763-774. doi:10.1016/j.crfs.2022.04.005

Orazizadeh, M., Khorsandi, L., Absalan, F., Hashemitabar, M., & Daneshi, E. (2014). Effect of Beta-Carotene on Titanium Oxide Nanoparticles-Induced Testicular Toxicity in Mice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(5), 561-568. doi:10.1007/s10815-014-0184-5

Orzolek, A., Rafalska, K., Otowska, W. A., Kordan, W., Korzekwa, A., & Kozłowski, K. (2021). Influence of Zinc and Manganese Nanoparticles on Selected Parameters of Turkey Spermatozoa Stored in a Liquid State at 4 °C. *Animals*, 11(11), 3289. doi:10.3390/ani11113289

Öztürk, A., & Omur, A. (2022). Curent Approaches to the Use of Nanotechnology in Reproductive Biotechnologies: Spermatological Researches. In T. Çakıcı (Ed.), *The Trend in Nanomaterials, Synthesis and Applications* (1st ed., pp. 30-45). İstanbul, Türkiye: Efe Academy Publishing.

Pan, J., Zhu, Z., Xu, G., Niu, L., Yu, L., Luo, Z., & Yan, J. (2018). Expression of Claudin-11 in a Rat Model of Varicocele and Its Effects on the Blood-testis Barrier. *Molecular Medicine Reports*. doi:10.3892/mmr.2018.9603

Pang, J., Feng, X., Liang, Q., Zheng, X., Duan, Y., Zhang, X., Zhang, J., Chen, Y., Fan, K., & Gao, L. (2022). Ferritin-Nanocaged ATP Traverses the Blood–Testis Barrier and Enhances Sperm Motility in an Asthenozoospermia Model. *ACS Nano Journal*, 16(3), 4175-4185.

Paul, N., Talluri, T. R., Nag, P., Raval, K., & Kumaresan, A. (2022). Nano Purification of Semen: A Novel Technique for Enrichment of Superior Quality Spermatozoa. In *Frontier Technologies in Bovine Reproduction* (pp. 111-132): Springer.

Phogat, N., Khan, S., Shankar, S., Ansary, A., & Uddin, I. (2016). Fate Of Inorganic Nanoparticles In Agriculture. *Advanced Materials Letters*, 7, 3-12. doi:10.5185/amlett.2016.6048

Rateb, S. A. (2020). Purification of Cryopreserved Camel Spermatozoa Following Protease-based Semen Liquefaction by Lectin-functionalized DNA-defrag Magnetic Nanoparticles. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(1), 183-192. doi:10.1111/rda.13863

Rauf, N., Nawaz, A., Ullah, H., Ullah, R., Nabi, G., Ullah, A., Wahab, F., Jahan, S., & Fu, J. (2021). Therapeutic effects of chitosan-embedded vitamin C, E nanoparticles against cisplatin-induced gametogenic and androgenic toxicity in adult male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(40), 56319-56332.

Reijnders, L. (2012). Human Health Hazards of Persistent Inorganic and Carbon Nanoparticles. *Journal of Materials Science*, 47(13), 5061-5073. doi:10.1007/s10853-012-6288-3

Rodrigues, A. C. B., Jesus, G. P. d., Waked, D., Gomes, G. L., Silva, T. M., Yariwake, V. Y., Silva, M. P. d., Magaldi, A. J., & Veras, M. M. (2022). Scientific Evidence About the Risks of Micro and Nanoplastics (MNPLs) to Human Health and Their Exposure Routes Through the Environment. *Toxics*, 10(6), 308. doi:10.3390/toxics10060308

Romoser, A., Criscitiello, M. F., & Sayes, C. M. (2014). Engineered Nanoparticles Induce DNA Damage in Primary Human Skin Cells, Even at Low Doses. *Nano Life*, 04(01), 1440001. doi:10.1142/s1793984414400017

Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2017). Toxicity of Nanomaterials Found in Human Environment. *Toxicology Research and Application*, 1. doi:10.1177/2397847317726352

Sanand, S., Kumar, S., Bara, N., & Kaul, G. (2018). Comparative evaluation of half-maximum inhibitory concentration and cytotoxicity of silver nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes using buffalo bull spermatozoa as a cell model. *Toxicol Ind Health*, 34(9), 640-652. doi:10.1177/0748233718783389

Scalisi, E. M., Pecoraro, R., Salvaggio, A., Capparucci, F., Fortuna, C. G., Zimbone, M., Impellizzeri, G., & Brundo, M. V. (2023). Titanium Dioxide Nanoparticles: Effects on

Development and Male Reproductive System. *Nanomaterials*, 13(11), 1783. doi:10.3390/nano13111783

Shakeel, M., Jabeen, F., Shabbir, S., Yaqoob, M., Khan, M. S., & Chaudhry, A. S. (2015). Toxicity of Nano-Titanium Dioxide (TiO₂-NP) Through Various Routes of Exposure: A Review. *Biological Trace Element Research*, 172(1), 1-36. doi:10.1007/s12011-015-0550-x

Shandilya, R., Pathak, N., Lohiya, N. K., Sharma, R. S., & Mishra, P. K. (2020). Nanotechnology in reproductive medicine: Opportunities for clinical translation. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 47(4), 245-262. doi:10.5653/cerm.2020.03650

Shydlovska, O., & Kharchenko, Y. (2022). *Review of Green Methods of Synthesis of Silver Nanoparticles*. Paper presented at the The 9th International Conference on Advanced Materials and Systems, Bucharest, Romania.

Silva, J. R. V., Barroso, P. A. A., Nascimento, D. R., Figueira, C. S., Azevedo, V. A. N., Silva, B. R., & Santos, R. P. d. (2021). Benefits and challenges of nanomaterials in assisted reproductive technologies. *Molecular Reproduction and Development*, 88(11), 707-717. doi:<https://doi.org/10.1002/mrd.23536>

Skovmand, A., Lauvås, A. J., Christensen, P., Vogel, U., Hougaard, K. S., & Goerick-Pesch, S. (2018). Pulmonary Exposure to Carbonaceous Nanomaterials and Sperm Quality. *Particle and Fibre Toxicology*, 15(1). doi:10.1186/s12989-018-0242-8

Snow-Lisy, D. C., Samplaski, M. K., Labhasetwar, V., & Sabanegh, E. (2011). Drug Delivery to the Testis: Current Status and Potential Pathways for the Development of Novel Therapeutics. *Drug Delivery and Translational Research*, 1(5). doi:10.1007/s13346-011-0039-x

Song, G., Lin, L., Liu, L., Wang, K., Ding, Y., Niu, Q., Mu, L., Wang, H., Shen, H., & Guo, S. (2017). Toxic Effects of Anatase Titanium Dioxide Nanoparticles on Spermatogenesis and Testicles in Male Mice. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26. doi:10.15244/pjoes/70807

Souza, M. R., Mazaro-Costa, R., & Rocha, T. L. (2021). Can nanomaterials induce reproductive toxicity in male mammals? A historical and critical review. *Science of The Total Environment*, 769, 144354.

Su, L., Mruk, D. D., Lie, P. P., Silvestrini, B., & Cheng, C. Y. (2012). A Peptide Derived From Laminin- Γ 3 Reversibly Impairs Spermatogenesis in Rats. *Nature Communications*, 3(1). doi:10.1038/ncomms2171

Tang, Y., Chen, B., Hong, W., Chen, L., Yao, L., Zhao, Y., Aguilar, Z. P., & Xu, H. (2019). ZnO Nanoparticles Induced Male Reproductive Toxicity Based on the Effects on the Endoplasmic Reticulum Stress Signaling Pathway. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 9563-9576. doi:10.2147/ijn.S223318

Tanwar, S. N., Parauha, Y. R., There, Y., & Dhoble, S. J. (2024). Biosynthesis of Al(2) O(3) and europium-doped Al(2) O(3) nanoparticle using Cymbopogon citratus (lemongrass) extract and its antibacterial property. *Luminescence*, 39(1), e4616. doi:10.1002/bio.4616

Thukral, R., Arora, P., Sharma, S., Choudhury, D., & Singla, N. (2024). Formulation and evaluation of solid lipid nanoparticles loaded with papaya seed chloroform extract for long-term antifertility effects on the male rat, Bandicota bengalensis. *Drug and Chemical Toxicology*, 47(5), 496-506.

Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella, M. F., Jr., Rejeski, D., & Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the

nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6, 1769-1780. doi:10.3762/bjnano.6.181

Vassal, M., Rebelo, S., & Pereira, M. d. L. (2021). Metal Oxide Nanoparticles: Evidence of Adverse Effects on the Male Reproductive System. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8061. doi:10.3390/ijms22158061

Vatanpour, M., Ebrahimzadeh-Bideskan, A., Rajabian, A., Alipour, F., Raoofi, A., & Ebrahimi, V. (2024). Ameliorating effects of selenium nanoparticle coated by gallic acid on histological and biochemical parameters of testis in azoospermic rat model. *Tissue and Cell*, 91, 102550.

Wang, B., Zhai, C., Li, Y., Ma, B., Li, Z., & Wang, J. (2023). Sertoli cells-derived exosomal miR-30a-5p regulates ubiquitin E3 ligase Zeb2 to affect the spermatogonial stem cells proliferation and differentiation. *Reproductive Toxicology*, 117, 108340.

Wang, R., Song, B., Wu, J., Zhang, Y., Chen, A., & Shao, L. (2018). Potential Adverse Effects of Nanoparticles on the Reproductive System. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 13, 8487-8506. doi:10.2147/ijn.s170723

Wei, Y.-S., Chen, Y.-L., Li, W.-Y., Yang, Y.-Y., Lin, S.-J., Wu, C.-H., Yang, J.-I., Wang, T.-E., Yu, J., & Tsai, P.-S. (2023). Antioxidant Nanoparticles Restore Cisplatin-Induced Male Fertility Defects by Promoting MDC1-53bp1-Associated Non-Homologous DNA Repair Mechanism and Sperm Intracellular Calcium Influx. *International Journal of Nanomedicine*, 4313-4327.

Xiao, X., Mruk, D. D., Wong, E. W., Lee, W. M., Han, D., Wong, C. K. C., & Cheng, C. Y. (2014). Differential Effects of C-SRC and C-Yes on the Endocytic Vesicle-Mediated Trafficking Events at the Sertoli Cell Blood-Testis Barrier: An in Vitro Study. *American Journal of Physiology-Endocrinology*

and *Metabolism*, 307(7), E553-E562.
doi:10.1152/ajpendo.00176.2014

Yousef, M., Al-Hamadani, M., & Kamel, M. (2019). Reproductive Toxicity of Aluminum Oxide Nanoparticles and Zinc Oxide Nanoparticles in Male Rats. *Nanoparticle*, 1. doi:10.35702/nano.10003

Yousef, M. S., Abdelhamid, H. N., Hidalgo, M., Fathy, R., Gómez-Gascón, L., & Dorado, J. (2021). Antimicrobial activity of silver-carbon nanoparticles on the bacterial flora of bull semen. *Theriogenology*, 161, 219-227. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.12.006

Zakhidov, S. T., Pavlyuchenkova, S. M., Marshak, T., Rudoy, V. M., Dement'eva, O., Zelenina, I. A., Skuridin, S., Makarov, A., Khokhlov, A., & Evdokimov, Y. M. (2012). Effect of gold nanoparticles on mouse spermatogenesis. *Biology Bulletin*, 39, 229-236.

Zhang, L., Yang, Y., Song, Y., Yang, H., Zhou, G., Xin, Y., You, Z., & Xuan, Y. (2014). Nanoparticle delivery systems reduce the reproductive toxicity of docetaxel in rodents. *Nano Life*, 4(04), 1441012.

Zhang, X., Gurunathan, S., & Kim, J. (2015). Effects of silver nanoparticles on neonatal testis development in mice. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 6243-6256. doi:10.2147/ijn.S90733

Zhao, F., Fan, M., Jing, Z., Zhang, Y., Wang, Y., Zhou, C., Liu, Y., Aitken, R. J., & Xia, X. (2024). Engineered nanoparticles potentials in male reproduction. *Andrology*.

BÖLÜM IV

Üreme Sistemi Üzerine Pestisitlerin Etkisi ve Antioksidanların Rolü

Feyzanur MART¹
Şükrü GÜNGÖR²

Giriş

Pestisit Tanımlama

En dar anlamıyla “pestisit” terimi, özellikle haşere olarak bilinen zararlı organizmaları ortadan kaldırmak için kullanılan maddeleri ifade eder (Şanlı, 2002). Pestisit, insanlara, hayvanlara, bitkilere ve diğer organizmalara zarar veren, çevreyi ve halk sağlığını etkileyen tarımsal zararlıları (böcekler, yabani otlar vb.) kontrol etmek için kullanılan bir madde veya madde karışımı olarak tanımlanmaktadır (Talib & ark., 2018).

¹Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9788-3238, feyzanurmart@gmail.com

²Doç. Dr, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Burdur/Türkiye, Orcid: 0000-0002-0433-5970, sukrugungor@mehmetakif.edu.tr

Tarihsel olarak, pestisitler arsenik, kükürt, bakır, civa, flor ve kalsiyum içeren inorganik bileşiklerin yanı sıra katran ve kreozol bileşikleri gibi endüstriyel yan ürünleri ve 1940'lara kadar çeşitli zararlıları kontrol etmek için kullanılan rotenon, piretrum ve nikotin gibi bitki kaynaklı bileşenleri içeriyordu. Pestisit kullanımının tarihsel süreci Tablo 1' de özetlenmiştir. 1942'de DDT ve benzeri klorlu organik bileşiklerin piyasaya sürülmesiyle başlayan sentetik pestisitler dönemi ortaya çıkmış, bunu İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra organofosfatlar ve fenoksialkanoik asit türevlerinin insektisit ve herbisit olarak kullanımı izlemiştir. 1970'lerin ortalarından bu yana, pestisit olarak kullanılmak üzere yaklaşık 30.000 yeni bileşik sentezlenmiş ve bunların yaklaşık 1.000'i birçok gelişmiş ülkede ruhsatlandırma onayı almıştır (Mahmood & ark., 2016; Şanlı, 2002).

Tablo 4. *Pestisit kullanımının önemli tarihi olaylar üzerindeki etkisi*

Yıllar	Olaylar
1867	Paris Yeşili Salgını (bakır arsenit formu) Colorado patates böceğini kontrol etmek için kullanıldı.
1885	Küf kontrolü için Profesör Millardet tarafından bir bakır karışımının tanıtılması
1892	Potasyum dinitro-2-kresilat Almanya'da üretildi.
1939	İsviçreli kimyager Paul Muller tarafından keşfedilen DDT; organofosfat insektisitler ve fenoksiasetik herbisitler keşfedildi.
1950	Mantar öldürücüler kaptan(tarımda kullanılan mantar ilacı türü) ve gliodin ve böcek ilacı malathion keşfedildi.
1961-1971	Portakal Gazı tanıtıldı.
1972	DDT resmen yasaklandı.
2001	Stockholm Sözleşmesi.

Kaynak: (Mahmood & ark., 2016)

Dünya nüfusunun artmasıyla birlikte beslenme talebi de artmaya devam ediyor. Bu gıda talebini karşılamak için çeşitli hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar bitkisel üretimde %65'e varan kayıplara neden olabilmektedir. İstatistiklere göre bu kayıplar yılda yaklaşık 23 milyon tona ulaşmaktadır ki bu da 150 milyon insanı bir yıl boyunca beslemeye yetmektedir. Sonuç olarak, üreticiler tarımsal alanlarda verimi artırmak ve gıda

ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için farklı yöntemler araştırabilirler. Etkili yaklaşımlardan biri, genellikle tarımsal haşere yönetimi olarak adlandırılan ve ürün verimliliğini artıran kimyasal mücadeledir. Bu yöntem öncelikle pestisit kullanımına dayanır. Pestisitler, tarımsal ürünleri zararlı böceklerden, patojen organizmalardan ve yabancı otlardan korumak için kullanılır ve böylece hem ürün kalitesini hem de verimi artırır. (Akdoğan, Divrikli, & Elçi, 2012).

1.2. Türkiye'de ve Dünyada Pestisit Kullanımı

Pestisit kullanımındaki küresel artış, zararlılar ve hastalıklardan kaynaklanan ürün kayıplarını azaltmak için kimyasal kontrollerin kullanıldığı gıda üretimine yönelik artan taleple uyumludur (Ayyıldız, 2022). Başka bir deyişle, bitkisel üretimde kimyasal pestisitler hastalık, zararlı ve yabancı otları kontrol etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Hızlı etkinlikleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle kimyasal pestisitler tercih edilmekte, mahsul veriminin artmasına, işgücü tasarrufuna, gübre kullanımının optimize edilmesine ve risklerin azaltılmasına katkıda bulunmaktadır (Ghimire & Woodward, 2013). Üretimde pestisit kullanımının durdurulmasının mahsul kalitesi ve veriminde %60'a varan düşüslere yol açabileceği ve üretim değerini önemli ölçüde düşürebileceği belirtilmektedir (W. Zhang, Jiang, & Ou, 2011).

Türkiye'de pestisit kullanımı İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra başlamıştır. Pestisit kullanımı doğal olarak bu süreçle birlikte gelişmeye başlamıştır. Ülkemizde kültür bitkileri 200'den fazla hastalık ve zararlının tehdidi altında olup, yetersiz mücadele nedeniyle toplam ürünün yaklaşık 1/3'ü kaybedilmektedir. Bu kayıpları önlemek için çeşitli pestisitler kullanılmaktadır (Akdoğan, Divrikli, & Elçi, 2012).

Türkiye'de pestisit kullanımı hem tarımsal uygulamaları hem de mevzuat değişikliklerini yansıtacak şekilde yıllar içinde

önemli gelişmeler göstermiştir (Tablo 2.). Pestisit tüketimi 1983'ten 1993'e kadar %3,4'lük bir artış göstermiş, bunu 1993-1995 yılları arasında %18,5'lik daha önemli bir artış izlemiştir. (Turhan & Varoğlu, 2021). Bu durum, Türk tarımında, özellikle de Türkiye'nin dünya çapında en iyi üreticiler arasında yer aldığı biber gibi yüksek talep gören ürünlerin yetiştirilmesinde kimyasal girdilere artan bağımlılığın bir göstergesidir (Günay & Altınok, 2024).

Tablo 5. *Türkiye'de yıllara göre pestisit kullanımı*

Yıllar	Kullanım miktarı (Ton)
2000	33 471
2005	40 332
2010	38 555
2015	39 026
2017	54 098
2018	60 020
2019	51 297
2020	53 672
2021	52 96
2022	55 374

Kaynak: (FAO, 2023)

Türkiye, özellikle tarımsal üretim bağlamında, pestisit tüketiminde küresel olarak en üst sıralarda yer almaktadır. Türkiye'deki istihdamın yaklaşık %20'sini oluşturan tarım

sektörü, mahsul verimini artırmak ve zararlılarla etkin bir şekilde mücadele etmek için pestisitlere büyük ölçüde başvurmaktadır (Aksüt, 2024). Raporlar, Türkiye'deki toplam pestisit uygulamasının yıllar içinde önemli ölçüde arttığını göstermektedir; bazı çalışmalar 1979'dan 2007'ye kadar kullanımda %270'lik bir artış olduğunu belirtmektedir (Koç & ark., 2020). Bu artış eğilimi özellikle Antalya gibi pestisit kullanımının endişe verici boyutlara ulaştığı bölgelerde belirgindir. 2020 yılında 4,3 milyon kg'ın üzerinde pestisit kullanımı rapor edilmiştir (Balkan, 2023).

2020 yılında küresel pestisit kullanımı, farklı bölgeler ve ülkeler arasında önemli farklılıklar göstererek yaklaşık 4,1 milyon tona ulaşmıştır (Ochoa-Cueva & ark., 2021). Pestisit tüketimi küresel olarak kayda değer bir artış göstermiş olup, gelişmiş ülkeler geliştirmekte olan ülkelere kıyasla genellikle daha yüksek kullanım oranları sergilemektedir. Örneğin, Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa küresel pestisit kullanımının önemli bir bölümünü oluştururken, Hindistan ve Pakistan gibi geliştirmekte olan ülkeler daha düşük toplam tüketime rağmen pestisitlerle ilgili sağlık sorunlarında yüksek oranlar bildirilmektedir (Fazal & ark., 2022; Mounika & ark., 2022). Hindistan'da pestisit tüketimi hektar başına nispeten düşüktür, ancak ülke pestisit zehirlenmelerinden kaynaklanan ölümlerin önemli bir yüzdesini oluşturmaktadır; bu da kullanım ve güvenlik arasında bir eşitsizlik olduğunu göstermektedir (Mounika & ark., 2022).

Gelişmiş ülkelerde pestisit kullanımı önemli ölçüde azalmış olsa da hektar başına uygulanan pestisit miktarı Almanya (4,05 kg/ha), Portekiz (5,34 kg/ha), İtalya (6,11 kg/ha), Belçika (6,26 kg/ha) ve Hollanda (10,82 kg/ha) gibi bazı Avrupa ülkelerinde hala oldukça yüksektir. (FAO, 2022). Türkiye'de hektar başına pestisit kullanımı birçok Avrupa ülkesinden daha düşük olmasına rağmen (2,32 kg/ha), kullanım şekilleri bölgeler arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Avrupa'da

görülen daha homojen dağılımın aksine, Türkiye'nin pestisit uygulaması bölgesel çokyönlü farklılıklar göstermektedir. Polikültür tarımın daha yaygın olduğu Ege ve Akdeniz bölgeleri, ülkedeki toplam pestisit kullanımının yaklaşık %49,39'unu oluşturmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2022).

1.3. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitlerin sınıflandırılması tarım bilimi, çevre sağlığı ve toksikolojinin kritik bir yönüdür. Pestisitler, kimyasal bileşimleri, etki şekilleri, hedef organizmaları ve menşei dahil olmak üzere çeşitli kriterlere göre kategorize edilebilir. Bu sınıflandırmaların anlaşılması, etkili haşere yönetimi, mevzuata uygunluk ve insan sağlığı ve çevre üzerindeki olumsuz etkilerin en aza indirilmesi için gereklidir. Pestisitleri sınıflandırmanın başlıca yöntemlerinden biri kimyasal yapılarına dayanmaktadır. Drum'a (1980) göre, pestisitler üç geniş kategoriye ayrılabilir: organofosfatlar, karbamatlar ve organoklorinler (Muniv, 2022).

Pestisitler görünümlerine, etken maddelerinin kimyasal yapısına, elde edildikleri kaynağa ve etkiledikleri zararlı grubuna göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır (Tablo 3.) (Yalvaç, 2005). En yaygın kullanılan grupta, kullanıldıkları zararlı grubuna göre yapılan gruplamadır. Bu gruptaki bazı pestisit örnekleri insektisitler, herbisitler, fungusitler ve bakterisitlerdir. En yaygın kullanılan ve araştırılan pestisitler herbisitler, insektisitler ve fungusitlerdir (Akdoğan, Divrikli, & Elçi, 2012).

Pestisitler hedef organizmalarına göre de kategorize edilebilir. Bu sınıflandırma, her biri belirli zararlı türlerini kontrol etmek için tasarlanmış böcek ilaçları, herbisitler, mantar ilaçları ve kemirgen ilaçlarını içerir. Örneğin, insektisitler böcekleri hedef alır ve piretroidler, neonikotinoidler ve biyolojik insektisitler gibi sınıflara ayrılabilir. Herbisitler ise istenmeyen bitkileri kontrol etmek için kullanılır ve hedef yabani otların

büyüme döngüsüne göre ne zaman uygulandıklarına bağlı olarak pre-emergent veya post-emergent olarak sınıflandırılabilir. Fungisitler, mahsullerdeki mantar hastalıklarıyla mücadele etmek için kullanılır ve patojenin üreme veya konakçı bitkiyi enfekte etme yeteneğini etkileyen sistemik veya temaslı fungusitler olabilir (Kurutaş & Kılınç, 2003; Muniv, 2022).

Bir diğer önemli sınıflandırma kriteri de pestisitlerin menşesidir. Pestisitler, bitkiler veya mikroorganizmalar gibi doğal kaynaklardan elde edilebileceği gibi sentetik olarak da üretilir. Doğal malzemelerden elde edilen biyopestisitler, geleneksel sentetik pestisitlere kıyasla daha düşük toksisite ve çevresel etkileri nedeniyle popülerlik kazanmaktadır. Bunlar arasında faydalı organizmalara zarar vermeden belirli zararlıları hedef alan neem yağı ve *Bacillus thuringiensis* gibi maddeler bulunmaktadır (Turczel & ark., 2018). Buna karşılık, sentetik pestisitler genellikle daha etkili ve daha uzun ömürlü olmakla birlikte, potansiyel sağlık riskleri ve çevresel kalıcılıkları konusunda endişelere yol açmaktadır (Kankam, 2021).

Tablo 6. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitlerin Sınıflandırılması		
I. Hedef organizmaya göre gruplandırma	II. Etkili maddelerine göre gruplandırma	III. Kullanma şekillerine göre gruplandırma
a. Akarisitler (akarları öldüren pestisitler) b. İnsektisitler (böcekleri öldüren pestisitler) c. Nematisitler (nematotları öldüren pestisitler) d. Rodentisitler (fare gibi kemirgenleri öldüren pestisitler) e. Fungusitler (bitki üzerindeki mantarları öldüren pestisitler) f. Herbisitler (yabancı otları öldüren pestisitler)	a. İnorganik maddeler b. Doğal Organik maddeler - Bitkisel maddeler - Petrol yağları c. Sentetik organik maddeler - Organik fosforlu maddeler - Organik klorlü maddeler -Diğer sentetik organik maddeler	a. Gaz b. Toz c. Püskürtme

Kaynak: (Kurutaş & Kılınç, 2003).

Uluslararası Biyolojik ve Entegre Mücadele Örgütü (IOBC), pestisitlerin hedef dışı organizmalar üzerindeki toksisitesine dayalı kategoriler oluşturarak ekolojik etkilerinin anlaşılmasına daha fazla yardımcı olmaktadır. Bu sınıflandırma sistemi zararsızdan (%25'ten az ölüm) zararlıya (%75'ten fazla ölüm) kadar değişmektedir (Dáder & ark., 2019).

Tablo 7. Türkiye'de pestisit türlerine göre kullanım miktarı, ton

Yıllar	İnsektisit	Fungusit	Herbisit	Akarisit	Rodentisit	Diğer	Toplam
2016	10 425	20 485	10 025	2 025	259	6.835	50.054
2017	11 436	22 006	11 759	2 452	236	6.209	54.098
2018	13 583	23 047	14 794	2 485	308	5.800	60.020
2019	11 609	19 698	12 644	2 124	264	4 958	51 297
2020	12 347	20 600	13 250	2 200	280	4.995	53 672
2021	11 070	19 097	13 319	2 342	282	6.851	52 965
2022	12 205	19 446	14 553	2 462	298	6.410	55 374
2023	12 326	19 614	15 509	3 104	297	6.916	57 766

Kaynak: (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023)

Tablo 4'te sunulan veriler, 2016-2023 yılları arasında Türkiye'de çeşitli kategorilerdeki pestisit kullanımına ilişkin kapsamlı bir genel bakış sunmaktadır. Kategoriler arasında böcek ilaçları, mantar ilaçları, herbisitler, akarisitler, kemirgen ilaçları ve diğer pestisitler yer almakta ve her yıl için toplam pestisit kullanım miktarı hesaplanmaktadır. Türkiye'deki toplam pestisit kullanımı 2016 yılında 50.054 tondan 2023 yılında 57.766 tona genel bir artış göstermektedir. Bu, yedi yıllık dönemde yaklaşık %15,5'lik bir artışı temsil etmektedir. İnsektisit kullanımı genel bir artış eğilimi göstererek 2016 yılında 10.425 tondan 2023 yılında 12.326 tona yükselmiştir. Özellikle, en yüksek kullanım 2018 yılında kaydedilmiştir (13.583 ton). Fungisit kullanımı da 2016'da 20.485 tondan 2023'te 19.614 tona azalmıştır ve 2018'de zirve yapmıştır (23.047 ton) (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023).

Son yıllarda fungusit kullanımındaki hafif düşüş, tarımsal uygulamaların iyileştiğine veya daha az kimyasal müdahale gerektiren dayanıklı mahsul çeşitlerinin geliştirildiğine işaret ediyor olabilir. Herbisit kullanımı 2016'da 10.025 tondan 2023'te

15.509 tona çıkarak istikrarlı bir artış göstermiştir. Bu önemli artış, yabancı ot mücadelesi için herbisitlere olan bağımlılığın arttığına işaret etmekte olup, bu durum tarım alanlarının genişlemesine ve tarım uygulamalarının yoğunlaşmasına bağlanabilir. 2016-2023 yılları arasında Türkiye'de pestisit kullanımının analizi, çeşitli pestisit kategorilerinin uygulanmasında önemli eğilimler ortaya koymaktadır. Toplam pestisit kullanımında genel bir artış görülürken, belirli kategorilerdeki dalgalanmalar tarımsal uygulamaların ve haşere yönetimi stratejilerinin dinamik yapısını vurgulamaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023).

2. Pestisitler ve Etkileri

Pestisitler, tarımda zararlıları kontrol etmek amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir ve bu maddeler, insan sağlığı ve çevre üzerinde önemli etkiler yaratabilmektedir. Pestisitlerin sınıflandırılması, bu kimyasalların toksik etkilerini anlamak ve yönetmek açısından kritik bir öneme sahiptir. Pestisitler sadece faydalı olmakla kalmaz, aynı zamanda toksisite özelliklerinden dolayı insan ve hayvan sağlığına tehlike oluşturmaktadır. Tüm organizmalar için zararlıdır ve çevreyi kirletmektedirler (Duchet & ark., 2018; Talib & ark., 2018). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), pestisit toksisitesini Tablo 5'de gösterildiği gibi sınıflandırmıştır (Hashimi, Hashimi, & Ryan, 2020). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), pestisitleri, insan sağlığına olan potansiyel risklerine göre sınıflandırarak, sınıf Ib (yüksek derecede tehlikeli) ile sınıf III (az tehlikeli) arasında bir sistem oluşturmuştur (Higuchi & ark., 2023). Bu sınıflandırma, tarım uygulamalarında kullanılan pestisitlerin güvenliğini değerlendirmek için temel bir araçtır (Tudi & ark., 2021).

Tablo 8. Dünya sağlık örgütüne göre pestisit toksisite kategorileri

WHO sınıflandırması	Ratlar için LD50 (mg/kg vücut ağırlığı)		Aktif bileşenler açısından örnekler
	Oral	Dermal	
Son Derece Tehlikeli	<5	<50	Aldicarb, Parathion, Cıva Klorür
Çok tehlikeli	5–50	50–200	Akrolein, Cadusafos, Caarsenat
Orta derecede tehlikeli	50–2000	200–2000	Alachlor, Bentazone, Bakır f sülfat
Biraz tehlikeli	2000'den fazla	2000'den fazla	Hekzakonazol, Atrazin, Bütaklor
Akut tehlike arz etme olasılığı düşük	5000 veya üzeri	5000 veya üzeri	Mancozeb, Captan, Bifenox

Kaynak: (Hashimi, Hashimi, & Ryan, 2020)

Pestisit maruziyeti, özellikle pestisit uygulamasına doğrudan dahil olan tarım çalışanları arasında çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilir. Çalışmalar, mesleki maruziyetin nörolojik bozukluklar, solunum sorunları ve gastrointestinal sorunlar dahil olmak üzere akut ve kronik sağlık etkilerine neden olabileceğini göstermiştir (Negatu & ark., 2016; Rohlman & ark., 2020). Örneğin, Rohlman ve arkadaşları, pestisitlere maruz kalan ergenlerin artan sağlık semptomları ve akciğer fonksiyonlarında azalma sergilediğini vurgulayarak, genç popölasyonlarda daha yüksek bir kırılganlığa işaret etmiştir. Ayrıca, gıda ürünlerinde pestisit kalıntılarının bulunması tüketiciler, özellikle de bu kimyasalların toksik etkilerine karşı daha hassas olan çocuklar için ek riskler oluşturmaktadır (Rohlman & ark., 2020).

Çiftçilerin pestisit kullanımına yönelik bilgi ve tutumları, sağlık sonuçlarını önemli ölçüde etkilemektedir.

Birçok çiftçinin pestisitlerin olumsuz etkilerinin farkında olmasına rağmen, üreme sağlığı ve hamilelik üzerindeki spesifik etkilerin anlaşılmasında kritik bir boşluk olduğunu göstermiştir (Gesese & ark., 2016). Bu farkındalık eksikliği hem uygulayıcıları hem de ailelerini tehlikeye atan güvensiz uygulamalara yol açabilir. Pestisit kullanımının çevresel sonuçları derin ve çok yönlüdür. Pestisitler toprak ve su kaynaklarını kirleterek hedef dışı organizmalarda biyolojik birikime yol açabilir ve yerel ekosistemleri bozabilir (Gunjal, 2023; Supanekar, 2022). Örneğin, Negatu ve arkadaşları tarımsal ürünlerde tespit edilebilir pestisit kalıntıları olduğunu bildirerek biyoçeşitlilik ve gıda güvenliği üzerindeki uzun vadeli etkilere ilişkin endişeleri artırmıştır (Negatu, Dugassa, & Mekonnen, 2021). Pestisit kaplarının uygunsuz şekilde imha edilmesi, zararlı kimyasalları toprağa ve su sistemlerine sızdırabileceğinden çevre kirliliğini daha da artırmaktadır (Shalaby & ark., 2021). Pestisitlerin çevresel etkileri, özellikle su kaynakları ve toprak kalitesi üzerinde önemli sonuçlar doğurmaktadır.

Pestisitler, tarımsal alanlardan su yollarına sızarak su kirliliğine yol açmakta ve bu durum, içme suyu kalitesini tehdit etmektedir. Örneğin, çözünabilir pestisitler, yağış olayları sırasında su molekülleriyle taşınarak yer altı su kaynaklarına ulaşmakta ve bu da su kalitesini bozarak temiz içme suyu teminini zorlaştırmaktadır (Shalaby & ark., 2021). Ayrıca, pestisitlerin toprakta kalıcılığı, ekosistem dengesini bozmakta ve toprak verimliliğini azaltmaktadır (Thapa & ark., 2022). Bu bağlamda, pestisitlerin kullanımı, tarımsal üretim için gerekli olan doğal kaynakların sürdürülebilirliğini tehdit etmektedir. Bu kimyasallar genellikle gıda, bitki, toprak ve su yollarında bulunur ve çevrede kalıcı kalıntılar bırakabilmektedir (Khan & Rahman, 2017).

İnsan sağlığı üzerindeki etkileri de oldukça ciddidir. Pestisitlere maruz kalan tarım işçileri, cilt teması ve soluma

yoluyla zehirlenme riski taşımaktadır. Birçok çalışmada, pestisit maruziyetinin kanser, hematolojik bozukluklar, solunum fonksiyon bozuklukları ve bağışıklık sistemi zayıflıkları gibi sağlık sorunları ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca, pestisit kalıntıları gıda ürünlerinde bulunarak insan sağlığını tehdit edebilir. Pişmiş yemekler, su, meyveler, meyve suları, içecekler ve hayvan yemleri gibi günlük yiyecek ve içeceklerde çok çeşitli pestisit kalıntıları bulunabilir (Wahab & ark., 2016). Pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri, özellikle çocuklar, hamile kadınlar, hasta ve yaşlılarda gibi hassas gruplar için daha belirgin hale gelmektedir (Sarojmoni & ark., 2022; Sarwar, 2015). Anne sütünde pestisit kalıntıları rastlanıldığı ortaya konulmuştur; bu sebeple gelişim çağındaki çocuklarda olumsuz etkileri endişe verici bir konu olmuştur (Nicolopoulou-Stamati & ark., 2016).

Pestisitlerin ekosistem üzerindeki etkileri de dikkate alınmalıdır. Tarımsal alanlarda kullanılan pestisitler, hedef dışı organizmalara zarar verebilir ve biyoçeşitliliği tehdit edebilir. Örneğin, pestisitlerin kuşlar üzerindeki etkileri, üreme sorunları ve yumurta kabuklarının incilmesi gibi olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir (Aoujil, 2024). Ayrıca, pestisitlerin su ekosistemlerine olan etkileri, sucul organizmaların sağlığını tehdit etmekte ve ekosistem dengesini bozabilmektedir (Syafudin & ark., 2021). Bu durum, pestisitlerin sadece tarımsal alanlarda değil, aynı zamanda doğal yaşam alanlarında da olumsuz etkiler yarattığını göstermektedir.

Sürdürülebilir tarım uygulamaları, pestisit kullanımını azaltmaya yönelik stratejiler geliştirmeyi gerektirmektedir. Organik tarım uygulamaları, pestisitlerin kullanımını minimize ederek çevresel etkileri azaltmayı hedeflemektedir. Organik tarımda, doğal yöntemler ve biyolojik kontrol yöntemleri kullanılarak zararlılarla mücadele edilmektedir. Ayrıca, pestisitlerin daha az zararlı alternatifleri ve biyopestisitlerin kullanımı, tarımsal üretimde sürdürülebilirliği artırabilir

(Priyanka, 2024). Bununla birlikte, çiftçilerin pestisit yönetimi konusundaki farkındalığını artırmak, daha bilinçli ve sürdürülebilir uygulamaların benimsenmesine katkı sağlayacaktır (Ch  ze, David, & Martinet, 2020).

2.1. Pestisitlerin Etki Mekanizmaları

Pestisitlerin etki mekanizmaları, hedef organizmanın biyolojik özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Pestisitler, genel olarak insektisitler, herbisitler, fungusitler, akarisitler ve nematisitler gibi alt gruplara tablo 6’da gösterildiği gibi ayrılmaktadır.

  nsektisitler, böcekleri hedef alarak onların sinir sistemini etkileyen kimyasallardır. Bu sınıfın en yaygın örnekleri arasında organofosfatlar ve piretroidler bulunmaktadır. Organofosfatlar, asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonu yoluyla böceklerin sinir sistemini etkileyerek   l  m  ne neden olurken, piretroidler ise böceklerin sinir hücrelerinde aşırı uyarılmaya yol a arak etkili olmaktadır (Balci, Ersin, & Durmuşoğlu, 2020; Toğay &   elik, 2022).

Herbisitler, yabancı otları kontrol etmek için kullanılan pestisitlerdir. Bu kimyasallar, bitkilerin büyüme süreçlerini etkileyerek veya fotosentez mekanizmalarını bozarak etkili olmaktadır. Örneğin, glifosat, bitkilerin amino asit sentezini inhibe ederek etkisini gösterir (Bulmus & ark., 2021).

Fungusitler ise mantar enfeksiyonlarını kontrol etmek için kullanılır ve genellikle hücre zarını hedef alarak mantar hücrelerinin   l  m  ne neden olurlar (Kaya & ark., 2022).

Akarisitler, akarları hedef alarak onların sinir sistemini etkileyen kimyasallardır. Bu pestisitler, genellikle böceklerin sinir sistemini etkileyerek veya beslenme davranışlarını bozarak etkili olmaktadır (Polat & ark., 2020).

Nematisitler ise toprakta yaşayan nematodları hedef olarak onların yaşam döngülerini etkileyen kimyasallardır. Bu pestisitler, genellikle nematodların sindirim sistemini hedef olarak etkili olmaktadır (Dogan & Karpuzcu, 2019).

Tablo 9. *Pestisit sınıflarının etki mekanizmaları*

Pestisit Sınıfları	Etki Mekanizmaları	Örnekler
Organoklorlu pestisitler (OCP'ler)	-Hayvanın yağ dokusunda birikerek besin zinciri yoluyla biyolojik olarak çoğalır. - Aksonlarda, periferik ve merkezi sinir sistemlerinde iyon değişim dinamiklerini değiştirerek aksiyon potansiyellerinin azalmasına neden olur	- Diklorodifeniltrikloroetan (DDT), -Heksaklorobenzen (HCB), -Aldrin, -Lindane, -Klordan
Organofosfatlar (OP'ler)	- Asetilkolinesteraz enziminin (AChE) geri dönüşümsüz inhibisyonunu indükler, muskarinik ve nikotinik kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh) birikmesine neden olur, sonuç olarak sinir sistemi ve nöromusküler kavşaklarda ACh reseptörlerini aşırı uyarır - Yeraltı sularına sızar ve yeraltı sularına ulaşır. Merkezi sinir sistemini etkiler.	-Malathion, -Diazinon, -Parathion, -Dichlorvos, -Chlorpyrifos, -Tribufos (DEF)

Kaynak: (Moreira & ark., 2021; Nayak & Solanki, 2021; Syafrudin & ark., 2021)

Tablo 6. (Devamı)

Pestisit Sınıfları	Etki Mekanizmaları	Örnekler
Karbamatlar	ACh'nin hidrolizini katalize eden, sinir sinapslarında ve nöromusküler kavşaklarda artışa yol açan AChE'yi geri dönüşümlü olarak inhibe eder, bu artan uyarım sinir uçlarının uyarılmasını tetikler. Sadece sınırlı spektrumlu böcekleri öldürür. Omurgalı türler için oldukça toksiktir.	Carbendazim Carbaryl Aminocarb Thiodicarb Carbofuran Mancozeb
Piretroidler	Aksonal membranlardaki voltaj kapılı sodyum kanallarının kapanmasını önleyerek normal sinir uyarılarını bloke eder, böylece organizmayı felç eder ve sonunda organizmayı öldürür. Sinir sistemini etkiler.	Cypermethrin Bifenthrin Fenvalerate Permethrin Pyrethrins
Biyolojik	Diğer tırtılları etkiler.	Bacillus thuringiensis (Bt) ve alt türleri
Fenilpirazol	Rekabetçi olmayan gamaaminobütirik asit (GABA) kapılı klorür kanallarını bloke ederek aşırı nöronal stimülasyonu uyarır.	Fipronil Piriprol
Neonikotinoid	Gelişmiş seçicilik ve nikotinik ACh reseptörlerine (nAChR'ler) bağlanma gücü, merkezi sinir sistemindeki sinir hücrelerinin postsinaptik zarına büyük bir katyon akışına yol açarak aşırı uyarıcı sinir iletimini tetikleyerek felç ve ölümle sonuçlanır.	İmidakloprid Asetamipri Chlothianidin

Kaynak: (Moreira & ark., 2021; Nayak & Solanki, 2021; Syafrudin & ark., 2021)

2.2. Pestisitlerin Metabolizması

Pestisitler de diğer ksenobiyotikler gibi vücutta bir takım enzimatik olaylara katılmaktadır. Enzimatik olaylar, kimyasal değişimin türüne göre 4 ana grupta toplanırlar. Bunlar; oksidasyon, redüksiyon, kopma ve konjugasyondur. Bunlardan ilk üçü faz I aşaması iken, konjugasyon faz II aşaması'dır. Pestisitler, faz I aşamasında karaciğerde sitokrom P450 monooksijenazlar tarafından oksidasyona uğrayarak biyolojik yarı ömrü kısa olan polar bileşiklere dönüşmektedir. Faz II aşamasında ise değişime uğrayan pestisitler sudaki polariteleri yüksek olan glukuronik asitle ya da glutatyon (GSH) ile konjuge edilmektedir. Pestisit biyotransformasyonu sonucunda biyoaktivasyona uğrayan pestisit metabolitleri doku makromoleküllerine (DNA, protein) kovalent olarak bağlanarak biyolojik yarı ömürlerini artırır. Pestisit metabolitlerinin DNA gibi önemli hücresel makromoleküle ya da nörolojik önemi olan esterazlara bağlanmasıyla onkojenik veya nörotoksik anormallikleri hızlandırmaktadır. Pestisit toksikolojisinde biyotransformasyonun önemini artıran üç önemli enzim yer almaktadır (Kurutaş & Kılınç, 2003). Bunlar;

a. Sitokrom P450 Rediktaz: Birçok memelilerde veya böceklerde bulunan hemoprotein ailesidir. Hepatositlerde özellikle santrlobüler bölgedeki hücrelerde yoğun bulunmaktadır. Sitokrom P450 redüktaz enzimi ilaç ve kimyasal maddelerin (pestisit, poliaromatik hidrokarbonlar v.b.) biyotransformasyonunda rol oynamakta ve reaktif oksijen türlerinin üretiminde önemli bir kaynak oluşturması ile dikkat çekmektedir. Birçok pestisit sınıfları poliklorlubifeniller ve siklodienler (DDT, aldrin/dieldrin, klordan, toksafen, lindan, heptaklor, mireks ve endosulfan) sitokrom P450'yi indüklemektedir.

b. Glutatyon-S-transferaz (GST): Karsinojenik ve sitotoksik ajanlara karşı hücreyi korumada önemli rol oynayan

izoenzimlerin bir ailesidir. Pestisit metabolitleri, GSH ile konjuge edilerek inaktif hale getirilmektedir. Pestisitler GST enziminin “mü” izoenzimine bağlanma yetenekleri yüksektir.

c. UDP-glukuronil transferaz: Glukuronik asitle konjugasyonda, glukoranat dönörü üridindifosfat (UDP) glukuronik asittir. Reaksiyon UDP-glukuronil transferaz enzimi tarafından kataliz edilir. Enzim ilaçlar, bilirubin, steroid hormonlar, gibi benzer 15 maddelerin glukuronik asitle konjugasyonunda rol almaktadır (Kurutaş & Kılınç, 2003).

2.3. Pestisitlerin ROS ve RNS Üzerine Etkileri

Pestisitler, hücrelerde oksidatif stresi artırarak ROS ve RNS üretimini tetikleyebilir. Oksidatif stres, serbest radikallerin ve diğer reaktif türlerin hücrelerde birikmesi sonucu oluşur ve bu durum, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein oksidasyonu gibi biyomoleküllerde hasara yol açabilir (Ledda & ark., 2021; Sule, Condon, & Gomes, 2022). Örneğin, yapılan bir çalışmada, organofosfat ve karbamat pestisitlerine maruz kalan tarım işçilerinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktivitelerinde artış gözlemlenmiştir (Jalilian & ark., 2018). Bu durum, pestisitlerin oksidatif stres belirteçlerini artırdığını ve hücrel savunma mekanizmalarını etkilediğini göstermektedir. Bhadauriya, Parihar, ve Ganesh (2021) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı pestisitlerin nöronal hücrelerde ROS seviyelerini artırdığı ve stres granülü oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir. Ayrıca, lipid peroksidasyonu belirteçleri olan MDA ve TBARS gibi biyomarkerlerin, pestisit maruziyeti ile ilişkili olarak arttığı gözlemlenmiştir (Martín-Reina & ark., 2021). Bu bulgular, pestisitlerin oksidatif stres üzerindeki etkilerini ve bu etkilerin biyolojik sonuçlarını vurgulamaktadır.

Birçok ditiokarbamat (DTC), nöronal hasara yol açan intranöronal pestisitlerdir. Oksidatif stresi indükler, lipidlerin ve proteinlerin oksidasyon hasarına yol açar veya antioksidan

enzimleri etkisiz hale getirerek, nörotoksik etki oluşturur (Fitsanakis & ark., 2002; Nobel & ark., 1995). Hücresel bileşenler ROS metabolizmasını uyararak, hücre içi koruyucu ve düzenleyici süreçleri etkileyerek veya komple oksidatif stresin gelişmesiyle birlikte savunma mekanizması seviyesini düşürebilir (Abdollahi & ark., 2004; Banerjee, Seth, & Ahmed, 2001). ROS, DNA ile farklı şekillerde etkileşime girmesi ile genetik materyalde çeşitli mutasyonlara yol açarak genotoksisite sonucu Parkinson Hastalığı gibi hastalıklara sebep olabilir (Franco & ark., 2010).

Nitrozatif stres, pestisitler gibi belirli ksenobiyotik faktörlere maruz kalma sırasında NO veya ilgili türler indüklendiğinde, kritik protein sistein tiyollerinin (Snitrozilasyon) ve proteinlerin metallo kofaktörlerinin (Kofaktör olarak rol oynayan metal iyonları) nitrozilasyonuna yol açtığında ortaya çıkabilir. Nitrozilasyon, bir proteinin aktif metal iyon merkezine bağlanması veya proteinlerin yapısında bulunan demir, bakır, çinko gibi metallerle tepkimeye girerek, onların işlevlerini değiştirebilmektedir (Li, Jia, & Trush, 2016)

Sipermetrin ve permetrin içeren pestisitler, nitrik oksit (NO) ve Ca^{+2} seviyelerini yükseltir, RNS sinyalinin artırır, böylece hücrede oksidatif stresi artırır. Pestisitler ayrıca Keap1/Nrf2/ARE aktivasyonunun yanı sıra NF- κ B yoluna da yol açabilir. Artan RNS, lipid, protein ve DNA oksidasyonunu indükleyerek mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve apoptoz ile sonuçlanabilir (Sule, Condon, & Gomes, 2022). Uzun süreli pestisit maruziyeti sonucu artan ROS ve RNS'nin hücresel makromoleküllere (lipitler, proteinler ve nükleik asitler), hücre ölümüne ve doku hasarına ortaya konulmuştur (Drechsel & Patel, 2008).

3. İnsanlarda ve Hayvanlarda Pestisitlerin Reprodüktif Sistem Üzerine Etkisi

Pestisitlerin insanlarda ve hayvanlarda üreme sistemi üzerindeki etkileri, çevresel sağlık ve halk sağlığı açısından önemli bir konudur. Ancak, bu kimyasalların insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri giderek daha fazla dikkat çekmektedir. Özellikle, pestisit maruziyetinin üreme sağlığı üzerindeki etkileri hem insanlarda hem de hayvanlarda ciddi sorunlara yol açabilmektedir. Pestisit kalıntılarının çevremize yayılması ile arılar, kuşlar, memeliler, amfibiler ve balıklar gibi biyotayı (ekoloji) dengesine büyük ölçüde zarar vermektedir (Carvalho, 2017).

Binlerce Arktik fokunun ölümünün, Diklorodifeniltrikloroetan (DDT), Poliklorlu bifeniller (PCB'ler) ve dioksinler gibi kalıcı klorlu hidrokarbonların besin zincirinde birikmesiyle bağlantılı olduğu iddia edilmiştir. Bu kimyasallar yağda birikir ve hayvanların bağışıklık sistemlerini baskılar ve zayıflatır. Benzer şekilde Akdeniz'deki çizgili yunusların, Saint Lawrence kıyısındaki Beluga balinalarının ve Pasifik Okyanusu'ndaki deniz aslanlarının ölümlerinin zehirli kirleticilerin birikmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Cunningham & Cunningham, 1998).

PCB'ler, 20. yüzyılda endüstri ve tarımda yaygın olarak kullanılan son derece toksik organik kimyasal bileşiklerdir. 2001 yılında dünyada yasaklanmıştır. Bu zehirli madde kuşlarda, balıklarda ve göçmen tür hayvanlarda bulunduğu ortaya konulmuştur (Pesiakova & ark., 2018). Avrupa Birliği ülkelerinde suç olmasına rağmen halen birçok ülkede hayvanlara zarar vermek için kullanıldığı belirtilmektedir. Kuşların yaklaşık %52,5'inin pestisitlerle zehirlendiği ve ayrıca yabani memeli ölümlerinin başlıca sebeplerin başında olduğu bildirilmektedir. İspanya'da tarım, arıcılık, güvercin yetiştiriciliği gibi farklı alanlara zarar veren yabani

hayvanlardan korunmak için zehirli yemler kullanılmıştır. Bu nedenle yabani hayvan popülasyonunda azalma ve nesli tükenmesi tehlikesiyle karşı karşıya kalınmıştır (Ruiz-Suárez & ark., 2015).

Yapılan araştırmalar, pestisitlere maruz kalmanın özellikle erkeklerde önemli üreme toksisitesine yol açabileceğini göstermektedir. Örneğin yapılan çalışmada bir pestisit karışımının erkek ratlarda spermatozoa yoğunluğu, motilitesi ve canlılık dahil olmak üzere spermatolojik parametrelerinde azalmaya neden olduğunu göstererek, endokrin bozulması nedeniyle erkek üreme sağlığı üzerinde doğrudan bir etkiye işaret etmiştir (Bouabdallah & ark., 2021). Benzer şekilde, organofosfatlar ve piretroidler de dahil olmak üzere çeşitli pestisit sınıflarının insanlarda kısırlık ve diğer üreme sağlığı riskleriyle bağlantılı olduğunu vurgulayarak, risk altındaki popülasyonlar arasında farkındalık ve önleyici tedbirlere duyulan ihtiyacı vurgulamıştır (Fučić & ark., 2021).

Erkek üreme sağlığına ek olarak, pestisitlerin kadın üreme sistemleri üzerindeki etkileri de endişe vericidir. Pestisitler, özellikle intrauterin maruziyetin ardından, kadınlarda konjenital malformasyonlar ve kısırlık gibi olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (Silva & ark., 2023). Yapılan incelemede, pestisitlere kronik maruziyetin, özellikle çocuklar ve hamile kadınlar gibi hassas popülasyonlarda üreme ve gelişimsel olumsuz etkilere yol açabileceğini belirterek bunu desteklemektedir (Chetty-Mhlanga & ark., 2018). Ayrıca, pestisitlerin çevredeki varlığının, kadınlarda hormonal dengesizliklere ve regl düzensizlikleri de dahil olmak üzere artan üreme bozuklukları oranlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Yeiya & Emokpae, 2022).

Pestisitlerin üreme üzerindeki etkilerini ortaya koydukları mekanizmalar çok yönlüdür. Birçok pestisit, üreme sağlığı için hayati önem taşıyan hormon sinyal yollarına

müdahale ederek endokrin bozucular olarak hareket eder. Örneğin, biyolojik olarak parçalanabilirliği düşük olan lipofilik pestisitlerin, biyolojik dokularda birikme potansiyelleri nedeniyle özellikle endişe verici olduğunu ve uzun vadeli üreme işlev bozukluğuna yol açtığını belirtmiştir (Anlar, Bacanlı, & Başaran, 2021). Ratlarda yapılan çalışmalarda piretroid maruziyetinin üreme sonuçlarını olumsuz etkilediği bilinen oksidatif strese neden olduğunu bulunmuştur (Xu Zhang & ark., 2021). Bu oksidatif stres üreme organlarında hücresel hasara yol açarak pestisit maruziyetinin etkilerini daha da karmaşık hale getirebilir.

4. Antioksidanlar

Vücut, serbest radikallerin yol açtığı hasarlara karşı koymak için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Vücudun temel ve en önemli savunma mekanizması antioksidan ajanlardır (Abdollahi & ark., 2004). Antioksidan terimi, hedef bir molekülde oksidatif hasarı geciktiren, önleyen veya ortadan kaldıran herhangi bir madde olarak ifade edilmektedir (Halliwell, 2007). Valko, Morris, ve Cronin (2005), antioksidanı oksidasyonu önleyebilen herhangi bir madde olarak tanımlamıştır. SOD'lerin oksijen radikallerine, özellikle mitokondriyal solunum ve çeşitli metabolik reaksiyonlar tarafından üretilen başlıca süperoksit anyonuna ($O_2^{\bullet-}$) karşı ilk savunma hattını sağladığı düşünülmektedir. SOD'ler potansiyel olarak tehlikeli süperoksit anyonlarını H_2O_2 'ye dönüştürerek biyolojik sistemlerden uzaklaştırırken, peroksizomlarda bulunan CAT, H_2O_2 molekülünün O_2 'ye ve H_2O molekülünün dönüşümünü katalize eder.

En çok bulunan hücre içi antioksidan olan glutatyon (GSH), hücrelerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli rol oynar (Sule, Condon, & Gomes, 2022). Bazen endojen antioksidan sistem yetersiz hale gelir ve indüklenen oksidatif stresi yok edemez (Saad-Hussein & ark., 2019). Çoğu çalışma,

enzimatik antioksidan sistemlerinde değişiklikler sergileyen hayvan modellerinde pestisit kaynaklı toksisiteye karşı ekzojen antioksidan vitamin ve minerallerin potansiyel koruyucu etkisini ortaya koymuştur. Pestisit kaynaklı oksidatif strese karşı C ve E vitaminleri gibi antioksidan vitaminlerin, çinko gibi minerallerin, N-asetil sistein ve epikateşin gibi diğer doğal olarak bulunan antioksidanların koruyucu rolü bulunmaktadır (Sule, Condon, & Gomes, 2022).

İmmünokompetan hücreler, sitokinler, kemokinler, ROS ve RNS gibi inflamatuvar ajanları salgılamakta rol oynar. Özellikle, sitokinler, ilgili reseptörlerine spesifik bağlanma yoluyla doğuştan gelen veya kazanılmış bağışıklığı, hematopoezi, 19 inflamatuvar süreçleri ve diğer birçok hücressel aktiviteyi düzenleyebilir. Günümüzde birçok antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenen maddeler bulunmaktadır ve her birinin spesifik aktiviteleri vardır genellikle vücudun genel antioksidan kapasitesini arttırmak için sinerjik olarak etkinliklerini göstermektedir (Gangemi & ark., 2016).

4.1. Pestisitlerin Zararlı Etkilerine Karşı Antioksidanların Koruyucu Rolü

Antioksidanlar, pestisitlerin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini azaltmada çok önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli alışmalar, C ve E vitaminleri gibi diyet antioksidanlarının pestisit kaynaklı toksisiteye karşı koruma sağlayabileceğini göstermiştir. Örneğin, pestisit bendiokarb'a maruz kalan ratlar üzerinde yapılan bir alışma, C ve E vitaminleri ile takviyenin oksidatif stresin biyokimyasal belirteçlerini önemli ölçüde azalttığını ve pestisit toksisitesine karşı koruyucu bir etki gösterdiğini ortaya (Apaydin & ark., 2018). Benzer şekilde, Rai & ark. (2009), tarafından erkek albino Wistar farelerinde yapılan C vitamini tedavisinin, farelerin eritrositlerinde karbofuranın neden olduğu oksidatif stresi önlediğini bulmuşlardır. Jaiswal, Siddiqi, ve Sharma

(2013) arkadaşları, C vitamininin karbofuran ile tedavisinde, oksidatif stres biyobelirteçlerinin değişen seviyelerinde önemli iyileşme sağladığını göstermiştir. Ayrıca likopen uygulamasının pestisit karışımlarının insan lenfositleri üzerindeki sitotoksik etkilerine karşı koyduğu bildirilmiş ve doğal antioksidanların hücresel bütünlüğü koruma potansiyeli vurgulanmıştır (Aslantürk & Çelik, 2016).

Yousef, Awad & Mohamed (2006), deltametrin ile zehirlenen farelerin E vitaminine maruz kaldığında GST ve SOD düzeylerinin arttığını ve lipit peroksidasyon düzeylerinin düştüğünü göstermiştir. Böylece, E vitamini, erkek Sprague Dawley farelerinde faydalı etkilerini sergileyerek, gözlemlenen deltamethrin zararlı etkilerini hafifletmiştir. Erkek Wistar farelerinde, E vitamini iyileştirici etkilerini SOD, CAT, GPx ve GST gibi endojen antioksidan enzimlerin seviyelerini düzenleyerek etki göstermiştir, sonuç olarak atrazinin neden olduğu oksidatif strese karşı potansiyel antioksidan rolünü olduğunu düşündürmüştür (Singh, Sandhir, & Kiran, 2010).

John & ark. (2001), tarafından yürütülen bir çalışmada, farelerde dimetoat ve malation ile tedavisinin eritrositlerdeki lipit peroksidasyon seviyelerini arttırdığını bulmuştur; ayrıca, dimetoat ve malation uygulanmadan önce farelere E vitamini verilmiş eritrositlerde ve lipit peroksidasyon seviyelerinde azalma göstermiştir. Sonuç olarak E vitamininin, lipit peroksidasyonunu azaltarak ve eritrositlerdeki antioksidan savunma sistemlerini arttırarak dimetoat ve malation kaynaklı oksidatif stresi 22 iyileştirebileceğini göstermektedir.

Amara & ark. (2011), farelerin 30 gün boyunca dimetoata maruz kalmasının, artan lipit peroksidasyon, azalan GSH, protein olmayan tiyol seviyeleri azalması nedeniyle oksidatif strese yol açmıştır. GPx, SOD ve CAT aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir, fakat farelerde diyet yoluyla selenyum ve/veya E vitamininin birlikte uygulanması, oksidatif stres biyo

belirteçlerini iyileştirmiştir. Bu sonuçlar, E vitamini kullanımının bazı pestisitlerin zararlı etkilerinin çoğunu önleyebileceğini veya azaltılabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca, bitki özleri ve diğer doğal bileşikler, pestisit kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu etkiler sağlama konusunda umut vaat etmektedir. Çemen otunun sulu ekstresinin sipermetrin kaynaklı hepatotoksisite ve nefrotoksisiteyi önlediği bulunmuş ve pestisit toksisitesiyle mücadelede bitkisel ilaçların potansiyelinin altı çizilmiştir (Sushma & Devasena, 2010). Ayrıca, sarımsak ekstresi hayvan modellerinde pestisitlerin neden olduğu biyokimyasal değişikliklere karşı koruyucu etkiler göstererek doğal antioksidanların pestisit toksisitesini azaltmadaki rolünü daha da desteklemiştir (Abouzaid, El-Mageid, & Alsadek, 2015).

Antioksidanların koruyucu etkilerini gösterdikleri mekanizmalar, vücudun antioksidan savunma sistemlerinin geliştirilmesini içerir. Örneğin, antioksidanlar süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi ROS'u detoksifiye etmek için hayati önem taşıyan kilit enzimlerin aktivitesini artırabilir (Garshin, 2023). Ayrıca, antioksidanlar serbest radikalleri doğrudan temizleyerek hücresel bileşenlerde oksidatif hasarı azaltabilir (Ozdem & ark., 2011). Vücudun oksidatif strese karşı adaptif tepkisi genellikle antioksidan enzimlerin yukarı regülasyonunu içerir, bu da dengeyi yeniden sağlamaya ve daha fazla hasara karşı korumaya yardımcı olabilir (Samareh & ark., 2022; Zepeda-Arce & ark., 2017). Pestisitlerin erkek reproduktif sistem etkilerine karşı antioksidanların koruyucu rolleri üzerine son beş yılda yapılan çalışmalar Tablo 7’te gösterilmektedir.

Tablo 10. Bazı pestisitlerin toksik etkisine karşı kullanılmış antioksidan çalışmaları

Yazarlar	Hayvan Türü	Kullanılan Kimyasal Ajanlar/ Kullanılan Antioksidan	Yapılan İncelemeler
Ata & ark. (2007)	Yeni Zelanda Beyazı (NZW) Tavşan	Endosülfan (Organoklorlu)/ Vitamin C (Askorbik asit)	Vit C'nin spermatolojik parametrelerinde (Yoğunluk, motilite, ölü-canlı, anormal spermatozoa) endosulfanın toksik etkilerini nötralize etmede yararlı olduğu bulunmuştur.
Ben Abdallah & ark. (2012)	Erkek Wistar Fare	Dimetoata (Organofosfat)/ Vitamin C + Vitamin E	Dimetoata, spermatozoa motilite, canlılığı ve morfolojide önemli azalmaya neden olmuştur. SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde önemli bir azalma ve oksidatif strese yol açmıştır. Dimetoata tarafından indüklenen sitotoksik etkilere karşı önemli bir koruma göstermiştir

Tablo 7. (Devamı)

Yazarlar	Hayvan Türü	Kullanılan Kimyasal Ajanlar/ Kullanılan Antioksidan	Yapılan İncelemeler
Hussein, Elnaggar, ve Al-Zahrani (2012)	Erkek Fare	Cyhalothrin (Sihalthrin-Organofosfat)/ Folik Asit (Vitamin B)	Cyhalothrin, fertilité indeksini ve testislerin ağırlığını önemli ölçüde azaltmıştır. Seminifer tübüllerde orta ve şiddetli dejeneratif değişiklikler ve spermatogenez aksaması ile karakterize edilen testis lezyonlarına neden oldu. Folik asidin Cyhalothrin uygulanması ile üreme toksisitesini azaltmıştır
Sharma, Khan, ve Singh (2018)	Erkek Wistar Fare	Sipermetrin (Cyp) ve deltamethrin (Del) (Sentetik piretroid)/ Kurkumin ve kuersetin/ Flavonoid	Cyp ve Del'e maruz kalma, üreme organlarının ağırlığında, spermatozoa konsantrasyonunda, spermatozoa motilitesinde, hormonal seviyede, oksidatif stres seviyelerinde artış neden olmuştur. Curcumin ve quercetin, tek ve kombine tedavi, üreme sisteminde Cyp ve Del kaynaklı hasarı önemli ölçüde iyileştirmiştir.
Murad & ark. (2020)	Yeni Zelanda Tavşan	Sipermetrin (Sentetik piretroid)/ Berberine (alkaloid)	Üreme organı ağırlıklarındaki hasarı önemli derece azaltmıştır. Serum testosteron, LH ve FSH seviyeleri, iyileşme gözlemlenmiştir.

Tablo 7. (Devamı)

Yazarlar	Hayvan Türü	Kullanılan Kimyasal Ajanlar/ Kullanılan Antioksidan	Yapılan İncelemeler
Bakır & ark. (2020)	Erkek Wistar Fare	Dimetoata (Orgonofosfat) /Karayemiş (Laurocerasus officinalis Roemer, Taflan) meyvesi	Vücut ve üreme organı ağırlıklarını, spermatolojik parametrelerde, oksidatif stres parametreleri ve histopatolojik hasarlara neden olurken, Kiraz defne özü, dimetoata kaynaklı birçok olumsuz etkiyi önemli ölçüde iyileştirmiştir.
Kheradmandi & ark. (2019)	Balb/c Fare	Chlorpyrifos (Orgonofosfat)/ N-Asetil Sistein'in (NAC)	NAC, CPF'nin neden olduğu spermatogonia, spermatositler, spermatid hücre sayıları ve spermatolojik parametrelerinde meydana gelen hasarları önemli ölçüde iyileştirmiştir.
Khalaf & ark. (2022)	Erkek Wistar Fare	Chlorpyrifos (Orgonofosfat)/ Çinko	CPF, vücut ve üreme organlarının ağırlıklarında, spermatolojik parametreleri, serum testosteronunda, FSH'de ve LH'de önemli bir azalmaya neden olmuştur. Zn ile tedavi, meydana gelen hasarları önemli ölçüde iyileştirmiştir.

Sonuç

Günümüzde yaygın olarak kullanılan pestisitlerin üreme üzerine toksik etkisi, ön plana çıkmaktadır. Yapılan birçok çalışmalarda son zamanlarda pestisit kullanımından ya da maruziyetinden kaynaklı insan ve hayvan fertilitede kayıpların meydana geldiğini bildirilmiştir. Bu durumun oranı pestisitlere maruz kalma süresi ile doğrudan ilişkilidir. Pestisitler, çoklu mekanizmalar yoluyla testis metabolizmasına müdahale ve toksik etki edebilir. Tüm pestisit sınıflarının farklı hücre tiplerinde ve hayvan modellerinde oksidatif stresi, RNS'yi ve ROS'u indüklemesi sonucu yol açtığı hasarlar pestisit toksisitesinin en önemli mekanizmalarından biri olduğunu göstermektedir. Yüksek oksidatif stres seviyeleri çeşitli yollarla hücre apoptozuna ve DNA hasarına neden olur. Pestisit toksisitesine dahil olan mekanizmaları, pestisitlerin oksidatif strese neden olduğu moleküler mekanizmaları anlamak önemli olduğundan daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres ve çeşitli enzimatik seviyelerdeki değişiklikleri hafifletmek için güçlü antioksidan etkinlik gösteren vitaminlerin minerallerin enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar kullanımının pestisit kaynaklı toksisiteye karşı iyileştirici etkileri olduğu belirtilmektedir. Pestisitlerin üreme sistemi üzerindeki toksisitesinin azaltılmasında antioksidanların etkisi kritik bir öneme sahiptir. Oksidatif stresin azaltılması, hücresel hasarın önlenmesi ve hormonal dengenin korunması açısından antioksidanların kullanımı, pestisit maruziyetinin olumsuz etkilerini hafifletmek için etkili bir strateji sunmaktadır. Gelecek araştırmalar, bu antioksidanların mekanizmalarını daha iyi anlamak ve tarımda pestisit kullanımının azaltılması için alternatif yöntemler geliştirmek amacıyla önem taşımaktadır. Bu bağlamda, antioksidanların potansiyelinden yararlanmak hem tarım işçileri hem de genel halk sağlığı için kritik bir adım olacaktır. Pek çok nedenle kullanılan pestisitlerin olası zararlı etkilerinden

korunmak için; insanları bilinçlendirmeli ve pestisitlerin zararlı etkilerine azaltacak yöntemler için daha fazla araştırmalar yapılmalıdır.

Kaynaklar

Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A. (2004). Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.

Abouzaid, O., El-Mageid, A. A., & Alsadek, E. (2015). Protective and Treatment Effect of Garlic Extract on Biochemical Changes Induced by Pesticides in Rats. *Benha Veterinary Medical Journal*, 29(1), 205-213. doi:10.21608/bvmj.2015.31820

Adebayo, O. A., Akinloye, O., & Adaramoye, O. A. (2017). Cerium Oxide Nanoparticle Elicits Oxidative Stress, Endocrine Imbalance and Lowers Sperm Characteristics in Testes of Balb/C Mice. *Andrologia*, 50(3), e12920. doi:10.1111/and.12920

Afshar, A., Aliaghaei, A., Nazarian, H., Abbaszadeh, H.-A., Naserzadeh, P., Fathabadi, F. F., Abdi, S., Raei, P., Aghajani, F., & Norouzi, M. (2021). Curcumin-loaded iron particle improvement of spermatogenesis in azoospermic mouse induced by long-term scrotal hyperthermia. *Reproductive Sciences*, 28, 371-380.

Agrawal, S., & Rathore, P. (2014). Nanotechnology pros and cons to agriculture: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 43-55.

Akdoğan, A., Divrikli, Ü., & Elçi, L. (2012). Pestisitlerin önemi ve ekosisteme etkileri. *Akademik Gıda*, 10(1), 125-132.

Aksüt, G. (2024). Evaluation of Personal Protective Equipment to Protect Health and Safety in Pesticide Use. *Frontiers in Applied Mathematics and Statistics*, 9. doi:10.3389/fams.2023.1305367

Alemdar, H., & Tirpan, M. B. (2023). A Novel Approach to Sperm Selection: Nanoparticle-Based Purification Improves Quality of Angora Cryopreserved Buck's Semen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(4), 4881-4890. doi:10.12681/jhvms.28206

Álvarez-Chimal, R. (2023). Green Synthesis of Nanoparticles: A Biological Approach. In *Advances in Green Chemistry: Scientific Research*.

Amara, I. B., Soudani, N., Troudi, A., Bouaziz, H., Boudawara, T., & Zeghal, N. (2011). Antioxidant effect of vitamin E and selenium on hepatotoxicity induced by dimethoate in female adult rats. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74(4), 811-819.

Anlar, H., Bacanlı, M., & Başaran, N. (2021). Endocrine Disrupting Mechanisms and Effects of Pesticides. *Arhiv Za Farmaciju*, 71(6), 480-490. doi:10.5937/arhfarm71-34291

Aoujil, F. (2024). Sustainability Indicators for the Environmental Impact Assessment of Plant Protection Products Use in Moroccan Vineyards. *Horticulturae*, 10(5), 473. doi:10.3390/horticulturae10050473

Apaydin, F. G., Pandir, D., Kalender, S., Baş, H., & Kalender, Y. (2018). Hematoprotective Effect of Vitamins C and E Against Subchronic Toxicity of Bendiocarb: Biochemical Evidences. *Journal of Food Biochemistry*, 42(6), e12659. doi:10.1111/jfbc.12659

Arularasu, M. V., Anbarasu, M., Poovaragan, S., Sundaram, R., Kanimozhi, K., Magdalane, C. M., Kaviyarasu, K., Thema, F. T., Letsholathebe, D., Mola, G. T., & Maaza, M. (2018). Structural, Optical, Morphological and Microbial Studies on SnO₂ Nanoparticles Prepared by Co-Precipitation

Method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(5), 3511-3517. doi:10.1166/jnn.2018.14658

Arvidsson, R., Molander, S., Sandén, B. A., & Hassellöv, M. (2011). Challenges in Exposure Modeling of Nanoparticles in Aquatic Environments. *Human and Ecological Risk Assessment an International Journal*, 17(1), 245-262. doi:10.1080/10807039.2011.538639

Aslantürk, Ö. S., & Çelik, T. A. (2016). Protective Effect of Lycopene Against Cytotoxic and Genotoxic Effects Induced by Mixture of Two Pesticides (Dimethoate and Lambda-Cyhalothrin) on Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Caryologia*, 69(1), 20-28. doi:10.1080/00087114.2015.1109936

Ata, A., Hatipoglu, F., Yildiz-Gulay, O., & Gulay, M. (2007). Protective role of ascorbic acid on subacute sperm toxicity in male New Zealand white rabbits treated with endosulfan. *Drug and chemical toxicology*, 30(3), 181-195.

Ayyıldız, M. (2022). Türkiye’de kimyasal pestisit kullanımının ekonomi ve çevre yönüyle değerlendirmesi. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(2), 267-274.

Bai, Y., Zhang, Y., Zhang, J., Mu, Q., Zhang, W., Butch, E. R., Snyder, S. E., & Yan, B. (2010). Repeated Administrations of Carbon Nanotubes in Male Mice Cause Reversible Testis Damage Without Affecting Fertility. *Nature Physics*, 5(9), 683-689. doi:10.1038/nnano.2010.153

Bakır, E., Sarıözkan, S., Endirlik, B. Ü., Kılıç, A. B., Yay, A. H., Tan, F. C., Eken, A., & Türk, G. (2020). Cherry laurel fruit extract counters dimethoate-induced reproductive impairment and testicular apoptosis. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 71(4), 329-338.

Balci, H., Ersin, F., & Durmuşoğlu, E. (2020). A Determination of the Effects of Classical and Nano-

Formulations of *Azadirachta Indica* A. Juss (Meliaceae) and *Melaleuca Alternifolia* (Maiden & Betcher) Cheele (Myrtaceae) Extracts on *Tetranychus Urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and *Amblyseius Swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 11(2), 237-251. doi:10.31019/tbmd.807315

Baldrighi, J., Sá Filho, M. F. d., Batista, E. d. O. S., Lopes, R., Visintin, J. A., Baruselli, P. S., & Assumpção, M. (2014). Anti-Müllerian Hormone Concentration and Antral Ovarian Follicle Population in Murrah Heifers Compared to Holstein and Gyr Kept Under the Same Management. *Reproduction in domestic animals*, 49(6), 1015-1020.

Balkan, T. (2023). Antalya'da Yetiştirilen Narlarda Pestisit Kalıntılarının Belirlenmesi Ve Sağlık Risk Değerlendirmesi. *Gıda / the Journal of Food*, 48(5), 993-1003. doi:10.15237/gida.gd23063

Banerjee, B. D., Seth, V., & Ahmed, R. S. (2001). Pesticide-induced oxidative stress: perspective and trends. *Reviews on environmental health*, 16(1), 1-40.

Barkalina, N., Charalambous, C., Jones, C., & Coward, K. (2014). Nanotechnology in reproductive medicine: emerging applications of nanomaterials. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 10(5), e921-e938.

Baruselli, P. S., Batista, E. O. S., Vieira, L. M., & Souza, A. (2018). Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. *Animal Reproduction (AR)*, 12(3), 487-497.

Batista, E., Macedo, G., Sala, R., Ortolan, M. D. D. V., Sá Filho, M. F. d., Del Valle, T. A., Jesus, E. F. d., Lopes, R., Rennó, F. P., & Baruselli, P. S. (2014). Plasma antimüllerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in

Bos indicus (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reproduction in domestic animals*, 49(3), 448-452.

Bekheet, S. H. (2010). Cadmium Chloride Rapidly Alters Both BTB Tight Junction Proteins and Germ Cells in Young Rat Testes. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences B Zoology*, 2(1), 59-64. doi:10.21608/eajbsz.2010.15916

Ben Abdallah, F., Fetoui, H., Zribi, N., Fakfakh, F., & Ammar-Keskes, L. (2012). Antioxidant supplementations in vitro improve rat sperm parameters and enhance antioxidant enzyme activities against dimethoate-induced sperm damages. *Andrologia*, 44, 272-279.

Bhadauriya, P., Parihar, R., & Ganesh, S. (2021). Pesticides DEET, Fipronil and Maneb Induce Stress Granule Assembly and Translation Arrest in Neuronal Cells. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 28, 101110. doi:10.1016/j.bbrep.2021.101110

Bhattacharya, S., & Majumdar nee Paul, S. (2023). Application of conventional metallic nanoparticles on male reproductive system—challenges and countermeasures. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 69(1), 32-49.

Bhatti, R., Shakeel, H., Malik, K., Qasim, M., Khan, M., Ahmed, N., & Jabeen, S. (2021). Inorganic Nanoparticles: Toxic Effects, Mechanisms of Cytotoxicity and Phytochemical Interactions. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. doi:10.34172/apb.2022.077

Bisiau, C., Moffett, P., Graham, J., & McCue, P. (2024). Comparison of Nanoparticles and Single-Layer Centrifugation for Separation of Dead from Live Stallion Spermatozoa. *Veterinary Sciences*, 11(7), 307.

Blanco, E., Shen, H., & Ferrari, M. (2015). Principles of Nanoparticle Design for Overcoming Biological Barriers to Drug Delivery. *Nature Biotechnology*, 33(9), 941-951. doi:10.1038/nbt.3330

Bouabdallah, N., Mallem, L., Abdenmour, C., A, C., & Tektak, M. (2021). Toxic Impacts of a Mixture of Three Pesticides on the Reproduction and Oxidative Stress in Male Rats. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10(1), 1-9. doi:10.31893/jabb.22004

Boyes, W. K., & van Thriel, C. (2020). Neurotoxicology of nanomaterials. *Chemical research in toxicology*, 33(5), 1121-1144.

Bulmus, O., Sandal, S., Sahin, Z., Yildiz, S., & Yilmaz, B. (2021). ENDOSULFAN, CYPERMETHRİN, 2,4-D Ve TRİFLURALİN'İN ANDROJENİK Ve ANTİ-ANDROJENİK ETKİLERİNİN HERSHBERGER METODUYLA ARAŞTIRILMASI. *Balıkesir Medical Journal*. doi:10.33716/bmedj.954025

Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and energy security*, 6(2), 48-60.

Çelebioğlu, H. U., İmamoğlu, R., & Taş, R. (2021). *Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles Using Trachystemon Orientalis L. And Their Antibacterial Activities*. Paper presented at the 13th International Conference on Nanomaterials - Research & Application, Orea Congress Hotel Brno, Czech Republic, EU.

Chetty-Mhlanga, S., Basera, W., Fuhrmann, S., Probst-Hensch, N., Delpont, S., Mugari, M., Wyk, J. C. V., Rössli, M., & Dalvie, M. A. (2018). A Prospective Cohort Study of School-Going Children Investigating Reproductive and Neurobehavioral Health Effects Due to Environmental Pesticide

Exposure in the Western Cape, South Africa: Study Protocol. *BMC Public Health*, 18(1). doi:10.1186/s12889-018-5783-0

Chèze, B., David, M., & Martinet, V. (2020). Understanding Farmers' Reluctance to Reduce Pesticide Use: A Choice Experiment. *Ecological Economics*, 167, 106349. doi:10.1016/j.ecolecon.2019.06.004

Codrington, J., Varnum, A. A., Hildebrandt, L., Pröfrock, D., Bidhan, J., Khodamoradi, K., Höhme, A.-L., Held, M., Evans, A., Velasquez, D., Yarborough, C. C., Ghane-Motlagh, B., Agarwal, A., Achua, J., Pozzi, E., Mesquita, F., Petrella, F., Miller, D., & Ramasamy, R. (2024). Detection of microplastics in the human penis. *International Journal of Impotence Research*. doi:10.1038/s41443-024-00930-6

Cormode, D. P., Naha, P. C., & Fayad, Z. A. (2014). Nanoparticle contrast agents for computed tomography: a focus on micelles. *Contrast media & molecular imaging*, 9(1), 37-52.

Cunningham, W. P., & Cunningham, M. A. (1998). Principles of environmental science. *Inquiry & Applications* (McGraw-Hill, NY 2008).

Dáder, B., Colomer, I., Adán, A., Medina, P., & Viñuela, E. (2019). Compatibility of Early Natural Enemy Introductions in Commercial Pepper and Tomato Greenhouses With Repeated Pesticide Applications. *Insect Science*, 27(5), 1111-1124. doi:10.1111/1744-7917.12723

Deng, Y., Meng, X., Ling, C., Lu, T., Chang, H., Li, L., Yang, Y., Song, G., & Ding, Y. (2022). Nanosized Titanium Dioxide Induced Apoptosis and Abnormal Expression of Blood-Testis Barrier Junction Proteins Through JNK Signaling Pathway in TM4 Cells. *Biological Trace Element Research*, 200(12), 5172-5187. doi:10.1007/s12011-022-03099-5

Dennis, N. A., Houghton, L. A., Jones, G. T., Van Rij, A. M., Morgan, K., & McLennan, I. S. (2012). The level of serum anti-Müllerian hormone correlates with vitamin D status in men and women but not in boys. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(7), 2450-2455.

Dogan, F., & Karpuzcu, M. E. (2019). Current Status of Agricultural Pesticide Pollution in Turkey and Evaluation of Alternative Control Methods. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 25(6), 734-747. doi:10.5505/pajes.2018.53189

Domínguez, E., Moreno-Irusta, A., Castex, H. R., Bragulat, A. F., Ugaz, C., Clemente, H., Giojalas, L., & Losinno, L. (2018). Sperm sexing mediated by magnetic nanoparticles in donkeys, a preliminary in vitro study. *Journal of Equine Veterinary Science*, 65, 123-127.

Donkin, I., & Barrès, R. (2018). Sperm epigenetics and influence of environmental factors. *Molecular Metabolism*, 14, 1-11. doi:10.1016/j.molmet.2018.02.006

Drechsel, D. A., & Patel, M. (2008). Role of reactive oxygen species in the neurotoxicity of environmental agents implicated in Parkinson's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(11), 1873-1886.

Du, S., Li, W., Zhang, Y., Xue, Y., Hou, X., Yan, J., Cheng, J., Deng, B., McComb, D. W., & Lin, J. (2023). Cholesterol-Amino-Phosphate (CAP) Derived Lipid Nanoparticles for Delivery of Self-Amplifying RNA and Restoration of Spermatogenesis in Infertile Mice. *Advanced science*, 10(11), 2300188.

Duchet, C., Moraru, G. M., Spencer, M., Saurav, K., Bertrand, C., Fayolle, S., Gershberg Hayoon, A., Shapir, R., Steindler, L., & Blaustein, L. (2018). Pesticide-mediated trophic

cascade and an ecological trap for mosquitoes. *Ecosphere*, 9(4), e02179.

Durán, N., Nakazato, G., & Seabra, A. B. (2016). Antimicrobial Activity of Biogenic Silver Nanoparticles, and Silver Chloride Nanoparticles: An Overview and Comments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(15), 6555-6570. doi:10.1007/s00253-016-7657-7

Durfey, C. L., Swistek, S. E., Liao, S. F., Crenshaw, M. A., Clemente, H. J., Thirumalai, R., Steadman, C. S., Ryan, P. L., Willard, S. T., & Feugang, J. M. (2019). Nanotechnology-based approach for safer enrichment of semen with best spermatozoa. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10, 14. doi:10.1186/s40104-018-0307-4

Dzido, G., Markowski, P., Małachowska-Jutcz, A., Prusik, K., & Jarzębski, A. B. (2015). Rapid Continuous Microwave-Assisted Synthesis of Silver Nanoparticles to Achieve Very High Productivity and Full Yield: From Mechanistic Study to Optimal Fabrication Strategy. *Journal of Nanoparticle Research*, 17(1). doi:10.1007/s11051-014-2843-y

Ealia, S. A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). *A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application*. Paper presented at the IOP conference series: materials science and engineering.

Eilsø, M., Rasmussen, I., Fukuda, M., Westergaard, L., & Yding Andersen, C. (2010). Concentrations of anti-Müllerian hormone in fluid from small human antral follicles show a negative correlation with CYP19 mRNA expression in the corresponding granulosa cells. *Molecular Human Reproduction*, 16(9), 637-643.

Ercan, F., & Elmas, M. A. (2022). The Alterations of Blood-Testis Barrier in Experimental Testicular Injury Models. *Marmara Medical Journal*. doi:10.5472/marumj.1114971

Fadl, A., Abdelnaby, E., El-seadawy, I., Kotp, M., El-Maaty, A. M. A., & El-Sherbiny, H. (2022). Eco-friendly synthesized zinc oxide nanoparticles improved frozen-thawed semen quality and antioxidant capacity of Rams. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 12(3), 259-264.

Falchi, L., Galleri, G., Dore, G. M., Zedda, M. T., Pau, S., Bogliolo, L., Ariu, F., Pinna, A., Nieddu, S., Innocenzi, P., & Ledda, S. (2018). Effect of exposure to CeO(2) nanoparticles on ram spermatozoa during storage at 4 °C for 96 hours. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 19. doi:10.1186/s12958-018-0339-9

FAO. (2022). *Pesticides Trade* Rome, Italy: FAOSTAT.

FAO. (2023). *World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2023*. Rome, Italy: FAO.

Fazal, A., Ismail, A., Naeem, I., Carlos Augusto Fernandes de, O., Shaukat, S., Saleem, M., Saima, S., Nasir, U., Alam, A., Aslam, Z., & Aslam, R. (2022). Exposure Assessment of Selected Pesticide Residues Using Occurrence Data in Foods and Serum Samples in Pakistan. *Food Science and Technology*, 42. doi:10.1590/fst.01222

Fernández-Pampín, N., Plaza, J. J. G., García, A., Peña, E., Rumbo, C., Barros, R., Martel-Martín, S., Aparicio, S., & Tamayo-Ramos, J. A. (2022). Toxicology Assessment of Manganese Oxide Nanomaterials With Enhanced Electrochemical Properties Using Human *in Vitro* Models Representing Different Exposure Routes. *Scientific Reports*, 12(20991). doi:<https://doi.org/10.1038/s41598-022-25483-w>

Feugang, J. M. (2017). Novel agents for sperm purification, sorting, and imaging. *Molecular Reproduction and Development*, 84(9), 832-841.

Filon, F. L., Bello, D., Cherrie, J. W., Sleenwenhoek, A., Spaan, S., & Brouwer, D. H. (2016). Occupational Dermal Exposure to Nanoparticles and Nano-Enabled Products: Part I—Factors Affecting Skin Absorption. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 219(6), 536-544. doi:10.1016/j.ijheh.2016.05.009

Fitsanakis, V. A., Amarnath, V., Moore, J. T., Montine, K. S., Zhang, J., & Montine, T. J. (2002). Catalysis of catechol oxidation by metal-dithiocarbamate complexes in pesticides. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(12), 1714-1723.

Franco, R., Li, S., Rodriguez-Rocha, H., Burns, M., & Panayiotidis, M. I. (2010). Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease. *Chemico-biological interactions*, 188(2), 289-300.

Fraser, B., Peters, A. E., Sutherland, J. M., Liang, M., Rebourcet, D., Nixon, B., & Aitken, R. J. (2021). Biocompatible nanomaterials as an emerging technology in reproductive health; a focus on the male. *Frontiers in physiology*, 12, 753686.

Fučić, A., Duca, R. C., Galea, K. S., Marić, T., García, K., Bloom, M. S., Andersen, H. R., & Vena, J. E. (2021). Reproductive Health Risks Associated With Occupational and Environmental Exposure to Pesticides. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(12), 6576. doi:10.3390/ijerph18126576

Gamal, A., Kortam, L. E., Ghareeb, A., & Heba Ali Abd El, R. (2022). Assessment of the Potential Toxic Effect of Magnetite Nanoparticles on the Male Reproductive System

Based on Immunological and Molecular Studies. *Andrologia*, 54(11). doi:10.1111/and.14613

Gamarra, G., Ponsart, C., Lacaze, S., Le Guienne, B., Humblot, P., Deloche, M.-C., Monniaux, D., & Ponter, A. (2015). Dietary propylene glycol and in vitro embryo production after ovum pick-up in heifers with different anti-Müllerian hormone profiles. *Reproduction, Fertility and Development*, 27(8), 1249-1261.

Gangemi, S., Gofita, E., Costa, C., Teodoro, M., Briguglio, G., Nikitovic, D., Tzanakakis, G. N., Tsatsakis, A., Wilks, M. F., Spandidos, D. A., & Fenga, C. (2016). Occupational and Environmental Exposure to Pesticides and Cytokine Pathways in Chronic Diseases (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 38(4), 1012-1020. doi:10.3892/ijmm.2016.2728

Garshin, A. (2023). Individual Risk Assessment for Population Living on the Territories Long-Term Polluted by Organochlorine Pesticides. *Toxics*, 11(6), 482. doi:10.3390/toxics11060482

Gesesew, H. A., Woldemichael, K., Massa, D., & Mwanri, L. (2016). Farmers Knowledge, Attitudes, Practices and Health Problems Associated With Pesticide Use in Rural Irrigation Villages, Southwest Ethiopia. *Plos One*, 11(9), e0162527. doi:10.1371/journal.pone.0162527

Ghanem, N., Jin, J., Kim, S.-S., Choi, B., Lee, K., Ha, A., Song, S., & Kong, I. (2016). The anti-Müllerian hormone profile is linked with the in vitro embryo production capacity and embryo viability after transfer but cannot predict pregnancy outcome. *Reproduction in domestic animals*, 51(2), 301-310.

Ghimire, N., & Woodward, R. T. (2013). Under-and over-use of pesticides: An international analysis. *Ecological Economics*, 89, 73-81.

Goetz, N. v., Lorenz, C., Windler, L., Nowack, B., Heuberger, M., & Hungerbühler, K. (2013). Migration of Ag-And TiO_2 -(Nano)particles From Textiles Into Artificial Sweat Under Physical Stress: Experiments and Exposure Modeling. *Environmental Science & Technology*, 47(17), 9979-9987. doi:10.1021/es304329w

Gromadzka-Ostrowska, J., Dziendzikowska, K., Lankoff, A., Dobrzyńska, M. M., Instanes, C., Brunborg, G., Gajowik, A., Radzikowska, J., Wojewódzka, M., & Kruszewski, M. (2012). Silver Nanoparticles Effects on Epididymal Sperm in Rats. *Toxicology Letters*, 214(3), 251-258. doi:10.1016/j.toxlet.2012.08.028

Guerreiro, B., Batista, E., Vieira, L., Sá Filho, M., Rodrigues, C. A., Netto, A. C., Silveira, C. R. A., Bayeux, B., Dias, E., & Monteiro, F. (2014). Plasma anti-mullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from Bos taurus and Bos indicus donors. *Domestic animal endocrinology*, 49, 96-104.

Günay, T., & Altınok, Ö. C. N. (2024). Drivers of Capia Pepper Farmers' Intentions and Behaviors on Pesticide Use in Turkey: A Structural Equation Model. *Journal of Agricultural Sciences*, 30(2), 243-254.

Güngör, İ., Cinkara, S., Acisu, T., Arkali, G., Koca, R., Akarsu, S., Can, C., Kaya, Ş., Kizil, M., Çakır, A., Fırat, F., Halıcı, M., Yılmaz, İ., Badıllı, N., Yüce, A., Gür, S., Sönmez, M., & Türk, G. (2021). Effect of Hydrated Carbon 60 Fullerene on Frozen Ram Semen Quality. *Biopreservation and Biobanking*, 20. doi:10.1089/bio.2021.0001

Gunjal, A. (2023). Biological Approach for Degradation of Pesticides. *Micro Environer*, 3(01), 10-11. doi:10.54458/mev.v3i01.13259

Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical society transactions*, 35(5), 1147-1150.

Hansen, K. R., Hodnett, G. M., Knowlton, N., & Craig, L. B. (2011). Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertility and sterility*, 95(1), 170-175.

Harisinghani, M. G., Saksena, M., Ross, R. W., Tabatabaei, S., Dahl, D., McDougal, S., & Weissleder, R. (2005). A pilot study of lymphotrophic nanoparticle-enhanced magnetic resonance imaging technique in early stage testicular cancer: a new method for noninvasive lymph node evaluation. *Urology*, 66(5), 1066-1071.

Hashimi, M. H., Hashimi, R., & Ryan, Q. (2020). Toxic effects of pesticides on humans, plants, animals, pollinators and beneficial organisms. *Asian plant research journal*, 5(4), 37-47.

Hebbalalu, D., Lalley, J., Nadagouda, M. N., & Varma, R. S. (2013). Greener Techniques for the Synthesis of Silver Nanoparticles Using Plant Extracts, Enzymes, Bacteria, Biodegradable Polymers, and Microwaves. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 1(7), 703-712. doi:10.1021/sc4000362

Hehenkamp, W. J., Looman, C. W., Themmen, A. P., de Jong, F. H., Te Velde, E., & Broekmans, F. J. (2006). Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(10), 4057-4063.

Higuchi, A., Maehara, R., Merino, R., Ibáñez, F., & Schwalb, M. M. (2023). Presence of Internationally Banned

Pesticides in Domestic Peruvian Quinoa During Covid-19 Pandemic. *Agrociencia*. doi:10.47163/agrociencia.v57i3.2686

Hirayama, H., Kageyama, S., Naito, A., Fukuda, S., Fujii, T., & Minamihashi, A. (2012). Prediction of superovulatory response in Japanese Black cattle using ultrasound, plasma anti-Müllerian hormone concentrations and polymorphism in the ionotropic glutamate receptor AMPA1/GRIA1. *Journal of Reproduction and Development*, 1203020443-1203020443.

Hong, X., Shao, N., Yin, L., Li, C., Tao, G., Sun, Y., Qian, K., Yang, J., Xiao, P., Yu, X., & Zhou, Z. (2022). Exposure to Zinc Oxide Nanoparticles Affects Testicular Structure, Reproductive Development and Spermatogenesis in Parental and Offspring Male Rats. *Annals of Translational Medicine*, 10(13), 751-751. doi:10.21037/atm-22-3047

Hussein, H., Elnaggar, M., & Al-Zahrani, N. (2012). Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice. *Global Adv Res J Environ Sci Toxicol*, 1(4), 066-071.

Iftikhar, M., Noureen, A., Uzair, M., Jabeen, F., Abdel-Daim, M. M., & Cappello, T. (2021). Perspectives of Nanoparticles in Male Infertility: Evidence for Induced Abnormalities in Sperm Production. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1758. doi:10.3390/ijerph18041758

İleritürk, M., & Kaynar, Ö. (2023). Effect of Anti-Müllerian Hormone, Metabolic Profile and Mineral Levels at Transition Period On The Calving–Conception Interval in Cows. *Kocatepe Veterinary Journal*, 16(2), 143-159.

Ireland, J., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A., Ward, F., Lonergan, P., Smith, G., Perez, G., Evans, A., &

Ireland, J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of reproduction*, 79(6), 1219-1225.

Ireland, J., Smith, G., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Folger, J., Ireland, J., Mossa, F., Lonergan, P., & Evans, A. (2010). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(1), 1-14.

Ismail, A. A., Abdel-Khalek, A. E., Khalil, W. A., Yousif, A. I., Saadeldin, I. M., Abomughaid, M. M., & El-Harairy, M. A. (2020). Effects of mint, thyme, and curcumin extract nanoformulations on the sperm quality, apoptosis, chromatin decondensation, enzyme activity, and oxidative status of cryopreserved goat semen. *Cryobiology*, 97, 144-152. doi:10.1016/j.cryobiol.2020.09.002

Jahanbin, R., Yazdanshenas, P., Amin Afshar, M., Mohammadi Sangcheshmeh, A., Varnaseri, H., Chamani, M., Nazaran, M. H., & Bakhtiyarizadeh, M. R. (2015). Effect of zinc nano-complex on bull semen quality after freeze-thawing process. *Animal Production*, 17(2), 371-380. doi:10.22059/jap.2015.54040

Jahanbin, R., Yazdanshenas, P., Rahimi, M., Hajarizadeh, A., Tvrdá, E., Nazari, S. A., Mohammadi-Sangcheshmeh, A., & Ghanem, N. (2021). In Vivo and In Vitro Evaluation of Bull Semen Processed with Zinc (Zn) Nanoparticles. *Biological Trace Element Research*, 199(1), 126-135. doi:10.1007/s12011-020-02153-4

Jaiswal, S. K., Siddiqi, N. J., & Sharma, B. (2013). Carbofuran induced oxidative stress in rat heart: ameliorative

effect of vitamin C. *International Scholarly Research Notices*, 2013(1), 824102.

Jalilian, H., Neghab, M., Tatar, M., & Taheri, S. (2018). Respiratory and Dermal Symptoms and Raised Serum Concentrations of Biomarkers of Oxidative Stress Among Pesticide Retailers. *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 9(4), 194-204. doi:10.15171/ijoem.2018.1417

James, M. M., Revia, R. A., Stephen, Z. R., & Zhang, M. (2020). Microfluidic Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(11), 2113. doi:10.3390/nano10112113

Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y. S., Dufresne, A., & Danquah, M. K. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein journal of nanotechnology*, 9(1), 1050-1074.

Jia, J., Wang, Z., Yue, T., Su, G., Teng, C., & Yan, B. (2020). Crossing Biological Barriers by Engineered Nanoparticles. *Chemical research in toxicology*, 33(5), 1055-1060. doi:10.1021/acs.chemrestox.9b00483

John, P. J. (2023). Nanoparticle Toxicity May Cause Testicular Dysfunction. *Journal of Environmental Biology*, 44(2), i-iii. doi:10.22438/jeb/44/2/editorial

John, S., Kale, M., Rathore, N., & Bhatnagar, D. (2001). Protective effect of vitamin E in dimethoate and malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 12(9), 500-504.

Josso, N., Cate, R. L., Picard, J.-Y., Vigier, B., Di Clemente, N., Wilson, C., Imbeaud, S., Pepinsky, R. B., Guerrier, D., & Boussin, L. (1993). Anti-Müllerian hormone: the Jost factor. *Recent progress in hormone research*, 1-59.

Jost, A. (1947). The Age Factor in the Castration of Male Rabbit Fetuses. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 66(2), 302-303. doi:10.3181/00379727-66-16071

Kaleynikova, O., Ukrainska, S., Sribna, V., Velykyi, V., Vinogradova-Anyk, A., Tarasova, K., Lagodich, T., Karvatskiy, I., Voznesenska, T., & Blashkiv, T. (2022). Effect of gold nanocomposites treatment on male reproductive function under conditions of experimental hyperglycemia. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 11, 2083. doi:10.18203/2320-1770.ijrcog20221917

Kankam, F. (2021). Causes and Management of Pesticides Contamination in Agriculture: A Review. *Ghana Journal of Science Technology and Development*, 7(2). doi:10.47881/265.967x

Kaya, B., KurŞUn, A. Y., Güneş, M., Yalçın, B., & ErtuğRul, H. (2022). Bazı Fungusitlerin Genotoksik Potansiyellerinin Drosophila SMART Ve KOMET Yöntemleri Ile Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(1), 122-131. doi:10.19113/sdufenbed.984820

Kevenaar, M. E., Meerasahib, M. F., Kramer, P., van de Lang-Born, B. M., de Jong, F. H., Groome, N. P., Themmen, A. P., & Visser, J. A. (2006). Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*, 147(7), 3228-3234.

Khalaf, A. A., Ogaly, H. A., Ibrahim, M. A., Abdallah, A. A., Zaki, A. R., & Tohamy, A. F. (2022). The reproductive injury and oxidative testicular toxicity induced by chlorpyrifos can be restored by zinc in male rats. *Biological trace element research*, 1-9.

Khalil, W. A., El-Harairy, M. A., Zeidan, A. E. B., & Hassan, M. A. E. (2019). Impact of selenium nano-particles in semen extender on bull sperm quality after cryopreservation. *Theriogenology*, 126, 121-127. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.12.017

Khan, M. S., & Rahman, M. S. (2017). *Pesticide Residue in Foods* (M. S. R. Mohidus Samad Khan Ed.): Springer International Publishing.

Khashan, K. S., Sulaiman, G. M., & Abdulameer, F. A. (2015). Synthesis and Antibacterial Activity of CuO Nanoparticles Suspension Induced by Laser Ablation in Liquid. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(1), 301-310. doi:10.1007/s13369-015-1733-7

Kheradmandi, R., Jorsaraei, S. G. A., Feizi, F., Moghadamnia, A. A., & Neamati, N. (2019). Protective effect of N-acetyl cysteine on chlorpyrifos-induced testicular toxicity in mice. *International journal of fertility & sterility*, 13(1), 51.

Kim, W. J., Kim, B. S., Kim, H. J., Cho, Y. D., Shin, H. L., Yoon, H. I., Lee, Y. S., Baek, J.-H., Woo, K. M., & Ryoo, H.-M. (2020). Intratesticular peptidyl prolyl isomerase 1 protein delivery using cationic lipid-coated fibroin nanoparticle complexes rescues male infertility in mice. *ACS Nano Journal*, 14(10), 13217-13231.

Koç, İ., Urgan, E., Güven, A., & Ilikhan, B. (2020). Effects of Commonly Used Pesticides (Demond, Granland and Safacol) on Non-Targeted Organisms (Wheat Plant, Soil Nematodes, Microfungi and Aerobic Mesophilic Bacteria) in Muş Province, Turkey. *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, 10(1), 16-24. doi:10.17678/beuscitech.727148

Koca, R. (2023). The Positive Effects of In Vivo/In Vitro Supplementation of Nanoparticles on Semen. In A. Öztürk (Ed.),

Nanotechnology in Reproduction. Gaziantep, Türkiye: Özgür Press.

Kong, L., Tang, M., Zhang, T., Wang, D., Hu, K., Lu, W., Wei, C., Liang, G., & Pu, Y. (2014). Nickel nanoparticles exposure and reproductive toxicity in healthy adult rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 21253-21269. doi:10.3390/ijms151121253

Kulthong, K., Srisung, S., Boonpavanitchakul, K., Kangwansupamonkon, W., & Maniratanachote, R. (2010). Determination of Silver Nanoparticle Release From Antibacterial Fabrics Into Artificial Sweat. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(1). doi:10.1186/1743-8977-7-8

Kurutaş, E. B., & Kılınç, M. (2003). Pestisitlerin biyolojik sistemler üzerine etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 12(3).

Lahoz, B., Alabart, J., Cocero, M., Monniaux, D., Echegoyen, E., Sánchez, P., & Folch, J. (2014). Anti-Müllerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: an endocrine predictor to select the best donors for embryo biotechnologies. *Theriogenology*, 81(2), 347-357.

Lan, Z., & Yang, W.-X. (2012). Nanoparticles and spermatogenesis: how do nanoparticles affect spermatogenesis and penetrate the blood–testis barrier. *Nanomedicine*, 7(4), 579-596.

Leclerc, L., Klein, J.-P., Forest, V., Boudard, D., Martini, M., Pourchez, J., Blanchin, M. G., & Cottier, M. (2015). Testicular Biodistribution of Silica-Gold Nanoparticles After Intramuscular Injection in Mice. *Biomedical Microdevices*, 17(4). doi:10.1007/s10544-015-9968-3

Ledda, C., Cannizzaro, E., Cinà, D., Filetti, V., Vitale, E., Paravizzini, G., Naso, C. D., Iavicoli, I., & Rapisarda, V. (2021). Oxidative Stress and DNA Damage in Agricultural Workers After Exposure to Pesticides. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 16(1). doi:10.1186/s12995-020-00290-z

Lee, J. H., Kim, Y. S., Song, K. S., Ryu, H. R., Sung, J. H., Park, J. D., Park, H. M., Song, N. W., Shin, B. S., Marshak, D. R., Ahn, K. H., Lee, J. E., & Yu, I. J. (2013). Biopersistence of Silver Nanoparticles in Tissues From Sprague–Dawley Rats. *Particle and Fibre Toxicology*, 10(1). doi:10.1186/1743-8977-10-36

Lee, M. M., & Donahoe, P. K. (1993). Mullerian inhibiting substance: a gonadal hormone with multiple functions. *Endocrine Reviews*, 14(2), 152-164.

Li, R., Jia, Z., & Trush, M. (2016). Defining ROS in biology and medicine. *Reactive Oxygen Species (Apex, NC)*, 1(1), 9.

Li, Y., Zeng, Q., Deng, H., Xiang, T., Qi, W., & Wu, D. (2022). Ameliorating effect of gold nanoparticles decorated on biodegradable apple pectin modified magnetic nanoparticles on epididymo-orchitis inducing alterations in sperm quality and spermatogenic cells apoptosis. *Inorganic Chemistry Communications*, 146, 110089.

Lie, P. P., Cheng, C. Y., & Mruk, D. D. (2013). Signalling Pathways Regulating the Blood–testis Barrier. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(3), 621-625. doi:10.1016/j.biocel.2012.12.009

Liu, X., Dingxia, Q., Cui, Y., Chen, L., Li, H., Chen, Z., Li, G., Li, Y., & Liu, J. (2010). The Effect of Calcium Phosphate Nanoparticles on Hormone Production and Apoptosis in Human

Granulosa Cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 8(1), 32. doi:10.1186/1477-7827-8-32

Liu, Y., Zhao, Y., Sun, B., & Chen, C. (2013). Understanding the toxicity of carbon nanotubes. *Accounts of Chemical Research Journal*, 46(3), 702-713. doi:10.1021/ar300028m

Lone, F. A. (2016). Nanotechnology Based Semen Purification: A Panacea. *Veterinary Medicine - Open Journal*, 1(1), e1-e2. doi:10.17140/vmoj-1-e001

Lu, T., Ling, C., Hu, M., Meng, X., Deng, Y., An, H., Li, L., Hu, Y., Wang, H., & Song, G. (2021). Effect of nano-titanium dioxide on blood-testis barrier and MAPK signaling pathway in male mice. *Biological Trace Element Research*, 199, 2961-2971.

Lui, W. Y., & Lee, W. M. (2006). Regulation of Junction Dynamics in the Testis—Transcriptional and Post-Translational Regulations of Cell Junction Proteins. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 250(1-2), 25-35. doi:10.1016/j.mce.2005.12.021

Ly, T., & Marks, L. D. (2017). Growth Regimes of Hydrothermally Synthesized Potassium Tantalate Nanoparticles. *Microscopy and Microanalysis*, 23(S1), 1914-1915. doi:10.1017/s1431927617010236

Mahmood, I., Imadi, S. R., Shazadi, K., Gul, A., & Hakeem, K. R. (2016). Effects of pesticides on environment. *Plant, soil and microbes: volume 1: implications in crop science*, 253-269.

Makhluf, S. B.-D., Arnon, R., Patra, C., Mukhopadhyay, D., Gedanken, A., Mukherjee, P., & Breitbart, H. (2008). Labeling of sperm cells via the spontaneous penetration of Eu³⁺

ions as nanoparticles complexed with PVA or PVP. *The Journal of Physical Chemistry C*, 112(33), 12801-12807.

Mancini, R. (2015). *Detection of Y-chromosome bearing bovine sperm using laser-generated gold nanoparticle bio-conjugates*. (Doctor of Veterinary Medicine). University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover.

Martín-Reina, J., Casanova, A. G., Dahiri, B., Fernández, I. M., Fernández-Palacín, A., Bautista, J., Morales, A. I., & Moreno, I. (2021). Adverse Health Effects in Women Farmers Indirectly Exposed to Pesticides. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(11), 5909. doi:10.3390/ijerph18115909

Mathias, F. T., Romano, R. M., Kizys, M. M., Kasamatsu, T., Giannocco, G., Chiamolera, M. I., Dias-da-Silva, M. R., & Romano, M. A. (2015). Daily exposure to silver nanoparticles during prepubertal development decreases adult sperm and reproductive parameters. *Nanotoxicology*, 9(1), 64-70. doi:10.3109/17435390.2014.889237

Miller, S. R., & Cherrington, N. J. (2018). Transepithelial Transport Across the Blood–testis Barrier. *Reproduction*, 156(6), R187-R194. doi:10.1530/rep-18-0338

Miura, N., Ohtani, K., Hasegawa, T., Yoshioka, H., & Hwang, G. W. (2017). High Sensitivity of Testicular Function to Titanium Nanoparticles. *The Journal of Toxicological Sciences*, 42(3), 359-366. doi:10.2131/jts.42.359

Miura, N., Ohtani, K., Hasegawa, T., Yoshioka, H., & Hwang, G. W. (2019). Biphasic Adverse Effect of Titanium Nanoparticles on Testicular Function in Mice. *Scientific Reports*, 9(1). doi:10.1038/s41598-019-50741-9

Mohammad, I. (2019). Gold nanoparticle: An efficient carrier for MCP I of Carica papaya seeds extract as an innovative

male contraceptive in albino rats. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 52, 942-956.

Monniaux, D., Baril, G., Laine, A.-L., Jarrier, P., Poulin, N., Cognié, J., & Fabre, S. (2011). Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction*, 142(6), 845-854.

Monniaux, D., Drouilhet, L., Rico, C., Estienne, A., Jarrier, P., Touzé, J.-L., Sapa, J., Phocas, F., Dupont, J., & Dalbiés-Tran, R. (2012). Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reproduction, Fertility and Development*, 25(1), 1-16.

Moradi, M., Hajarian, H., Karamishabankareh, H., Soltani, L., & Soleymani, B. (2021). Recovery of sperms bearing X chromosomes with different concentrations of magnetic nanoparticles in ram. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(2), 263-269.

Moreira, S., Pereira, S. C., Seco-Rovira, V., Oliveira, P. F., Alves, M. G., & Pereira, M. d. L. (2021). Pesticides and male fertility: A dangerous crosstalk. *Metabolites*, 11(12), 799.

Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Weber-Nielsen, M., Evans, A. C., & Ireland, J. (2017). Anti-Müllerian hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction*, 154(1), R1-R11.

Mounika, R., Saravanakumar, V., Karunakaran, K. R., & Suganthi, A. (2022). Pesticide Consumption Trends in India. *Asian Journal of Agricultural Extension Economics & Sociology*, 221-226. doi:10.9734/ajaees/2022/v40i1031064

Mozaffari, Z., Kazem, P., Roodbari, N. H., & Irani, S. (2015). Histopathological Evaluation of the Toxic Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles on Testicular Tissue of NMRI

Adult Mice. *Advanced Studies in Biology*, 7, 275-291.
doi:10.12988/asb.2015.5425

Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2010). Tight Junctions in the Testis: New Perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences*, 365(1546), 1621-1635.
doi:10.1098/rstb.2010.0010

Muniv, Y. S. (2022). Toxicological Classification of Agricultural Pesticides - An Overview. *International Journal of Zoological Investigations*, 08(02), 795-804.
doi:10.33745/ijzi.2022.v08i02.096

Murad, H. M., Abdulameer, S. A., Aljuboory, D. S. A., Neamah, D. A., & Maktouf, A. H. (2020). Defensive effects of breberine against cypermethrin induced male reproductive system toxicity in rabbits. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(9), 841-846.

Mustapha, T., Misni, N., Ithnin, N. R., Daskum, A. M., & Unyah, N. Z. (2022). A Review on Plants and Microorganisms Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles, Role of Plants Metabolites and Applications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(2), 674. doi:10.3390/ijerph19020674

Nadri, T., Towhidi, A., Zeinoaldini, S., Martínez-Pastor, F., Mousavi, M., Noei, R., Tar, M., & Mohammadi Sangcheshmeh, A. (2019). Lecithin nanoparticles enhance the cryosurvival of caprine sperm. *Theriogenology*, 133, 38-44.
doi:10.1016/j.theriogenology.2019.04.024

Nayak, P., & Solanki, H. (2021). Pesticides and Indian agriculture—a review. *International Journal of Research - GRANTHAALAYAH*, 9(5), 250-263.
doi:10.29121/granthaalayah.v9.i5.2021.3930

Negatu, B., Dugassa, S., & Mekonnen, Y. (2021). Environmental and Health Risks of Pesticide Use in Ethiopia. *Journal of Health and Pollution*, 11(30). doi:10.5696/2156-9614-11.30.210601

Negatu, B., Kromhout, H., Mekonnen, Y., & Vermeulen, R. (2016). Use of Chemical Pesticides in Ethiopia: A Cross-Sectional Comparative Study on Knowledge, Attitude and Practice of Farmers and Farm Workers in Three Farming Systems. *The Annals of Occupational Hygiene*, 60(5), 551-566. doi:10.1093/annhyg/mew004

Negi, S., & Singh, V. B. (2018). Algae: A Potential Source for Nanoparticle Synthesis. *Journal of Applied and Natural Science*, 10(4), 1134-1140. doi:10.31018/jans.v10i4.1878

Nelson, S. M., Anderson, R. A., Broekmans, F. J., Raine-Fenning, N., Fleming, R., & La Marca, A. (2012). Anti-Müllerian hormone: clairvoyance or crystal clear? *Human Reproduction*, 27(3), 631-636.

Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in public health*, 4, 148.

Nkele, A. C., & Ezema, F. I. (2021). Diverse Synthesis and Characterization Techniques of Nanoparticles. In A. Ares (Ed.), *Thin Films*: InTech Open.

Nobel, C. S. I., Kimland, M., Lind, B., Orrenius, S., & Slater, A. F. (1995). Dithiocarbamates Induce Apoptosis in Thymocytes by Raising the Intracellular Level of Redox-Active Copper (*). *Journal of Biological Chemistry*, 270(44), 26202-26208.

Ochoa-Cueva, P., Arteaga, J., Arévalo, A. P., & Kolok, A. S. (2021). A Potential Pesticides Exposure Index (PPEI) for Developing Countries: Applied in a Transboundary Basin. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 18(1), 187-197. doi:10.1002/ieam.4470

Ogunwuyi, O., Kumari, N., Smith, K. A., Bolshakov, O., Adesina, S., Gugssa, A., Anderson, W. A., Nekhai, S., & Akala, E. O. (2016). Antiretroviral drugs-loaded nanoparticles fabricated by dispersion polymerization with potential for HIV/AIDS treatment. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, 9, IDRT. S38108.

Onyeaka, H., Passaretti, P., Miri, T., & Al-Sharif, Z. T. (2022). The Safety of Nanomaterials in Food Production and Packaging. *Current Research in Food Science*, 5, 763-774. doi:10.1016/j.crfs.2022.04.005

Orazizadeh, M., Khorsandi, L., Absalan, F., Hashemitabar, M., & Daneshi, E. (2014). Effect of Beta-Carotene on Titanium Oxide Nanoparticles-Induced Testicular Toxicity in Mice. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 31(5), 561-568. doi:10.1007/s10815-014-0184-5

Orzolek, A., Rafalska, K., Otowska, W. A., Kordan, W., Korzekwa, A., & Kozłowski, K. (2021). Influence of Zinc and Manganese Nanoparticles on Selected Parameters of Turkey Spermatozoa Stored in a Liquid State at 4 °C. *Animals*, 11(11), 3289. doi:10.3390/ani11113289

Ozdem, S., Nacitarhan, C., Gulay, M. S., Hatipoğlu, F. Ş., & Özdem, S. S. (2011). The Effect of Ascorbic Acid Supplementation on Endosulfan Toxicity in Rabbits. *Toxicology and Industrial Health*, 27(5), 437-446. doi:10.1177/0748233710388450

Öztürk, A., & Omur, A. (2022). Current Approaches to the Use of Nanotechnology in Reproductive Biotechnologies: Spermatological Researches. In T. Çakıcı (Ed.), *The Trend in Nanomaterials, Synthesis and Applications* (1st ed., pp. 30-45). İstanbul, Türkiye: Efe Academy Publishing.

Pan, J., Zhu, Z., Xu, G., Niu, L., Yu, L., Luo, Z., & Yan, J. (2018). Expression of Claudin-11 in a Rat Model of Varicocele and Its Effects on the Blood-testis Barrier. *Molecular Medicine Reports*. doi:10.3892/mmr.2018.9603

Pang, J., Feng, X., Liang, Q., Zheng, X., Duan, Y., Zhang, X., Zhang, J., Chen, Y., Fan, K., & Gao, L. (2022). Ferritin-Nanocaged ATP Traverses the Blood–Testis Barrier and Enhances Sperm Motility in an Asthenozoospermia Model. *ACS Nano Journal*, 16(3), 4175-4185.

Paul, N., Talluri, T. R., Nag, P., Raval, K., & Kumaresan, A. (2022). Nano Purification of Semen: A Novel Technique for Enrichment of Superior Quality Spermatozoa. In *Frontier Technologies in Bovine Reproduction* (pp. 111-132): Springer.

Pesiakova, A., Gusakova, E., Trofimova, A., & Sorokina, T. Y. (2018). *Migratory birds are the source of highly toxic organic pollutants for indigenous people in the Russian Arctic*. Paper presented at the IOP conference series: Earth and environmental science.

Pfeiffer, K., Jury, L., & Larson, J. (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic animal endocrinology*, 46, 58-64.

Phogat, N., Khan, S., Shankar, S., Ansary, A., & Uddin, I. (2016). Fate Of Inorganic Nanoparticles In Agriculture. *Advanced Materials Letters*, 7, 3-12. doi:10.5185/amlett.2016.6048

Polat, B., Özüçü, M., Çetin, H., & Aydın, L. (2020). Pestisit Kullanımının Bal Arısı Sağlığına Ve Ürünlerine Etkisi. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, 39(2), 128-134. doi:10.30782/jrvrm.634586

Priyanka, K. (2024). Comparative Analysis of Organic and Chemical Pesticides: Impacts on Crop Health and Environmental Sustainability. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 45(11), 93-96. doi:10.56557/upjz/2024/v45i114073

Rai, D. K., Rai, P. K., Rizvi, S. I., Watal, G., & Sharma, B. (2009). Carbofuran-induced toxicity in rats: protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 61(6), 531-535.

Rajpert-De Meyts, E., Jørgensen, N., Græm, N., Müller, J., Cate, R. L., & Skakkebaek, N. E. (1999). Expression of anti-Müllerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84(10), 3836-3844.

Rateb, S. A. (2020). Purification of Cryopreserved Camel Spermatozoa Following Protease-based Semen Liquefaction by Lectin-functionalized DNA-defrag Magnetic Nanoparticles. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(1), 183-192. doi:10.1111/rda.13863

Rauf, N., Nawaz, A., Ullah, H., Ullah, R., Nabi, G., Ullah, A., Wahab, F., Jahan, S., & Fu, J. (2021). Therapeutic effects of chitosan-embedded vitamin C, E nanoparticles against cisplatin-induced gametogenic and androgenic toxicity in adult male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(40), 56319-56332.

Reijnders, L. (2012). Human Health Hazards of Persistent Inorganic and Carbon Nanoparticles. *Journal of*

Materials Science, 47(13), 5061-5073. doi:10.1007/s10853-012-6288-3

Ribeiro, E., Bisinotto, R., Lima, F., Greco, L., Morrison, A., Kumar, A., Thatcher, W., & Santos, J. (2014). Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of dairy science*, 97(11), 6888-6900.

Rico, C., Fabre, S., Médigue, C., Clemente, N. d., Clément, F., Bontoux, M., Touzé, J.-L., Dupont, M., Briant, E., & Rémy, B. (2009). Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of reproduction*, 80(1), 50-59.

Rico, C., Médigue, C., Fabre, S., Jarrier, P., Bontoux, M., Clément, F., & Monniaux, D. (2011). Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of reproduction*, 84(3), 560-571.

Rodrigues, A. C. B., Jesus, G. P. d., Waked, D., Gomes, G. L., Silva, T. M., Yariwake, V. Y., Silva, M. P. d., Magaldi, A. J., & Veras, M. M. (2022). Scientific Evidence About the Risks of Micro and Nanoplastics (MNPLs) to Human Health and Their Exposure Routes Through the Environment. *Toxics*, 10(6), 308. doi:10.3390/toxics10060308

Rohlman, D. S., Davis, J., Ismail, A., Rasoul, G. M. A., Hendy, O., Olson, J. R., & Bonner, M. (2020). Risk Perception and Behavior in Egyptian Adolescent Pesticide Applicators: An Intervention Study. *BMC Public Health*, 20(1). doi:10.1186/s12889-020-08801-7

Romoser, A., Criscitiello, M. F., & Sayes, C. M. (2014). Engineered Nanoparticles Induce DNA Damage in Primary

Human Skin Cells, Even at Low Doses. *Nano Life*, 04(01), 1440001. doi:10.1142/s1793984414400017

Ruiz-Suárez, N., Boada, L. D., Henríquez-Hernández, L. A., González-Moreo, F., Suárez-Pérez, A., Camacho, M., Zumbado, M., Almeida-González, M., del Mar Travieso-Aja, M., & Luzardo, O. P. (2015). Continued implication of the banned pesticides carbofuran and aldicarb in the poisoning of domestic and wild animals of the Canary Islands (Spain). *Science of the Total Environment*, 505, 1093-1099.

Saad-Hussein, A., Ibrahim, K., Abdalla, M. S., Elmezayen, H. A., & Osman, N. F. A. (2019). Effects of Zinc Supplementation on Oxidant/Antioxidant and Lipids Status of Pesticides Sprayers. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(1). doi:10.1515/jcim-2019-0001

Sahu, S. C., & Hayes, A. W. (2017). Toxicity of Nanomaterials Found in Human Environment. *Toxicology Research and Application*, 1. doi:10.1177/2397847317726352

Samareh, A., Asadikaram, G., MojtabaAbbasi, J., Abdollahdokht, D., Abolhassani, M., Khanjani, N., & Nematollahi, M. H. (2022). Occupational Exposure to Pesticides in Farmworkers and the Oxidative Markers. *Toxicology and Industrial Health*, 38(8), 455-469. doi:10.1177/07482337221106754

Sanand, S., Kumar, S., Bara, N., & Kaul, G. (2018). Comparative evaluation of half-maximum inhibitory concentration and cytotoxicity of silver nanoparticles and multiwalled carbon nanotubes using buffalo bull spermatozoa as a cell model. *Toxicol Ind Health*, 34(9), 640-652. doi:10.1177/0748233718783389

Şanlı, Y. (2002). *Veteriner klinik toksikoloji*: Medipres.

Sarojmoni, S., Mridusmita, D., Himadree, P., Gunjan, J., & Jain, M. (2022). Pesticide Impact on Human Health. *International Journal of Zoological Investigations*, 08(02), 717-725. doi:10.33745/ijzi.2022.v08i02.087

Sarwar, M. (2015). Microbial insecticides-an ecofriendly effective line of attack for insect pests management. *International Journal of Engineering and Advanced Research Technology*, 1(2), 4-9.

Scalisi, E. M., Pecoraro, R., Salvaggio, A., Capparucci, F., Fortuna, C. G., Zimbone, M., Impellizzeri, G., & Brundo, M. V. (2023). Titanium Dioxide Nanoparticles: Effects on Development and Male Reproductive System. *Nanomaterials*, 13(11), 1783. doi:10.3390/nano13111783

Sevgi, R., Erdem, H., Karaşahin, T., Yılmaz, M. A., Satılmış, M., Okuroğlu, A., Ünal, İ., Dursun, Ş., Alkan, H., & Satılmış, F. (2019). Determination of the relationship between serum anti-Müllerian hormone level and superovulatory response in Simmental cows. *Reproduction in domestic animals*, 54(10), 1322-1329.

Shakeel, M., Jabeen, F., Shabbir, S., Yaqoob, M., Khan, M. S., & Chaudhry, A. S. (2015). Toxicity of Nano-Titanium Dioxide (TiO₂-NP) Through Various Routes of Exposure: A Review. *Biological Trace Element Research*, 172(1), 1-36. doi:10.1007/s12011-015-0550-x

Shalaby, S., El-Metwally, I. M., Abou-elella, G., & Abdou, G. Y. (2021). Occupational Workers Understanding of Pesticide Labels and Safety Practices in Egypt. *Egyptian Journal of Chemistry*, 0(0), 0-0. doi:10.21608/ejchem.2021.94069.4430

Shandilya, R., Pathak, N., Lohiya, N. K., Sharma, R. S., & Mishra, P. K. (2020). Nanotechnology in reproductive

medicine: Opportunities for clinical translation. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 47(4), 245-262. doi:10.5653/cerm.2020.03650

Sharma, P., Khan, I. A., & Singh, R. (2018). Curcumin and quercetin ameliorated cypermethrin and deltamethrin-induced reproductive system impairment in male wistar rats by upregulating the activity of pituitary-gonadal hormones and steroidogenic enzymes. *International journal of fertility & sterility*, 12(1), 72.

Shydlovska, O., & Kharchenko, Y. (2022). *Review of Green Methods of Synthesis of Silver Nanoparticles*. Paper presented at the The 9th International Conference on Advanced Materials and Systems, Bucharest, Romania.

Silva, J. R. V., Barroso, P. A. A., Nascimento, D. R., Figueira, C. S., Azevedo, V. A. N., Silva, B. R., & Santos, R. P. d. (2021). Benefits and challenges of nanomaterials in assisted reproductive technologies. *Molecular Reproduction and Development*, 88(11), 707-717. doi:<https://doi.org/10.1002/mrd.23536>

Silva, T. C., Finkler, M. G., Slodkowski, L., Frank, J. G., Tolfo, P. R., Dalcin, D., Battisti, I. D. E., & Anastácio, Z. (2023). Exposure to Pesticides in Pregnant Women: An Integrative Review. *Advances in Obstetrics and Gynecology Research*, 1(1), 5-12. doi:10.26689/aogr.v1i1.4941

Singh, M., Sandhir, R., & Kiran, R. (2010). Oxidative stress induced by atrazine in rat erythrocytes: mitigating effect of vitamin E. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 20(3), 119-126.

Skovmand, A., Lauvås, A. J., Christensen, P., Vogel, U., Hougaard, K. S., & Goerick-Pesch, S. (2018). Pulmonary Exposure to Carbonaceous Nanomaterials and Sperm Quality.

Particle and Fibre Toxicology, 15(1). doi:10.1186/s12989-018-0242-8

Snow-Lisy, D. C., Samplaski, M. K., Labhasetwar, V., & Sabanegh, E. (2011). Drug Delivery to the Testis: Current Status and Potential Pathways for the Development of Novel Therapeutics. *Drug Delivery and Translational Research*, 1(5). doi:10.1007/s13346-011-0039-x

Song, G., Lin, L., Liu, L., Wang, K., Ding, Y., Niu, Q., Mu, L., Wang, H., Shen, H., & Guo, S. (2017). Toxic Effects of Anatase Titanium Dioxide Nanoparticles on Spermatogenesis and Testicles in Male Mice. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26. doi:10.15244/pjoes/70807

Souza, A., Carvalho, P., Rozner, A., Vieira, L., Hackbart, K., Bender, R., Dresch, A., Verstegen, J., Shaver, R., & Wiltbank, M. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of dairy science*, 98(1), 169-178.

Souza, M. R., Mazaro-Costa, R., & Rocha, T. L. (2021). Can nanomaterials induce reproductive toxicity in male mammals? A historical and critical review. *Science of The Total Environment*, 769, 144354.

Streuli, I., Fraisse, T., Pillet, C., Ibecheole, V., Bischof, P., & De Ziegler, D. (2008). Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertility and sterility*, 90(2), 395-400.

Su, L., Mruk, D. D., Lie, P. P., Silvestrini, B., & Cheng, C. Y. (2012). A Peptide Derived From Laminin- Γ 3 Reversibly Impairs Spermatogenesis in Rats. *Nature Communications*, 3(1). doi:10.1038/ncomms2171

Sule, R., Condon, L., & Gomes, A. V. (2022). A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress—The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 1-31. doi:10.1155/2022/5563759

Supanekar, S. P. (2022). Environmental Impacts of Pesticides - A Review. *International Journal of Zoological Investigations*, 08(02), 847-856. doi:10.33745/ijzi.2022.v08i02.102

Sushma, N., & Devasena, T. (2010). Aqueous Extract of *Trigonella Foenum Graecum* (Fenugreek) Prevents Cypermethrin-Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity. *Human & Experimental Toxicology*, 29(4), 311-319. doi:10.1177/09603271110361502

Syafrudin, M., Kristanti, R. A., Yuniarto, A., Hadibarata, T., Rhee, J., Al-onazi, W. A., AlGarni, T. S., Al-Marri, A. H., & Al-Mohaimed, A. M. (2021). Pesticides in Drinking Water—A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(2), 468. doi:10.3390/ijerph18020468

Takahashi, M., Hayashi, M., Manganaro, T. F., & Donahoe, P. K. (1986). The ontogeny of mullerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of Reproduction*, 35(2), 447-453.

Talib, A. H., AL-Rudainy, A. J., Gathwan, M. A., Thakir, B. M., & Abdulfattah, R. (2018). The acute toxicity of herbicide roundup ultra in mosquito fish *Gambusia affinis*. *Journal of Biodiversity and Environmental Science*, 13, 9-15.

Tang, Y., Chen, B., Hong, W., Chen, L., Yao, L., Zhao, Y., Aguilar, Z. P., & Xu, H. (2019). ZnO Nanoparticles Induced Male Reproductive Toxicity Based on the Effects on the Endoplasmic Reticulum Stress Signaling Pathway.

International Journal of Nanomedicine, 14, 9563-9576.
doi:10.2147/ijn.S223318

Tanwar, S. N., Parauha, Y. R., There, Y., & Dhoble, S. J. (2024). Biosynthesis of Al(2) O(3) and europium-doped Al(2) O(3) nanoparticle using *Cymbopogon citratus* (lemongrass) extract and its antibacterial property. *Luminescence*, 39(1), e4616. doi:10.1002/bio.4616

Tarım ve Orman Bakanlığı. (2022). Resmi Tarımsal İlaç İstatistikleri. Retrieved from <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac-Istatistikleri>. Retrieved 10.11.2024

Tarım ve Orman Bakanlığı. (2023). Resmi Tarımsal İlaç İstatistikleri. Retrieved from <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac-Istatistikleri>. Retrieved 10.11.2024

Thapa, R., Nainabasti, A., Lamsal, A., Malla, S., Thapa, B., Subedi, Y., & Ghimire, S. (2022). Pesticide Persistence in Agriculture and Its Hazardous Effects on Environmental Components. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 10(2), 75-83. doi:10.3126/ijasbt.v10i2.45095

Thukral, R., Arora, P., Sharma, S., Choudhury, D., & Singla, N. (2024). Formulation and evaluation of solid lipid nanoparticles loaded with papaya seed chloroform extract for long-term antifertility effects on the male rat, *Bandicota bengalensis*. *Drug and Chemical Toxicology*, 47(5), 496-506.

Toğay, V. A., & Çelik, D. A. (2022). Effect of Thiachloprid on Dna Damage in Human Lymphocytes. *Süleyman*

Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 29(4), 597-602.
doi:10.17343/sdutfd.1200362

Tsepelidis, S., Devreker, F., Demeestere, I., Flahaut, A., Gervy, C., & Englert, Y. (2007). Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Human Reproduction*, 22(7), 1837-1840.

Tudi, M., Ruan, H. D., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1112. doi:10.3390/ijerph18031112

Turczel, G., Kovács, E., Merza, G., Coish, P., & Anastas, P. T. (2018). Synthesis of Semiochemicals via Olefin Metathesis. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(1), 33-48. doi:10.1021/acssuschemeng.8b05224

Turhan, Ş., & Varoğlu, S. T. (2021). Current status of agricultural producers in Iğdır province. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 5(1), 127-135.

Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208.

Van Rooij, I., Broekmans, F., Te Velde, E., Fauser, B., Bancsi, L., De Jong, F., & Themmen, A. (2002). Serum anti-Müllerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Human Reproduction*, 17(12), 3065-3071.

Vance, M. E., Kuiken, T., Vejerano, E. P., McGinnis, S. P., Hochella, M. F., Jr., Rejeski, D., & Hull, M. S. (2015). Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein journal of nanotechnology*, 6, 1769-1780. doi:10.3762/bjnano.6.181

Vassal, M., Rebelo, S., & Pereira, M. d. L. (2021). Metal Oxide Nanoparticles: Evidence of Adverse Effects on the Male Reproductive System. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8061. doi:10.3390/ijms22158061

Vatanpour, M., Ebrahimzadeh-Bideskan, A., Rajabian, A., Alipour, F., Raoofi, A., & Ebrahimi, V. (2024). Ameliorating effects of selenium nanoparticle coated by gallic acid on histological and biochemical parameters of testis in azoospermic rat model. *Tissue and Cell*, 91, 102550.

Vernunft, A., Schwerhoff, M., Viergutz, T., Diederich, M., & Kuwer, A. (2014). Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes. *Journal of Reproduction and Development*.

Vigier, B., Tran, D., Legeai, L., Bezard, J., & Josso, N. (1984). Origin of anti-Mullerian hormone in bovine freemartin fetuses. *70*, 473-479.

Wahab, A., Hod, R., Ismail, N. H., & Omar, N. (2016). The effect of pesticide exposure on cardiovascular system: a systematic review. *International Journal of Community Medicine and Public Health*, 3(1), 1-10. doi:<https://doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20151542>

Wang, B., Zhai, C., Li, Y., Ma, B., Li, Z., & Wang, J. (2023). Sertoli cells-derived exosomal miR-30a-5p regulates ubiquitin E3 ligase Zeb2 to affect the spermatogonial stem cells proliferation and differentiation. *Reproductive Toxicology*, 117, 108340.

Wang, R., Song, B., Wu, J., Zhang, Y., Chen, A., & Shao, L. (2018). Potential Adverse Effects of Nanoparticles on the Reproductive System. *International Journal of Nanomedicine*, Volume 13, 8487-8506. doi:10.2147/ijn.s170723

Wei, Y.-S., Chen, Y.-L., Li, W.-Y., Yang, Y.-Y., Lin, S.-J., Wu, C.-H., Yang, J.-I., Wang, T.-E., Yu, J., & Tsai, P.-S. (2023). Antioxidant Nanoparticles Restore Cisplatin-Induced Male Fertility Defects by Promoting MDC1-53bp1-Associated Non-Homologous DNA Repair Mechanism and Sperm Intracellular Calcium Influx. *International Journal of Nanomedicine*, 4313-4327.

Xiao, X., Mruk, D. D., Wong, E. W., Lee, W. M., Han, D., Wong, C. K. C., & Cheng, C. Y. (2014). Differential Effects of C-SRC and C-Yes on the Endocytic Vesicle-Mediated Trafficking Events at the Sertoli Cell Blood-Testis Barrier: An in Vitro Study. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 307(7), E553-E562. doi:10.1152/ajpendo.00176.2014

Yalvaç, M. (2005). Göksu deltası sucul ekosisteminde endosülfan ve methamidophos pestisitlerinin kalıntı düzeylerinin araştırılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin*.

Yeiya, E. A., & Emokpae, M. A. (2022). Awareness of Reproductive Health Risks, Sex Hormone Levels and Sperm Indices Among Farmers Exposed to Pesticides in Akungba Akoko, Nigeria. *Korean Journal of Environmental Health Sciences*, 48(4), 244-253. doi:10.5668/jehs.2022.48.4.244

Yousef, M., Al-Hamadani, M., & Kamel, M. (2019). Reproductive Toxicity of Aluminum Oxide Nanoparticles and Zinc Oxide Nanoparticles in Male Rats. *Nanoparticle*, 1. doi:10.35702/nano.10003

Yousef, M. I., Awad, T. I., & Mohamed, E. H. (2006). Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, 227(3), 240-247.

Yousef, M. S., Abdelhamid, H. N., Hidalgo, M., Fathy, R., Gómez-Gascón, L., & Dorado, J. (2021). Antimicrobial activity of silver-carbon nanoparticles on the bacterial flora of bull semen. *Theriogenology*, 161, 219-227. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.12.006

Zakhidov, S. T., Pavlyuchenkova, S. M., Marshak, T., Rudoy, V. M., Dement'eva, O., Zelenina, I. A., Skuridin, S., Makarov, A., Khokhlov, A., & Evdokimov, Y. M. (2012). Effect of gold nanoparticles on mouse spermatogenesis. *Biology Bulletin*, 39, 229-236.

Zepeda-Arce, R. D., Rojas-García, A. E., Benítez-Trinidad, A. B., Herrera-Moreno, J. F., Medina-Díaz, I. M., Barrón-Vivanco, B. S., Villegas, G. P., Hernández-Ochoa, I., María de Jesús Sólis, H., & Bernal-Hernández, Y. Y. (2017). Oxidative Stress and Genetic Damage Among Workers Exposed Primarily to Organophosphate and Pyrethroid Pesticides. *Environmental Toxicology*, 32(6), 1754-1764. doi:10.1002/tox.22398

Zhang, L., Yang, Y., Song, Y., Yang, H., Zhou, G., Xin, Y., You, Z., & Xuan, Y. (2014). Nanoparticle delivery systems reduce the reproductive toxicity of docetaxel in rodents. *Nano Life*, 4(04), 1441012.

Zhang, W., Jiang, F., & Ou, J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the international academy of ecology and environmental sciences*, 1(2), 125.

Zhang, X., Gurunathan, S., & Kim, J. (2015). Effects of silver nanoparticles on neonatal testis development in mice. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 6243-6256. doi:10.2147/ijn.S90733

Zhang, X., Zhang, T., Ren, X., Chen, X., Wang, S.-q., & Qin, C. (2021). Pyrethroids Toxicity to Male Reproductive System and Offspring as a Function of Oxidative Stress Induction: Rodent Studies. *Frontiers in Endocrinology*, 12. doi:10.3389/fendo.2021.656106

Zhao, F., Fan, M., Jing, Z., Zhang, Y., Wang, Y., Zhou, C., Liu, Y., Aitken, R. J., & Xia, X. (2024). Engineered nanoparticles potentials in male reproduction. *Andrology*.

