

Veteriner Tıpta **Modern** Perspektifler

Editör
Cahit ÖZCAN
Yalçın Yaman

BİDGE Yayınları

Veteriner Tıpta Modern Perspektifler

Editör: Doç. Dr. Cahit ÖZCAN & Doç. Dr. Yalçın Yaman

ISBN: 978-625-372-375-0

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 25.12.2024

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



ÖNSÖZ

Veteriner tıp, hayvan sağlığını koruma ve geliştirme konusunda sürekli yenilenen bir alandır. Bu kitap, veteriner hekimlikteki farklı çalışma alanlarına dair güncel bilgileri bir araya getirmeyi amaçlamaktadır.

Hayvan sağlığı alanında üreme biyoteknolojileri, hastalıklara karşı genetik direnç mekanizmaları, metabolik sağlık, modern sağım teknikleri, kriyoprezervasyon ve evcil hayvan beslenmesi gibi güncel ve stratejik konular üzerine odaklanan bu kitap, okuyuculara modern pespektifler sunmayı hedeflemektedir.

Veteriner hekimlere, araştırmacılara ve hayvancılık sektöründeki tüm paydaşlara yararlı olması dileğimizle;

Hayvan sağlığı ve refahı için emek veren herkese saygıyla ithaf edilmiştir.

Content

ÖNSÖZ	3
Koyunlarda Suni Tohumlama Yöntemlerinin Başarı Oranları Ve Kullanılabilirliği.....	6
Muhammed Furkan ÖNEN ¹	6
Mürsel KÜÇÜK ²	6
Fitobiyotiklerin Metabolik Sendrom Üzerindeki Etkileri	30
Tuncay TUFAN.....	30
Kıvanç İRAK.....	30
İbrahim Halil KESKİN.....	30
Çiftlik Hayvanlarında Enfeksiyöz Hastalıklara Karşı Genetik Dirençli Yetiştiricilik: Mastitis	60
Semih YAZICI	60
Yalçın YAMAN	60
Süt İneklerinde Robotik Sağım	87
Tamer KAYAR	87
Sperm Kriyoprezervasyonu Ve Bu Aşamada Oluşan Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri Ve Antioksidan Kullanımı	110
Ramazan ÖRDEK	110
Firdevs YILMAZ DAYANÇ	110
Cengiz YILDIZ	110
Üreme Biyoteknolojisinde Kök Hücre Ve Organ Kullanımı.....	151
Ramazan ÖRDEK	151
Cengiz YILDIZ	151
Evcil Hayvan Olarak Guinea Pig Besleme	192
Cahit ÖZCAN.....	192

Rahmi DOĞAN	192
İbrahim Halil KESKİN	192

BÖLÜM I

Koyunlarda Suni Tohumlama Yöntemlerinin Başarı Oranları Ve Kullanılabilirliği

Muhammed Furkan ÖNEN ¹
Mürsel KÜÇÜK ²¹

GİRİŞ

Koyunculuk faaliyetlerinin kökeni uzun yıllara dayanmaktadır. Koyunculuğun hem kolay olması, ekonomik kazanç sağlaması ve kültürel olarak tarihte önemli yer edinmesinden ötürü geçmişten günümüze önemli bir iş kolu olmuştur. Koyunculukta gebelik süresinin kısa olması, tarımsal ve tarım dışı ürünlerin yem olarak kullanılabilmesi ve yemden yararlanma oranının yüksek olması da koyunculuğun yetiştiriciler tarafından tercih edilme sebeplerinden olmuştur.

¹ Doktora Öğrencisi, Siirt Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootečni Anabilim Dalı, Siirt/Türkiye, ORCID: [0009-0000-4481-5891](https://orcid.org/0009-0000-4481-5891), furkanonen090@gmail.com

² Prof. Dr., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, Siirt/Türkiye, ORCID: [0000-0002-0544-444X](https://orcid.org/0000-0002-0544-444X), murselkucuk@gmail.com

Koyunculuk ülkemizde de en eski tarihlerinden beri var olan, çok geniş yayılma alanına sahip, sayısal varlık bakımından en yüksek hayvan sayısının olduğu bir yetiştiricilik koludur. Koyunculuk; yetiştiriciliğinin kolay olması, bakım ve besleme açısından özel gereksinimlerinin olmaması, hava koşullarına ve hastalıklara karşı dirençli olmaları yetiştiriciler tarafından tercih edilme sebepleri arasındadır(Kaymakçı ve Engindeniz,2010).

Bunların yanı sıra ülkemizin coğrafi ve iklim özellikleri göz önüne alındığında koyunculuk maliyet, ekonomik kazanç, kalite, üretim, kültür vb. özellikler açısından birçok avantaja sahip olduğunu anlayabiliriz(Aksoy & Yavuz, 2012).

Tablo 1: 2010-2023 Yılları Arasında Ülkemizdeki Hayvan Sayıları

YIL	KOYUN	KEÇİ	TOPLAM
2010	23.089.691	6.293.233	29.382.924
2012	27.425.233	8.357.286	35.782.519
2014	31.140.244	10.344.936	41.485.180
2016	30.983.933	10.345.299	41.329.232
2018	35.194.972	10.922.427	46.117.399
2020	42.126.781	11.985.845	54.112.626
2022	44.687.888	11.577.862	56.265.750
2023	42.060.427	10.302.940	52.363.367

Kaynak: TÜİK, 2023

Ülkemizde her geçen gün artan nüfus miktarının neden olduğu et, süt vb. ürünlerin tüketim miktarlarındaki artış doğal olarak hayvan sayılarının arttırılmasını gereksinimini ortaya çıkarmıştır. Bu

gereksinimin sonucunda hayvan sayıları ve özellikle de küçükbaş hayvan sayıları yıllar geçtikçe artmıştır(Bolacalı, 2020).

Ülkemizin kurulduğu günden bu yana en önemli iş kolları arasında yer alan tarım ve hayvancılık günümüzde de önemini korumaktadır. Hayvancılık iş kolunda en önemli konular et ve süt üretimidir. Ülkemizdeki son dönemlerde kırmızı et üretiminin artmasında genellikle sığır ve koyun etinin önemli payı bulunmaktadır(Çiçek & ark.,2022).

Tablo 2: 2010-2022 Yılları Arasında Ülkemizde Kesilen Hayvan Sayıları (Baş)

YIL	KOYUN	KEÇİ	TOPLAM
2010	9.691.041	2.244.760	11.935.801
2012	10.755.777	2.841.307	13.597.084
2014	11.991.640	3.681.199	15.672.839
2016	13.277.503	4.346.611	17.624.114
2018	14.133.170	4.392.427	18.525.597
2020	15.801.021	4.692.010	20.493.031
2022	21.563.828	6.112.179	27.676.007

Kaynak: TÜİK, 2023

Tablo 3: 2010-2022 Yılları Arasındaki Et Tüketim Miktarı (Ton)

YIL	KOYUN	KEÇİ	TOPLAM
2010	135.687	23.060	158.747
2012	97.334	17.430	114.764
2014	98.978	26.770	125.748
2016	82.485	31.011	113.496
2018	100.831	13.603	114.434
2020	345.639	90.443	436.082
2022	489.354	115.938	605.292

Kaynak: TÜİK, 2023

Tablo 4 :2010-2022 Yılları Arasındaki Süt Tüketim Miktarı (Ton)

YIL	KOYUN	KEÇİ	TOPLAM
2010	816.832	272.811	1.089.643
2012	1.007.007	369.426	1.376.433
2014	1.113.937	463.270	1.557.207
2016	1.160.413	479.401	1.639.814
2018	1.446.271	561.862	2.008.133
2020	1.101.065	589.617	1.690.682
2022	1.067.342	540.426	1.607.768

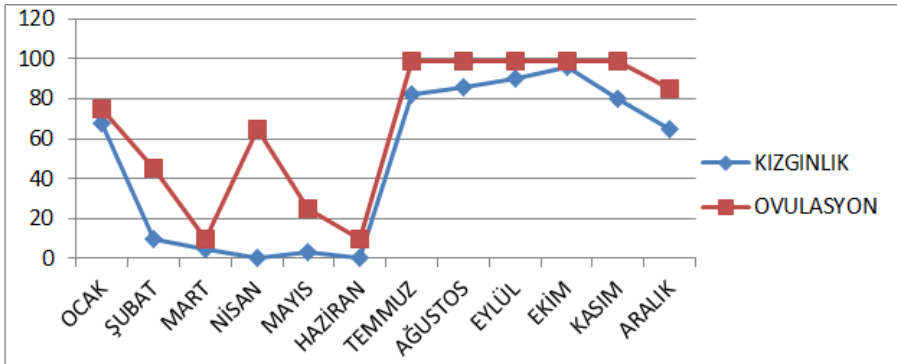
Kaynak: TÜİK, 2023

KOYUNLARDA ÖSTRUS

Küçükbaş hayvanlar mevsime bağlı poliöstriktir. Koyunlarda seksüel sikluslar aydınlık-karanlık sürelerinden etkilenmektedir. Günlerin kısaldığı dönemlerde sıklık aktivite gösterirler. Östrus takibi büyükbaş hayvanlarda olduğu kadar belirgin ve kolay değildir. Östrus takibi için arama koçları kullanılır(İbiş & Ağaoğlu, 2016).

Pineal bezde üretilen melatonin özellikle üreme dışı sezonundan, üreme dönemine geçişte olan koyunlarda hipotalamus ve hipofizi etkileyerek prolaktin salınımını deprese ederek gonadotropinlerin serbest kalmasına ve ovaryum aktivitesinin başlamasını sağlar(Alaçam, 1993).

Koyunlarda üreme fonksiyonlarını aşım mevsimi ve anöstrus olmak üzere iki farklı periyotta incelemek mümkündür. Aşım periyodunda gebelik olmadıysa, kızgınlık ve ovulasyon aktiviteleri düzenli şekilde tekrar etmektedir. Anöstrus döneminde bu kızgınlık ve ovulasyon aktiviteleri durmaktadır(Tempest & Boaz, 1973).



Grafik 1: Aylara Göre Kızgınlık ve Ovulasyon Düzeyleri

Kaynak: Tempes & Boaz, 1973

Koyunlarda üreme mevsiminin başlaması ve bu sürenin uzunluğu ülkelerin bulundukları enleme göre değişkenlik gösterir. 40° üzerindeki enlemlerde bulunan ülkelerdeki hayvanlarda üreme

mevsime bağlı iken, 40° enlemi altında bulunan ülkelerdeki hayvanlarda yıl boyu cinsel aktivite göstermektedir. Çünkü 40° enlemi altında bulunan enlemler ekvatora yakın olduğu için günün aydınlık kısmının süresi çok değişiklik göstermez. Bu yüzden yıl boyu sıklık aktivite gösterirler.

Ilıman iklimlerde yaşıyan ırklarda üreme, mevsime bağlı değişmektedir. Bu iklimde yaşıyan bir ırka ait ovaryum aktivitesi takip edildiğinde Şubat ve Mart aylarında yani gndzlerin kısa olduğu dönemde çok az aktiftirler. Haziran ve Temmuz aylarında ise aktivite hiç yoktur. Cinsel aktivite tam olarak Eylül ayında başlamaktadır. Tropik iklimde yaşıyan ırklarda ise sıklık aktivite hiç durmamaktadır(Tempest &Boaz, 1973).

Çeşitli koyun ırklarında anöstrus dönemi, fecondasyon (döllenme) yüzdesi, sperma kalitesi, embriyonik ölümler, çoklu doğum oranları, kuzularda doğum/sütten kesim ağırlıkları, ovaryumların aktivitesi ve evre şartlarına adaptasyon durumu belirgin farklılıklar göstermektedir. Reprodüktif verimliliği etkileyen diğer faktörler; beslenme, hastalıklar, yetiştirme sistemleri ve iklim gibi çevresel etkililerdir(Yılmaz, Küçük, Denk & Bolacalı, 2006).

KOYUNLARDA KOÇ KATIMI

Aşım mevsimi gelmiş, kızgınlıktaki koyunun ko ile iftleştirilmesine koç katımı ya da aşım denir. Koyunculukta serbest aşım, sınıf aşımı ve elde aşım olmak üzere 3 aşım yöntemi vardır.

SERBEST AŞIM

Bu yöntemde sürü içine yeteri kadar ko bırakılır. Kızgınlıktaki koyunlar ko tarafından aşılır. Koç başına düşen koyun sayısı tespit edilemez. Kolardan biri lider durumuna geçer ve daha fazla sayıda aşım yapar. Koçlar başlarda çok aşım yaptığı için sonlara

doğru koçun yaptığı aşılarda bir kısmı döl tutmayabilir. Bu yüzden serbest aşım da, diğer aşılara göre daha fazla sayıda koç bulundurulmalıdır. Bu yöntemde aşımı yapan koç bilinmediği için koça göre seçim yapılmaz. Türkiye’de köylerdeki sürülerde bu yöntem kullanılmaktadır. Bu usul kullanılacaksa 1,5 yaşında genç bir koç için 10-15, ergin çağda olan bir koç için 30-35 koyun düşecek şekilde sayısal oranlama yapılmalıdır.

SINIF AŞIMI

Bu yöntemde koyunlar vücut ve verim özelliklerine sınıflandırılır. Bu sınıflarda belirlenen özelliklere göre koç seçimi yapılır. Aşım zamanı geldiği zaman istenilen nitelikte, gerekli sayıda koç sürüye katılır. Bu yöntem düzeltme veya ıslah çiftleştirmesi olarak kabul edilebilir. Bu yöntemde de kuzuların babalarını tespit etmek pek mümkün değildir. Aşımların kontrolü ve bir koçun aynı koyunu tekrar tekrar aşmasını engellemek zordur. Köylerde yetiştirilen sürülerde ıslah açısından bu yöntem kullanılabilir. Bu usul tercih edilecekse sıfat çağına yeni gelmiş bir koç için 25-30 koyun, ergin çağındaki koç için 40-60 koyun olacak şekilde oranlama yapılmalıdır.

ELDE AŞIM

Koç ve koyunların bir amaç içinde yani istenen verim özelliklerinin sağlanması adına, kızgınlığın gözlenmesi ile bir araya getirilip çiftleştirilmesi usulüne dayanmaktadır. Bu yöntemde hangi koçun hangi koyunla çiftleştiği bellidir. Yani kuzularda seçim yaparken koça göre seçim yapmak mümkündür.

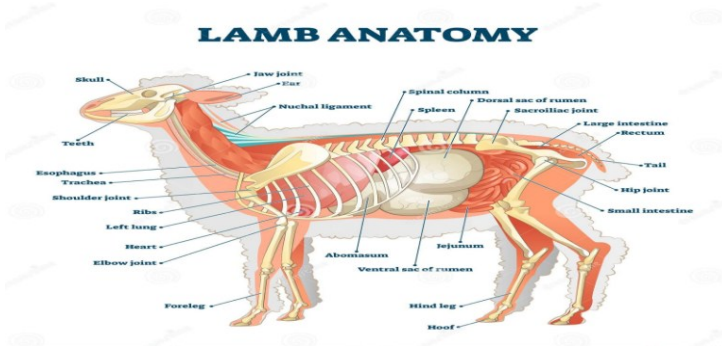
Koç katımı döneminde, kızgınlık gösteren koyunları tespit etmek için sürüye koç katılır. Arama koçunun çiftleşmesini önlemek için koçun karın ve kasık bölümüne çuval, örtü vb. takımlar sarılıp

sürü içine katılır. Koç kızgınlık gösteren koçu tespit eder ama üstündeki takım nedeniyle aşım yapamaz. Bu yöntemle kızgınlık gösteren koyunlar sürüden ayrılır ve aşım listesinde aşılacak için ayrılmış koç ile çiftleştirilir. Bu yöntem kullanılacaksa genç bir koça 30-40, ergin bir koça ise 60-80 koyun hesap edilir(Akmaz, İnal & Garip, 2021).

KOÇ KATMADAN ÖNCE YAPILMASI GEREKENLER

Koç katmadaki başarı temel olarak; gebelik oranının yüksek olmasına ve koç katım süresinin kısa tutulmasına dayanmaktadır. Bu amaçla; koyun ve koçlara, aşım dönemi öncesinde ek yemleme (flushing) yapılması kısırılık oranını düşürür. İkizlik oranını artırır. Besleme dışında, koçların sürü içine salınması, aşımın serin ortam ya da havalarda yapılması, uzun süreli sıcaklardan kaçınılması koç katımı öncesinde yapılarak aşım döneminde istenen verim düzeyine ulaşılmasında fayda sağlar(Akmaz, İnal & Garip, 2021).

KOYUNLARIN GENEL ANATOMİSİ



Şekil 1 : Koyunların Genel Anatomisi

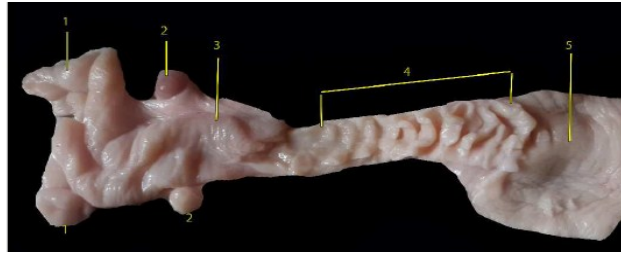
Kaynak: iStockphoto LP, [Erişim tarihi 12 Aralık 2024.](#)

KOYUNLARDA DOĞUM KANALI ANATOMİSİ

Doğum kanalı kemik ve yumuşak doğum kanalı olmak üzere 2 bölümden oluşur. Yumuşak doğum kanalını oluşturan yapılar kemikten doğum kanalı içinde yer alır. Kemikten doğum kanalı ilium, ischi ve pubis ve sacrum ile ilk üç kuyruk omurundan oluşur. Pelvis kanalının cranial kısmında bir girişi (Apertura pelvis cranialis), caudal kısmında bir çıkışı (Apertura pelvis kaudalis) bulunmaktadır (Dursun, 2002).

Apertura pelvis cranialis'in dorsalde sakrum tabanı, lateralde iliopectina, ventralinde ise peçten pubis şekillenir. Bu kısım inek ve koyunlarda ovaldir. Apertura pelvis caudalis, cranialise göre daha dar ve küçüktür. Bu iki yapı doğumda yavru çıkışında en büyük engeli oluşturmaktadır (Dursun, 2002).

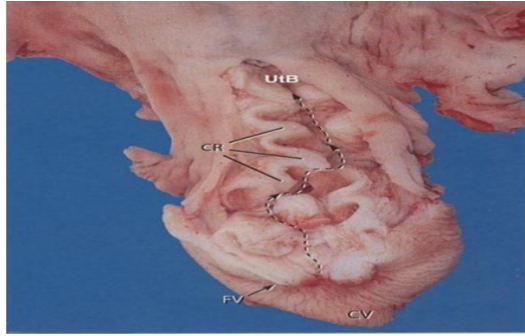
Yumuşak doğum kanalı içten dışa doğru; ovaryum, uterus, cervix, vagina ve vulvadan oluşmaktadır. Ovaryum koyun ve keçilerde oval bir yapıdadır. Cervix uteri; pelvis tabanının orta kısmında, katı kıvamlı, silindirik biçiminde oluşumdur. Cervix, spermatozoonların uterusu geçmesini, doğumda genişleyerek yavru çıkışını sağlayan organdır. Ruminantlardaki cervixte transversal yapıda annular halkalar bulunur (Dursun, 2002).



Şekil 2: 1. Uterine horns 2. Ovaries 3. Uterine body 4. Cervical Canal Folds 5. Vagina

Kaynak: ElKarmoty & ark., 2020.

Küçükbaş hayvanlarda serviks yapısı uterusu ulaşmaya engel oluşturan bir yapıdır. Bu yüzden bazı çalışmalarda dondurulmuş sperma kullanılarak intraservikal tohumlama uygulamaları yapılmıştır fakat bu çalışmalarda başarı oranı tatmin edici düzeylerde olmamıştır. Yürütülen başka çalışmalarda ise intrauterin tohumlama uygulaması yapılmıştır ve bu çalışma sonuçları daha kabul edilebilir düzeyde başarılı olmuştur. İntrauterin tohumlama yapılması için uygulanan yöntemlerden biri de laparoskopik uygulamasıdır(Maxwell & Salamon, 1993).



Şekil 3 : Koyunların Serviks Yapısı

Kaynak: Akbulut, 2019.

SUNİ TOHURLAMA

Suni tohumlama uygulaması, en iyi özelliklere sahip erkek damızlıkların kullanılıp elde edilecek yavrunun özelliklerinin iyi olmasını amaçlamaktadır. Suni tohumlama sığırlarda yaygın şekilde yapılmaktadır. Küçükbaş yetiştiriciliğinde, koyun ve keçilerin serviks yapılarından ötürü trans-servikal yolla uterusu ulaşmak pek mümkün olmamıştır. Bu yüzden interservikal ve laparoskopik yardımıyla intrauterin yöntemlere başvurulmuştur.

Laparoskopi, terim olarak karın boşluğunun görüntülenmesi anlamına gelmektedir. Laparoskopi temel olarak soğuk ışık ile aydınlatılan fiberoptik sistemin hayvanların genital organlarının

görülmesini ve spermanın doğrudan uterusu uygulanmasını sağlayan suni tohumlama yöntemidir.

Laparoskopi yönteminde en önemli avantaj dondurulmuş sperma kullanımının da kabul edilebilir gebelik oranlarını sağlayabilmesidir. Ayrıca her tohumlamada hayvan başına düşen spermatozoon sayısını azaltma imkanı vardır. Fakat laparoskopi uygulamasının bir cerrahi girişim olması hasebiyle hayvanlarda stres oluşumuna neden olması dezavantajdır(Arı, Çağın ve Kulaksız, 2016).

KOYUNLARDA SUNİ TOHURLAMA BAŞARI ORANLARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Koyunlarda suni tohumlama başarı oranları endojen ve ekzojen nedenlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu nedenler; (El Amiri & Rahim, 2024)

A-) Endojen Nedenler:

* Genetik Faktörler * Yaş * Semen kalitesi * Servikal Anatomi ve Fonksiyonları

B-) Ekzojen Nedenler:

* Hormonal Faktörler * Beslenme * Sıcaklık Stresi * Semen işleme ve Suni Tohumlama Tekniği

KOYUNLARDA ÖSTRUS SENKRONİZASYON YÖNTEMLERİ

Küçükbaş hayvanlarda östrus senkronizasyonlarının denetlenmesi açısından doğal yöntem olarak ışık uygulaması, koç katımı ve flushing gibi yöntemler olsa da hormonal açıdan senkronize etmek için PGF2 α ve analogları, eCG ve PMSG, GnRH, hCG ve melatonin gibi hormonlar ve bunların kombineleri kullanılmaktadır. Bu hormonlar intravaginal olarak, deri altı implant olarak ve oral olarak uygulanabilmektedir. Bu hormonların

uygulanmasındaki amaç, sürüdeki hayvanların östruslarının düzenli ve kontrol altında olmasını sağlamaktır.

Tablo 5: Östrus Döneminde Uygulanan Senkronizasyon Yöntemleri

Tür	Yöntem	Progesteron uygulama yolu	Östrus (%)
Koyun	Progesteron süngeri(CIDR-g, 1 hafta) sonra PGF2a + 200 ünite eCG	İntravaginal	96
Koyun	Norgestomet implant(Crestar, 9 gün) sonra 500 ünite eCG	Deri altı implant	100
Koyun	FGA (Sünger, 2 hafta) akabinde 400 ünite eCG	İntravaginal	96.7
Koyun	Melengestrol Acetate Type A (günlük 0.25 mg, 12 günlük)	Oral	70.50

Kaynak: İbiş ve Ağaoğlu, 2016

Tablo 6: Anöstrus Döneminde Uygulanan Senkronizasyon Yöntemleri

Tür	Yöntem	Progesteron uygulama yolu	Östrus (%)
Koyun	FGA(Sünger, 12 gün), çıkartınca 500 ünite eCG	İntravaginal	77
Koyun	HPK,2 günde bir 25 mg totalde 7 doz), ertesi günü 800 ünite eCG	Kas içi	30
Koyun	Norgestomet implantı, 2 hafta boyunca implant alınca 500 ünite eCG	Deri altı implant	86.67
Koyun	Melengestrol Acetate Type A, günlük 25 mg, 10 gün, ardından 400 ünite eCG ve 200 ünite hCG	Oral	14

Kaynak: İbiş ve Ağaoğlu, 2016

LAPAROSKOPIK SUNİ TOHUMLAMA(LST) YÖNTEMİYLE TOHUMLAMA

Laparoskop temel olarak trokar, kornuları delmek için kullanılan kateter, steril hava veya karbondioksit veren pompa, halojen/xenon ampuller ve kablolar ile ışık kaynağı, video kamera ve görüntü ekranı, laparoskopi cerrahi seti ve laparoskopi beşiği olarak adlandırılan 45⁰ eğimli masadan oluşan ekipmanların kullanılarak cerrahi yöntemle hayvanın suni tohumlamasının yapıldığı sistemdir(Sylla & ark., 2021).

LST ekipmanlarının dışında hayvanın sedasyonunda ve anestezi altına alınması için gerekli olan anestezik madde, operasyon sonunda kullanılacak dikiş iplikleri ve post-operatif antibiyotik de hazır bulundurulmalıdır. LST uygulaması planlanacaksa hayvana en az 24 saat önce yem ve 12 saat önce de su verilmemelidir. Çünkü LST esnasında rumenin dolu olması aspirasyon pnömonisine ve ölüme neden olabilir.

LST operasyonu için anesteziye alınan hayvan sırt üstü şekilde operasyon masasına yatırılır. Baş ve ayaklar masaya sabitlenir. Operasyon bölgesi tıraş edilir ve antiseptik ile temizlenir. Daha sonra trokarın yerleştirileceği deriye trokar çapına göre ensizyon atılır. Trokar karın duvarını geçilmesi esnasında iç organlara zarar verilmemesi ve daha iyi görüntüleme için Veress iğnesi(gizli iğne ucu) ile karın duvarı delinir ve karın içine hava verilir. Bu aşamaları yaptıktan sonra baş, aşağı gelecek şekilde 45 derece eğimle yatırılır. Bunun amacı rumen ve bağırsakların operasyon alanından uzaklaştırılması ve kornuların daha net görülmesi sağlanır.

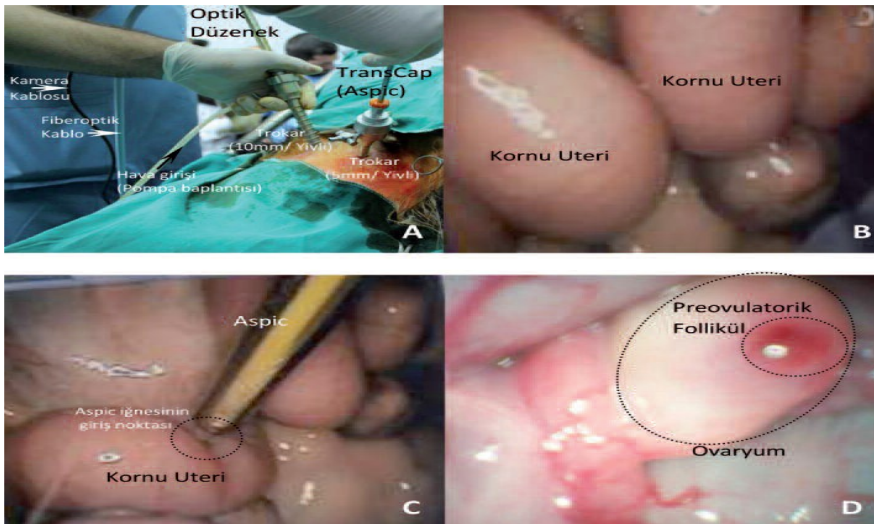
Gerginleşen karın duvarı, meme loblarının 5-6 cm aşağısından ve median hattın 3-4 cm lateralinden uygun çaplı trokar ile çift taraflı (sağ ve sol) olarak delinir. Kullanılan trokarlar ile delme işlemi sırasında trokarın ucunun hafif aşağı bakması ve koruma uçlu (sustalı) trokar kullanımı iç organların zarar görmesini engelleyecektir. Yivli trokar kullanılması trokarın karın duvarına sabitlenmesini ve LST işlemleri sırasında kolaylık sağlayacaktır. Bir trokardan laparoskopik düzeneğin optiği diğer taraftaki trokardan ise stile (veya Transcap) geçirilerek kornu uteriler bulunmaya çalışılır. Kornu uteriler vesika ürinerianın hemen altında bulunur. Ovaryumların görünmesi için stile ile kornu uterilerin hafifçe düzeltilmesi gerekir. Böylelikle ovaryum üzerindeki oluşumlarda görülebilir. Uterus tohumlama pozisyonuna getirilip ardından palpasyon probu çıkarılır. Tekrar bu kanaldan sperma bulunan suni tohumlama kateteri abdominal boşluğu sokulur. Ardından tohumlamayı yapacak uzman kornu uterusinin orta bölümüne yakın ve damarsız bölgeden kateterin iğnesini sokarak spermanın doğrudan uterus boşluğu içerisine bırakılmasını sağlar. Aynı işlem diğer taraftaki kornu uteride de uygulanır.

Tohumlama kateterinin ucundaki iğne keskin bir yapıya sahiptir ve çapı 0,04 mm'dir. Bu nedenle karın içine girilirken ve suni tohumlama işlemi gerçekleştirilene kadar iğne ucu özel mekanizma ile gizlenmelidir. Bütün bu işlemler her hayvan için 3-4 dakika sürer. Her iki kornu uterusinin tohumlanması bittikten sonra trokar kanülleri karın duvarından çıkartılır ardından karın duvarı üzerinde bulunan iki ufak yara stapler ile kapatılır ve antibakteriyel sprey kullanılır. Ayrıca geniş spektrumlu antibiyotik kullanılabilir(Arı, Çağın & Kulaksız, 2016).



Şekil 4: Laparoskopiy yapan uzman ve Laparoskopiy masası

Kaynak: Akbulut, 2019



Şekil 5: LST Tekniğinin Uygulanması

Kaynak: Arı, Çağın ve Kulaksız, 2016

LST BAŞARISINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

LST tekniği sonrasında gebelik oranlarının başarı oranları birçok nedene bağlı olarak artıp azalabilmektedir. Bu nedenler; koyunculuktaki sürü idaresi ve yönetim, hayvanların sağlığı, hayvanların ırkı, yaşı ve VKS'leri, senkronize protokollerinin farklı olması, koçların üreme yeteneği, LST'nin yapıldığı dönemler,

semenin elde edilmesi, sulandırılması ve dondurulmasında kullanılan yöntemlerin başarısı, LST’de kullanılan spermanın taze veya dondurulmuş olması, LST’nin yapıldığı dönem, kullanılacak olan spermin miktarı, anestezi yöntemi, LST’de kullanılacak olan aletlerin kalite durumu, LST’yi yapan kişinin tecrübe ve becerisi, tohumlama öncesi ve post-operatif dönemde stres durumu ve barınak şartları gibi faktörler başarıyı etkileyebilir(Arı, Çağın & Kulaksız, 2016).

LST TEKNİĞİNDE DİKKAT EDİLMESİ GEREKENLER VE KOMPLİKASYONLAR

LST uygulaması esnasında omentuma rastlama veya optik sistemin omentuma saplanması uygulamayı zorlaştırmaktadır. Eğer omentuma rastlanılır veya omentuma saplanılırsa uygulamayı yapan hekimin hızlı bir hamle ile optik sistemi kurtarması gerekmektedir. Trokar ucun iç organların zarar görmemesi açısından uygun bir iğne ile karın boşluğuna hava verilmesi gereklidir. Meme loblarının 4-5 cm altından giriş yapılmasında fayda vardır.

Bu önlemlere rağmen veya klasik yöntemin kullanılması sonucu omentumun balon gibi şişmesi sonucu omentum ile karşılaşılıyor ise trokar ucu karın boşluğundan tamamen çıkılmadan olabildiğince karın duvarına yakın getirilerek yatay bir şekilde meme loblarına doğru çevrilir ve yatay vaziyette meme loblarına doğru nazıkçe döndürme hareketi ile omentum ekarte edilmeye çalışılır. Bu manevra ile omentum geçilebilmektedir. Eğer bu yöntem ile omentum aşılamıyor ise önceden verilen havanın boşaltılarak karın boşluğuna tekrar girilmesi denenebilir. Omentuma rast gelmenin veya saplanmanın LST prosedürünü uzatacağı, hayvanda daha fazla strese neden olacağı ve teknikeri de yorarak başarısını azaltacağı unutulmamalıdır.

Trokarın meme başına yakın girilmesi sonucunda kanama görülme ihtimali olduğundan ve kanamanın de hem operasyon esnasında hem de postoperatif sorun oluşturacağından ötürü dikkat edilmesi gereken bir husustur. Bu yüzden meme başlarının 4-5 cm altından giriş yapmak bu durumun önüne geçebilir.

Anatomik yapının bilinmesi, reproduktif organların bilinmesi ve tanınması, mezbahane materyalleri üzerinde denemelerin yapılması uygulama öncesinde tecrübe edilmesi gerekmektedir. Deneyimsiz bir şekilde LST uygulanması başarısızlıkla sonuçlanması muhtemeldir.

LST uygulamasının en önemli risklerinden biri de idrar kesesinin yanlışlıkla tohumlanması ve bunun sonucunda da idrar kesesinde ruptur oluşmasıdır. Bu durumun önüne geçmek için şüpheli doku stile ile maniple edilerek idrar kesesi veya bağırsak olup olmadığı kontrol edilmeden suni tohumlama yapılmamalıdır. Uygulamada acele edilmemelidir. Tecrübe kazandıkça bu sorun en aza indirilir.

Uygulama öncesinde kullanılacak olan anestezi madde seçimi önemlidir. Anestezi dozlamaya dikkat edilmelidir. Hayvanın erken anesteziye çıkması gereken veya derin anesteziye girmeyecek dozun ayarlanması gerekir. Bu konuda en iyi çözüm hayvanı inhalasyon yoluyla anesteziye almaktır.

Uygulama öncesinde hayvanın aç bırakılmaması, batin içi regürjitasyonu tetikleme, karın boşluğuna gerekenden fazla ve kontrolsüz hava verilmesi ve hayvanın baş aşağı yatırılması aspirasyon pnömonisi riskine neden olmaktadır. Bu konuda hayvanın uygulama öncesi 24 saat aç ve 12 saat susuz bırakılması bu sorunun önüne geçmek için yeterlidir(Arı, Çağın & Kulaksız, 2016).

LST UYGULAMALARI VE BU TEKNİĞİN BAŞARI ORANLARI

Yapılan bir çalışmada hayvanlara uygulanan senkronizasyon sonucu 48 saat içerisinde hayvanlar östrus göstermiştir. Östrus gösteren hayvanlar farklı sperma yoğunluğunda payetlerle suni tohumlama (100×10^6 , 200×10^6 ve 400×10^6) yapılmıştır. 28 hayvan (%47), 16 gün sonra tekrar kızgınlık göstermiştir. Tohumlanan 60 hayvandan 32 tanesi (%53) gebe kalmıştır. Çalışma sonucunda ise 400×10^6 yoğunlukta tohumlanan hayvanların gebelik oranları %70 (14 koyun) olarak hesaplanmıştır(Aktar, 2023).

Yapılan bir çalışmada üreme mevsimi dışındaki Merinos ırkı koyunlarda 6 gün CIDR uygulaması ve CIDR çıkarıldıktan sonra PGF2a ile 300 IU PMSG enjekte edilmiştir. CIDR çıkarıldıktan 52-57 saat sonra sabit zamanlı suni tohumlama yapılmış olup, tohumlamada 100×10^6 milyon yoğunlukta taze sperma kullanılmıştır. Bu çalışmada hesaplanan fertilitite oranı %80 olarak hesaplanmıştır(Viariono, Rubianes & Menchaca, 2013).

Üreme mevsiminde bulunan Merinos ırkı koyunlarda yapılan bir çalışmada hormonal bir senkronizasyon yapılmamış olup doğal östrusa göre tohumlama yapılmıştır. Tohumlamada donmuş sperma kullanılmıştır(100×10^6 milyon yoğunlukta). Bu çalışmada fertilitite oranı %63 olarak tespit edilmiştir(Ataman & Çoyan, 1996).

Diyarbakır'da İvesi ırkı ile yapılan çalışmada 49 koyuna, östrus senkronizasyonu amacıyla 12 gün boyunca intravajinal progesteron içeren sünger yerleştirilmiştir. Sünger çıkarılmadan 2 gün önce PGF2a, süngerin çıkarılmasını takiben 600 IU PMSG kas içi uygulanmıştır. Östrus tespitinden 10,15 ve 18. Saat sonra tohumlanan

koyunlar 3 gruba ayrılmıştır. 10 saat sonra tohumlanan 16 koyundan 4 tanesi gebe kalmıştır(%25). 15 saat sonra tohumlanan 17 koyundan 4 koyun gebe kalmıştır(%23,5). 18 saat sonra tohumlanan 16 koyundan 7 koyun gebe kalmıştır(%43,8)(Özmen, 2021).

Yapılan bir çalışmada servikal kıvrımların cerrahi insizyonu(SICF) sonrası transservikal tohumlama ve laparoskopik suni tohumlamadaki başarı oranlarını karşılaştırılmıştır. 80 adet koyun 2 gruba ayrılmış ve yarısına LST, diğer gruba SICF yöntemi kullanılarak suni tohumlama uygulaması yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda LST yöntemi uygulanan hayvanlarda %70 gebelik, %65 kuzulama oranı elde edilmiştir. SICF sonrasında transservikal tohumlama yapılan grupta %77.10 gebelik, %68.60 kuzulama oranı elde edilmiştir(Pau & ark., 2020).

İtalya’da yapılan ve Sopravissana ırkı koyunlar üzerinde yürütülen çalışmalarda ergin ve genç koyunlarda LST tekniği kullanılarak suni tohumlama yapılmıştır. Uygulama sonrasında gebelik kontrolleri yapılmış ve 75 ergin koyunun 45’inin(%60) gebe olduğu ve 44’unun(%58.67) yavruladığı tespit edilmiştir. Genç hayvanlarda ise 40 koyundan 28’inde(%70) gebelik olduğu ve 28’nin(%70) yavruladığı kaydedilmiştir(Sylla & ark., 2021).

Yapılan bir çalışmada 646 koyuna suni tohumlama uygulanmıştır. Bu çalışmada taze sperma ve dondurulmuş sperma kullanımı kıyaslanmıştır. Tohumlamalar LST tekniği kullanılarak yapılmıştır. 239 koyunda taze sperma kullanılmış ve 138 hayvanda(%58) gebelik tespit edilmiştir. 407 koyunda ise dondurulmuş sperma kullanılmış ve 283(%70) hayvanda gebelik olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ayrıca VKS ve tohumlama

yerlerinin de etkisi olduğu gözlemlenmiştir(McCappin & Murray, 2021).

SONUÇ

Koyun yetiştiriciliği ülkemizde yaygın olarak yapılmakta olan, birçok insanın geçim kaynağı olarak gördüğü bir iş koludur. Koyunculuk bakım ve besleme açısından kolay olmasıyla, ekonomik olarak maliyeti büyükbaşta göre daha uygun olmasıyla, çevre şartlarına uyum sağlama açısından daha kolay olmasıyla, gebelik süresinin kısa olması vb. nedenlerden ötürü koyunculuk tercih edilir bir iş olmaktadır. Birçok hayvancılık sektöründe olduğu gibi koyunculuk işinde de işletmecinin elde ettiği kazanç hayvanlarının gebe kalması ve yavru eldesidir. Koyunculukta hayvanların gebe kalması ve yavru vermesi için yapılan birçok uygulama bulunmaktadır. Koç katımı, östrus senkronizasyonu ve suni tohumlama uygulamaları yapılmaktadır. Bu uygulamalardan suni tohumlama alanında yapılan uygulama olan LST, bu teknikle yapılan çalışmalar ve başarı oranları ile başarı oranlarını etkileyen faktörler üzerinde durulmuştur.

LST tekniğı; içinde cerrahi girişim barındıran, tecrübe, pratiklik, iş gücü, bilgi ve beceri isteyen bir tekniktir. Bu tekniğın tam anlamıyla yapılması için uygun şartların oluşturulması ve uygun ekipmanların tedarik edilmesi gerekmektedir. LST uygulaması için steril ortama ihtiyaç vardır. LST yapılması için anestezi maddelere, post-operatif antibiyotik ilaçlara ihtiyaç vardır. Hayvanları belli bir düzende tohumlamak ve doğumları kontrol altına almak için östrus senkronizasyonu yapılmalıdır. Bunun için de hormon gereklidir. Bu ilaç ve hormonların maliyetleri genel olarak yetiştirici açısından pahalıdır.

Yapılan çalışmalarda suni tohumlama ile elde edilen başarı yüzdesi, yapılan çalışmanın tekniğine göre(taze sulandırılmış sperma

kullanılarak, donmuş sperma kullanılarak, farklı yoğunluklarda sperma kullanılarak) kullanılan hayvan ırkına göre(Saanen, Boer, Ankara vb.) değişmektedir. Yapılan çalışmalarda başarı yüzdeleri değişken olmakla birlikte bazı çalışmalarda %30-40 bandında, bazı çalışmalarda %40-50 oranında, bazı çalışmalarda %50-60 oranında, bazı çalışmalarda ise %60-70 oranında değişmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda LST tekniği kullanılarak farklı yöntemler denenmiştir. (SICF yöntemi, trans-servikal tohumlama, farklı senkronizasyon protokolleri, taze-dondurulmuş sperma vb.) Bu çalışmalarda da değişkenlik göstermekle birlikte ortalama %60-80 oranında başarı oranları tespit edilmiştir. Bu çalışmalar da koyunculukta suni tohumlama konusundaki başarı hakkında bilgi edinilmesini sağlamıştır.

Sonuç olarak; genel anlamda LST tekniğinin elit hayvanlardan elde edilen spermaların kullanılarak hayvanların gebe kalması açısından ve gebelik oranları açısından iyi bir tekniktir. LST tekniği hayvanların ıslahında, sürü ıslahında, verim özelliklerinin geliştirilmesinde önemli ilerlemeler sağlayabilecek bir uygulamadır. Fakat LST tekniği hem uygulama olarak steril ortam gereksinimi yönünden, post-operatif komplikasyonlar görülme ihtimalinden, kullanılacak olan ilaç ve hormon fiyatları bakımından, uygulamayı yapacak kişilerin alanında yetkin ve tecrübeli insan ihtiyacından ötürü çok tercih edilmemektedir. Küçükbaş yetiştiriciliğinde bu kadar fazla gereksinim ve maliyetlerin bulunduğu bir uygulama saha koşullarında uygulanması pek uygun değildir.

KAYNAKÇA

Akbulut, NK. (2019). Koyunlarda östrus siklusunda ve gebeliğin erken döneminde uterustan elde edilen ultrason görüntülerinin işlenmesi. Erişim tarihi 12 Aralık 2024.

Akmaz A, İnal Ş, Garip M. (2021). Zootečni II. (1. Baskı). Konya: Atlas Akademi.

Aksoy A, Yavuz F. (2012) "Çiftçilerin küçükbaş hayvan yetiştiriciliğini bırakma nedenlerinin analizi: Doğu Anadolu bölgesi örneği." Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi 27.2, 76-79.

Aktar, A, et al. (2023). "Doğu Friz Irkı Koyunlarda Farklı Tohumlama Dozlarının Gebelik Başarısı Üzerine Etkisi." Journal of Research in Veterinary Medicine 42.1: 32-36.

Alaçam E, (1993). Koyunlarda sıklık düzen ve üremenin denetlenmesi. Hayvancılık Araş. Derg., 3, 65-69.

Arı, A, Çağın U, Kulaksız, R. (2016)." Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics 2.1: 38-47.

Ataman, MB, Çoyan, K. (1996). Koyunların donmuş-çözülmüş sperma kullanılarak laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlanması. Hayv Araş Derg; 6:31-4.

Bolacalı M. (2020). Koyunculukta Rakamlar Konuşuyor, Editör: Evereklioglu C., Gece Kitaplığı Yayınevi, pp: 371 -392; ISBN:978-625-7319-26-3, Ankara.

Cheminau, P, Malpoux, B, Delgadillo, J, Guerin, Y, Ravault, JP, Thimonier, J, Pelletier, J. (1992). Control of Sheep and Goat Reproduction: Use of Light and Melatonin. Animal Reproduction Science, 30:157-184.

[Cengiz Torun \(2024\). LST Tekniği 2024.](#) (12/12/2024 tarihinde www.saanen.gen.tr adresinden ulaşılmıştır).

[Cengiz Torun \(2024\). LST Masası 2024.](#) (12/12/2024 tarihinde www.saanen.gen.tr adresinden ulaşılmıştır).

Çiçek A, et al. (2022). "Türkiye’de koyun yetiştiriciliğinin önemi ve ekonomik analizi." MAS Journal of Applied Sciences 7.Özel Sayı, 1303-1322.

Dursun N. (2002). Veteriner Anatomi (8. Baskı). Ankara: Medisan Yayınevi.

El Amiri, B, & Rahim, A. (2024). Exploring Endogenous and Exogenous Factors for Successful Artificial Insemination in Sheep: A Global Overview. *Veterinary Sciences*, 11(2), 86.

ElKarmoty, AF, Tolba, A, Khattab, MA, & Fathi, MA. (2020). Rahmani koyunlarının servikal kanalında anatomik ve histolojik çalışmalar. *Bulgar Veterinerlik Dergisi*, 23 , 285-294.

IStockphoto LP (2024). *Koyunların Genel Anatomisi*. (12/12/2024 tarihinde <https://www.istockphoto.com/tr> adresinden ulaşılmıştır).

İbiş M, Ağaoğlu AR. (2016). "Koyun ve keçilerde üremenin senkronizasyonu." *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University* 1.2: 47-53.

Kaymakçı M, Engindeniz, S. (2010). "Türkiye’de keçi yetiştiriciliği: sorunlar ve çözümler." *Ulusal Keçicilik Kongresi*, 24–26 Haziran 2010, 1-25.

Kulaksız, R, Ari, A, Çağın, U. (2016). Correctness/Incorrectness on Laparoscopic Artificial Insemination in Sheep and Goats. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1. 1. Erişim tarihi 12 Aralık 2024.

Maxwell, WM, Salamon, S. (1993). "Liquid storage of ram semen: a review." *Reproduction, Fertility and Development* 5.6: 613-638.

McCappin N, Murray RD. (2021). Some factors affecting pregnancy rate in ewes following laparoscopic artificial insemination. *Vet Rec*. Jan 29;168(4):99.

Özmen, MF. (2021). Mevsim Dışında İntravajinal Sünger Yöntemi İle Senkronize Edilen İvesi Koyunlarında Suni Tohumlama Zamanının Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 16(3), 269-274.

Pau, S, Falchi, L, Ledda, M, Pivato, I, Valentino, M, Bogliolo, L, Ariu, F, & Zedda, MT. (2020). Servikal Kıvrımların Cerrahi Kesisi (SICF) Yapılan Koyunlarda Dondurulmuş Çözölmüş Semenle Transservikal Tohumlama Sonrası Üreme Performansı: Laparoskopik Yapay Tohumlama ile Karşılaştırma. *Hayvanlar* , 10 (1), 108.

Sathe, SR. (2018). Laparoscopic Artificial Insemination Technique in Small Ruminants—A Procedure Review. *Front. Vet. Sci.* 5:266.

Sylla, L, Pistolesi, A, Corsi, I, Crociati, M, Stradaioli, G, Monaci, M. (2021). Orta İtalya'daki Sopravissana cinsi koyunlarda donmuş-çözölmüş sperma ile laparotomik intrauterin tohumlama. İtalyan Hayvan Bilimleri Dergisi , 20 (1), 928–934.

Tempest, WM, Boaz, TG. (1973). The Seasonality of Reproductive Performance of Merino Sheep in Britain. *Anim. Prod*, 17:33-41. Thibault, C., Levasseur, M.C. 1974. Reproductive Life Cycle. In *Reproduction in Farm Animals*. Ed. Hafez E S E. Lea and Febiger, Philadelphia, U.S.A.

Vilariono, M, Rubianes, E, Menchaca, A. (2013). Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*;79(1):206-10.

Yılmaz, O, Küçük, M, Denk, H, & Bolacalı, M. (2006). Norduz Koyunlarında Mevsim Dışı Koç Katımının Döl Verimine ve Kuzularda Yaşama Gücüne Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17, 99–102.

BÖLÜM I

Fitobiyotiklerin Metabolik Sendrom Üzerindeki Etkileri

Tuncay TUFAN¹

Kıvanç İRAK²

İbrahim Halil KESKİN³

Giriş

Metabolik sendrom (MS); obezite, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek fonksiyon bozukluklarını içeren kompleks bir durumdur (Moloney ve ark., 2004). Ulusal Kolesterol Eğitim Programı'na göre, bu risk faktörlerinden en az üçüne sahip olan bireyler, metabolik sendromlu olarak kabul edilmektedir (Taghipour ve ark., 2019).

¹ Prof. Dr., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye; tuncaytufan@siirt.edu.tr; <https://orcid.org/0000-0001-8420-4235>

² Doç. Dr., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye; kivancirak@siirt.edu.tr; <https://orcid.org/0000-0001-9765-0330>

³ Arş. Gör., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, , Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye; ihalil.keskin@siirt.edu.tr, <https://orcid.org/0009-0002-4402-1973>

Bitkisel kaynaklı doğal bileşiklerin çeşitli özellikleri sayesinde obezite, diyabet, böbrek ve kalp-damar hastalıkları üzerinde olumlu etkiler sağladığı bilimsel olarak desteklenmiştir. Metabolik Sendromun önlenmesinde ve yönetiminde biyoaktif bileşiklerin rolünün daha iyi anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Francini-Pesenti ve ark., 2019).

Tanım

Metabolik sendrom, insülin direnciyle başlayan visceral obesite, hiperglisemi, hipertansiyon, dislipidemi gibi birden fazla kardiyovasküler risk faktörünün beraber bulunduğu hastalıklar grubudur. Temelinde yatan asıl fizyo-patolojik olay, insülinin uyardığı hedef dokuların glikoz kullanımına olan direncidir (Lakka ve ark., 2002).

Metabolik sendrom ayrıca insülin direnci sendromu, Sendrom X ve polimetabolik sendrom olarak da bilinir (Alberti ve Zimmet 1998). Reaven 1988’de ilk defa, belirli risk faktörlerinin sıklıkla beraber bulunduğunu fark edip bunu Sendrom X olarak adlandırmıştır (Reaven, 1988).

Metabolik Sendrom Bileşenleri ve Fizyo-Patolojisi

Metabolik sendromu tam anlamıyla açıklayabilecek tek bir gen, çevresel faktör veya enfeksiyöz bir ajan yoktur. Sedanter yaşam, yüksek kalorili beslenme, uykusuzluk vb. gibi çevresel faktörlere ek poligenik yatkınlık zemininde gelişen insülin direnciyle başlayan heterojen bir hastalıktır. Metabolik sendrom, birbiriyle ilişkili olduğunu bildiğimiz insülin direnci, visceral adipozite, dislipidemi ve hipertansiyonu birbirine bağlar. Bunu yaparken ortak fizyo-patolojik süreçleri daha iyi anlamamız;

meydana gelen bozukluk için faydalı hayvan modelleri geliştirmemize, yeni tedaviler tasarlamamıza ve test etmemize yardımcı olabilir (Huang, 2009).

İnsülin Direnci

Hiperglisemiye yanıt olarak pankreas tarafından üretilen insülin ve dokularda glikoz kullanımını farklı şekillerde uyarır. Glikozu dolaşımdan uzaklaştıran, kan glikoz düzeyini en çok etkileyen ve glikozu en çok kullanan dokular iskelet kası, karaciğer ve yağ dokusudur (Özdemir, 2020; Jonk ve ark., 2007). İnsülin iskelet kası ve yağ dokusunda, GLUT4 glikoz taşıyıcısının hücre yüzeyine translokasyonu ile glikoz alımını uyarır (Muretta ve Mastick 2009). İskelet kası ve karaciğerde insülin, glukozdan glikojen sentezini uyarır ve glikojenolizi inhibe eder. Ayrıca karaciğerde insülin hepatik glukoneogenezi azaltarak kan dolaşımına daha fazla glikoz akışını önler. Yağ dokusunda insülin, lipolizi inhibe eder ve glikoz alımını uyarır. Bu değişikliklerin en net etkisi, dolaşımdaki glikoz seviyelerin azaltmak glikoz alımını artırmak ve glikozun depo molekülleri olan glikojen veya yağa dönüşümünü artırmaktır (Kim ve ark., 2006; Jonk ve ark., 2007).

Aterojenik Dislipidemi ile İlişkilendirme

Aterojenik dislipideminin temel özellikleri yüksek plazma TG seviyeleri, düşük HDL kolesterol seviyeleri ve LDL'de artıştır. İnsülin direnci ve viseral obezite aterojenik dislipidemi ile ilişkilidir. İnsülin direnci birçok farklı yoldan aterojenik dislipidemiye yol açar (Klop ve ark., 2013)

Obezite ve İnsülin Direnci

Viseral obezite, metabolik sendromun önemli bir bileşenidir. Viseral obezite mevcut olduğunda kan basıncı, açlık kan glikozu ve

insülin seviyeleri yüksek seyrederken, HDL kolesterol düzeyleri düşük seyretmektedir (Maison ve ark., 2001). İnsülin direnci, serbest yağ asidi düzeylerinde artışa yol açar (Carey ve ark., 1996). Serbest yağ asitleri, vücuttaki tüm yağ dokularından lipoliz yoluyla salınır. Ancak, farklı yağ dokuları arasında lipoliz hızları ve metabolik aktiviteleri değişkenlik gösterir. Serbest yağ asitlerinin salınımı, adiposit boyutuyla orantılıdır; visceral yağ dokusu büyük adipositlerden oluşur. Büyük adipositlerde lipoliz hızı yüksektir, insülin duyarlılığı düşüktür ve sitokin salınımı fazladır (Guilherme ve ark., 2008; Lam, 2011). Visceral yağ dokusunun artışı serbest yağ asitlerinin artmasına neden olur. Serbest yağ asitleri protein kinaz-C yolunu etkileyerek insülin direncine sebep olur. Klinik uygulamalarda insülin direnci sıklıkla visceral obezite ile birliktedir ve insülin duyarlılığındaki değişikliklerin %80'i visceral obezite ile açıklanabilir (Reaven, 1988).

Hipertansiyon ve İnsülin Direnci

Hiperinsülinemi ve insülin direnci Angiotensin II üretimini, Angiotensin dönüştürücü enzim (ACE) aktivitesini ve Bradikinin yıkımını arttırarak sodyum tutulumunu arttırıp vazokonstriksiyona ve sempatik sistem aktivasyonuna sebep olur. Böylelikle arteriyel kan basıncını artırır. Hipertansiyonlu hastaların %50 kadarında insülin direnci ve hiperinsülinemi bulunduğu saptanmıştır (McLaughlin ve Reaven 2000).

Hiperkoagülabilité ve İnsülin Direnci

İnsülin direnci olan hastalarda arteriyel tromboz ve koagülasyon faktörlerinde değişiklikler gözlemlenir (Grundy ve ark., 1999). Yaygın olarak Faktör VII, IX ve X, protrombin ve plazminojen aktivatör inhibitörü (PAI-1) düzeylerinde artış, endotel

hücre aktivasyonu ve LDL oksidasyonu, metabolik sendromda tromboza eğilim oluşturan nedenlerdendir (Miller, 1999).

Metabolik Sendromda Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri

Hastalıkların kökenlerinin ve fizyolojik prensiplerinin belirlenmesinde hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Bir hastalığın hayvan modeli, o hastalığın fizyo-patolojik özelliklerinin büyük bir kısmını yansıttığında iyi bir model olarak kabul edilir (Gelmez ve ark., 2012). Sıçanlar ve özellikle de fareler dahil olmak üzere küçük kemirgenler, metabolik bozuklukları incelemek için en yaygın olarak kullanılan klinik öncesi hayvan modelidir Memeli olduklarından dolayı fare ve sıçanların fizyolojisi, memeli olmayan türlere göre insanlara daha yakındır (İde ve ark., 2024). Farelerin fenotiplenmesine yönelik standartlaştırılmış yöntemler ve cihazlar oldukça fazladır ve geliştirilmeye devam etmektedir. Deneysel hayvan modellerinde fare ve sıçan gibi hayvanların kullanılmasının bazı sebepleri, farelerin boyutlarının küçük olması, bir batında doğan yavru sayısı yaklaşık olarak 6-12 yavru olması (ilgili fare türüne bağlı olarak) ve orta derecede kısa bir üreme döngüsüne sahip olması deney hayvanı olarak kullanımını kolaylaştırmaktadır. Ayrıca cinsel olgunluğa doğumdan sonraki 4-8 hafta içinde ulaşır ve gebelik süresi sadece 3 hafta olması tüm bu özellikler fareleri araştırmacılar için ekonomik bir seçim haline getiriyor (Kleinert ve ark., 2018).

Genetik Modeller

Kemirgenlerde obezite gelişiminde rol oynayabilecek spesifik moleküler mekanizmaların değerlendirilmesinde faydalıdır ancak insanlarda metabolik sendrom, monogenetik bir bozukluk değildir. Bu nedenle ilgili sorular, bu genetik değişikliklerin

insanlarda gözlemlenenleri taklit edip etmediği ve bu modellerin metabolik sendromu karakterize eden çeşitli işaretleri gösterip göstermediğidir. Örnek olarak, bu modellerin birçoğunun leptin geninde veya reseptöründe mutasyonlar vardır, ancak benzer mutasyonlar insanlarda çok nadir resesif bir genetik bozukluktur ve 2009 yılına kadar 15 kişide yalnızca 4 mutasyon bildirilmiştir (Gelmez ve ark.,2012).

Modellemede Obez (ob/ob; C57BL/6J-ob/ob) Fare Kullanımı

Bu model, diyabet araştırmalarında kullanılan ilk genetik modellerden biridir. Bu fareler, kromozom 6 üzerindeki leptin geninde monogenetik otozomal resesif mutasyonuna sahip olup araştırmalarda kullanılan bu tür farelerde 4. haftadan sonra obezite, hiperinsülinemi ve hiperglisemi gelişimi görülmeye başlanmıştır. Bozulmuş glikoz toleransının varlığı 12 haftalık yaştan sonra tespit edilmiştir. Bu farelerde 24. haftada kalp fonksiyonunda azalma ile birlikte sol ventriküler hipertrofi, 20. haftada kardiyak fibrozis ve 12. haftada hepatik steatoz ve inflamasyon görülür (Panchal ve Brown 2011).

Modellemede Diyabetik (db/db; C57BL/KsJ-db/db) Fare Kullanımı

Bu fareler, kromozom 4 üzerinde bulunan leptin reseptör geninde otozomal resesif bir mutasyonu sahip olmasından dolayı bu tür farelerde 6 haftalıktan sonra yüksek vücut ağırlığına sebep olmaktadır. Açlık kan şekeri konsantrasyonları 8 haftalıktan sonra daha yüksektir ve bu fareler, 13 haftalıktan sonra trigliseritlerin, toplam kolesterolün ve esterleşmemiş yağ asitlerinin plazma konsantrasyonlarının arttığını ve HDL/LDL kolesterol oranının azaldığını görülmüştür. 12 haftalıktan sonra hiperinsülinemi ve

bozulmuş glukoz toleransı gözlenmiştir. Kalpte, 12 haftalıktan sonra hem inflamatuvar hücre infiltrasyonu hem de fibrozis bulgularına rastlanılmıştır, ancak kan basıncı değişmediği bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2003 ; Panchal ve Brown, 2011).

Modellemede Zucker Diyabetik Şişman (ZDF; Zucker Diabetic Fatty) Sıçan Kullanımı

Zucker (fa/fa) obez rat genetik obezitenin bir modeli olup, lipoprotein metabolizması açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bu tür model ratların kullanımında Tip 2 diabetes mellitus'ta lipoprotein bozukluklarının araştırılmasında modelin yararlılığı tartışılmıştır (Zucker sıçanları nadiren hiperglisemi geliştirir). Son zamanlarda, Zucker diyabetik yağlı (ZDF/Gmi fa/fa) modeli tanıtılmıştır (Argilés, 1989; Bray, 1977; Sparks ve ark., 1998; Kava ve Greenwood, 1990; Peterson ve ark., 1990).

Erken başlangıçlı obezitenin bir modeli olan diyabetik Zucker şişman sıçanlarında (ZDF), leptin reseptör geninde bir mutasyon vardır. ZDF sıçanları 13-15 haftalıktan sonra hiperglisemik hale gelirler ve bu sıçanlarda 12-14 haftalıktan sonra hiperinsülinemi ve hiper-trigliserideminin yanı sıra diyastolik ve sistolik fonksiyon bozukluğu oluşur. Serum kolesterol konsantrasyonları, 10 haftalık zayıf Zucker sıçanlarına kıyasla ZDF sıçanlarında hafif bir artış gösterirken serum kolesterol konsantrasyonu, 20 haftalık zayıf Zucker sıçanlarına kıyasla 2,5 kat daha yüksektir. Bu sıçanlarda ayrıca 12 haftalık olduktan sonra endotel disfonksiyonu gelişir. ZDF sıçanları 15 haftalık olduklarında sistolik kan basıncında yalnızca orta derecede artışlar göstermiştir. Albüminüri 31 haftalıktan mevcut olduğu belirlenmiş, bazal membranda kalınlaşma ve 47 haftadan sonra glomerüler fibrozis tespit edilmiştir. ZDF

sıçanlarında 20 haftalıktan sonra hepatik trigliserit birikiminde artış gözlemlenmiştir. ZDF sıçanları ayrıca 26 haftalıktan sonra TNF- α ve IL-1 β gibi inflamasyonun serum belirteçlerinde artış göstermiştir (Panchal ve Brown, 2011).

Goto-Kakizaki sıçanı

Goto-Kakizaki sıçanı, kalıtsal kronik hiperglisemiye sahip, Wistar sıçanı kökenli, obez olmayan bir alt türdür. Bu sıçan türü bir glikoz tolerans testi sırasında yüksek glikoz seviyeleri sergileyen sekiz nesil akrabalı çiftleşme Wistar faresinden oluşan bir grup arasından seçilmiştir. İnsandaki tip 2 diyabetin poligenik temeline benzeyen "deniz yıldızı" şeklindeki adacık anormallikleri ve pankreas hormonu eksikliklerini gösterirler (Shafrir ve Ziv, 2009).

Diyet kaynaklı Metabolik Sendrom modelleri

Hayvanlarda metabolik sendrom oluşturan çok sayıda diyet olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında yüksek fruktoz, yüksek sukroz, yüksek yağ, yüksek fruktoz/yüksek yağ veya yüksek sükroz/yüksek yağ diyetleri gibi tek bir diyet türünün veya diyet kombinasyonlarının kullanımı yer almaktadır (Wong ve ark.,2016; Hannou ve ark., 2018). Diyet, hormonlar, glikoz metabolizması ve lipid metabolizması yolları üzerindeki etkileri yoluyla tüm vücut metabolizmasını ve düzenlemesini etkilediğinden, birçok diyet çalışması metabolik sendromun araştırılması için en önemli yol haline gelmiştir. Diyetle indüklenen metabolik sendrom modellerinde en yaygın kullanılan kemirgen türleri Sprague-Dawley sıçanları, Wistar sıçanları, C57BL/6 J fareleri ve Golden Syrian Hamster'dır (Kasim ve ark.,1996 ; Senaphan ve ark., 2015; Suman ve ark., 2016; Fujita ve Maki, 2015).

Yüksek Karbonhidratlı Diyetler

Yüksek karbonhidratlı diyetlerde, yemin diyetinin karbonhidrat içeriğinin değiştirilmesi ya da içme suyuna bir miktar karbonhidrat eklenmesi ile oluşturulan bir diyet olarak kabul edilmektedir (Panchal ve ark.,2011). Sıçanda metabolik sendromu oluşturmak için yüksek karbonhidratlı diyetlerin kullanıldığı ilk çalışma 1979'da Reaven'in araştırma grubu tarafından yayınlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan diyet; izokalorik yüksek fruktoz diyetinden oluşmakta olup; pelet içindeki nişasta içeriği fruktoz ile değiştirilmiştir ve hayvanlar 4 haftalık tedaviden sonra ötenazi edilmiştir (Reaven ve ark.,1979). Hayvanlar yüksek trigliserid, insülin, serbest yağ asitleri seviyelerine ulaşmış ve kontrol grubuyla kıyaslandığında hayvanların ağırlığında herhangi bir değişiklik olmamıştır (Reaven,1988).

Yüksek karbonhidratlı diyet modelleri iki kategoriye ayrılabilir: İzokalorik ve hiperkalorik diyetler, izokalorik diyet standart karbonhidrat (karmaşık bir polisakkarit olan nişasta) genellikle fruktoz veya sukroz (bir birim glikoz ve bir birim fruktozdan oluşan bir disakkarittir) gibi daha yüksek enerji kullanılabilirliğine sahip basit karbonhidratlarla değiştirilir. Öte yandan, hiperkalorik diyetler içme suyuna fruktoz ya da sukroz eklenmesinden kaynaklanır; hayvanlar katı gıda tüketimini azaltır ancak standart yemle beslenen hayvanlara kıyasla kalori alımları artar (Carvajal ve ark., 1999).

Yüksek Yağlı Diyetler

Yağ oranının %10'un üzerinde olduğu, genellikle karbonhidrat içeriğinin yağ ile değiştirildiği yüksek yağlı diyetleri (YYD) hiperkalorik diyetler olarak kabul edilir (Lewis ve

ark.,1977). Yüksek yağlı diyetler için en yaygın olarak eklenen yağ türü, genellikle domuz yağında bulunan eşit oranlarda doymuş yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitlerinden oluşur. Bu tür yağ asitlerinin, hindistan cevizi yağı veya balık yağı gibi diğer doymuş yağ asidi türleri bakımından zengin diyetlerle karşılaştırıldığında, obezite ve IR'nin (İnsülin Direnci) en belirgin belirtilerine yol açtığı bildirilirken , çoklu doymamış omega-3 yağ asitleri bakımından zengin yağların vücut kompozisyonu ve insülin duyarlılığı üzerinde faydalı etkileri vardır (Egert ve ark., 2011). Yutulduktan sonra, YYD'ten gelen TG pankreas enzimleri ve safra tuzları tarafından serbest yağ asitlerine (FFA) parçalanır ve ince bağırsağın enterik hücreleri tarafından emilir, daha sonra kolesterol ile birlikte lenfatik sistemden geçerek dolaşım sistemine ulaşan ve bu lipoproteinlerin serum konsantrasyonlarını artıran şilomikron adı verilen fosfolipid veziküllere paketlenir (Mickelsen ve ark., 1955; Storlien ve ark.,1996; Buettner ve ark.,2006)

Lipoprotein lipaz (LPL) aracılığıyla bu farklı yağlar yağ dokusu hücreleri tarafından alınan FFA'ya hidrolize edilir, TG'ye yeniden esterleştirilir ve obeziteye yol açan lipit damlacıkları olarak depolanır Aynı zamanda, karaciğer FFA'yı alabilir ve alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığına (NAFLD) yol açan yağ damlacıklarında biriktirebilir ve ayrıca hepatik lipogenezi indükleyerek serum FFA'yı daha da artırabilir ve kolesterol oluşumunu teşvik edebilir. FFA, Krebs döngüsünü ve solunum zincirini besleyen Asetil CoA oluşumu için substrattır ve sonuç olarak hücrel redoks durumunu değiştirir. Yüksek serum FFA seviyeleri, yağ dokusunda ve iskelet kasında IR'yi indükler ve bu da serum glikoz ve FFA seviyelerini düzenlemede başarısız olur. Kısaca bunlar, YYD'nin MS1'in diğer anormallikleriyle birlikte

yağlanmayı doğrudan artırabileceği mekanizmalardır (Hazarika ve ark., 2016 ; Mansouri ve ark., 2018; Wong ve ark., 2016).

Yüksek Karbonhidrat-Yüksek Yağ Diyeti

Hem yağ hem de karbonhidrat oranı yüksek olan bir diyet (hayvansal ya da bitkisel), insan diyetine en yakın olan diyetdir (Rasool ve ark.,2018; Panchal ve Brown, 2011). Bu diyet kombinasyonu metabolik sendromu kemirgenlerde oluşmasını arttırmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda, farklı düzeylerde karbonhidrat ve yağ kombinasyonları kullanılmıştır. Kullanılan bu kombinasyonların temeli karbonhidratlarda sükroz ve fruktoz iken, yağlarda değişkenlik göstermektedir; diyetteki sükroz içeriği %10-30 düzeyinde değişkenlik gösterirken, yağ içeriği %20-40 düzeyinde değişiklik göstermiştir (Gelmez ve ark., 2012). Yüksek yağ -yüksek sükroz diyetiyle beslenen kemirgenlerde vücut ağırlığında artış, abdominal yağ depozisyonunda artış, hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hiperleptinemi gözlenmiştir. Aynı zamanda bu diyet kombinasyonu steatozise yol açmış ve hepatik lipojenik enzimleri artırmıştır (Panchal ve Brown, 2011).

Yüksek karbonhidrat - yüksek yağ diyetiyle beslenen kemirgenler de insanlarda oluşan metabolik sendromda var olan bütün komplikasyonların görülmesi ve bu diyet kombinasyonun insan diyetlerine benzerliğinden dolayı bu diyet modelinin insan metabolik sendromu için en iyi model olduğu öne sürülmüştür (Panchal ve Brown 2011).

Fitobiyotiklerin Metabolik Sendrom Üzerine Etkisi

Metabolik sendromun birinci basamak tedavisi, diyet ve fiziksel aktivite de dâhil olmak üzere yaşam tarzı değişikliklerinden oluşur. Akdeniz diyeti ve bitkisel kaynaklı ürünler bakımından

zengin diğ er diyet rejimlerinin Metabolik sendrom'u  onlediği gösterilmiştir (Babio ve ark., 2009; Macready ve ark., 2014). Bu diyetlerin olumlu etkilerinin biyoaktif maddeler, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri içerikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Mart nez-Gonz lez ve ark., 2015). Yaşam tarzı değişiklikleri tek başına başarısız olduğunda, fitokimyasallar lipid profilinin iyileştirilmesine katkıda bulunabilir. Fitobiyotiklerin yapısında bulunan biyoaktif bileşikler, metabolik süreçleri modüle edebilen bitkisel metabolitlerdir. Fitokimyasallar  zerine yapılan araştırmalar, bunların inflamasyon, oksidatif stres, dislipidemi ve insülin direnci gibi hastalıklara karşı terapötik ve  onleyici ajanlar olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Francini-Pesenti ve ark.,2019; Kobi ve ark., 2023).

Fitobiyotiklerin I erdiği Bazı Biyoaktif Bileşikler: Sınıflar ve Diyet Kaynakları

Polifenoller

Fotosentezin yanı sıra bitkilerin benzersiz bir özelliği, birincil metabolizmaya katılmayan çeşitli düşük molekül ağırlıklı özel (ikincil) bileşikler oluşturma yetenekleridir (Obata, 2019; Salam ve ark., 2023; Zagoskina ve ark., 2023). Birincil metabolitler bitki büyümesi ve gelişimi için çok  nemliyen, ikincil metabolitler çevreyle etkileşimleri için temel bileşenler olarak görülür (Erb ve Kliebenstein, 2020; Elshafie ve ark., 2023; Zagoskina ve ark., 2023).

Bitkilerde sentezlenen ikincil metabolitlerin spektrumu çeşitlidir. Başlıca temsilcileri terpenler, alkaloidler, siyanojenik glukozitler ve polifenollerdir (Obata, 2019; Elshafie ve ark., 2023). Polifenoller veya fenolik bileşikler (PC'ler), tüm bitki hücrelerinde

sentezlenen en yaygın ikincil metabolitler arasında kabul edilir (Li ve ark., 2020; Zagoskina ve ark., 2023; Qaderi ve ark., 2023).

Çeşitli bitki türlerinde 8000'den fazla polifenolik bileşik tanımlanmıştır. Polifenoller, moleküler yapılarındaki fenol halkalarının sayısına göre ve bu halkalara bağlı fonksiyonel gruplar temelinde iki ana sınıfta sınıflandırılabilir: Flavonoidler ve flavonoid olmayanlar (fenolik asitler, stilbenler ve lignanlar). Flavonoidler, oksijenli bir heterosikl (C halkası) oluşturan üç karbon atomu ile birbirine bağlanmış iki aromatik halkadan (A ve B) oluşan ortak bir temel yapıya sahiptir. Bu maddeler bitkilerde yaygın olarak bulunur ve çiçeklerin, meyvelerin ve yaprakların çekici renklerinden sorumludurlar. Flavonoidler, içerdikleri heterosikl türüne göre; flavonoller, flavonlar, izoflavonlar, flavanonlar, antosiyanidinler ve flavanoller (kateşinler ve proantosiyanidinler) olmak üzere 6 alt sınıfa ayrılabilir (Scalbert ve ark., 2005).

Fenolik asitler; benzoik asit türevleri ve sinnamik asit türevleri olmak üzere iki alt sınıfa ayrılır. Yenilebilir bitkilerin hidroksibenzoik asit içeriği, bazı kırmızı meyveler, kara turp ve soğan hariç, çoğu durumda düşüktür. Çay zengin bir gallik asit kaynağıdır. Hidroksibenzoik asitler hidrolize edilebilir tanenlerin (mangolarda gallotanninler ve çilek, ahududu ve böğürtlen gibi kırmızı meyvelerde ellagitanninler) bileşenidir (Shahidi ve Naczki, 1995).

Hidroksisinamik asitler, doğal (poli)fenolik bileşiklerin en önemli sınıflarından birini temsil eder ve meyvelerde, sebzelerde, tahıllarda ve içeceklerde (çay, kahve, şarap gibi bitkisel kaynaklı) yüksek konsantrasyonlarda bulunur. En yaygın hidroksisinamik asitler p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerdir (Clifford ve

Scalbert, 2000; Sova ve Saso, 2020). Neredeyse sadece işlenmiş gıdalarda serbest halde bulunurlar. Kinik asit, şikimik asit ve tartarik asidin glikozillenmiş türevleri veya esterleridir. Kafeik asit gıdalarda esas olarak klorojenik asit adı verilen kinik asit ile bir ester olarak bulunur, bu bileşik çeşitli meyve türlerinde ve kahvede yüksek miktarlarda bulunur. Ferulik asit, ana besin kaynağı olan tahıl tanelerinde bulunan en bol fenolik asittir. Stilbenler, iki karbonlu bir metilen köprüsü ile bağlanmış iki benzen halkasından oluşur. Stilbenlerin insan diyetiyle sağlanması oldukça düşüktür. Bitkilerdeki stilbenlerin çoğu, enfeksiyon veya yaralanmaya yanıt olarak sentezlenen bileşikler olan antifungal fitoaleksinler olarak işlev görür. Üzerinde en çok çalışılan stilben olan resveratrol (3,4',5-trihidroksistilben) büyük ölçüde meyvelerde, üzümelerde ve kırmızı şarapta çoğunlukla glikosile edilmiş cis ve trans izomerik formlar halinde bulunur (Abourashed, 2017).

Lignanlar geleneksel olarak iki veya daha fazla fenilpropanoid biriminin oksidatif dimerizasyonundan türetilen bir ikincil metabolit sınıfı olarak tanımlanır. Ortak biyosentetik kökenlerine rağmen, çok büyük bir yapısal çeşitliliğe sahiptirler. Ayrıca, bu bileşik sınıfının bir dizi güçlü biyolojik aktivite sergilediği de iyi bilinmektedir. Bu faktörler nedeniyle, lignanlar, karmaşık ve benzersiz yapıların sentezine yönelik kolektif bilgimizi ilerleten, çeşitli sentetik yöntemlerin geliştirilmesini teşvik eden zorlu ve talep edilen bir sentetik hedef olduklarını kanıtlamışlardır (Barker, 2019).

Sekoizolarikiresinol gibi birkaç lignanın fitoöstrojen olduğu düşünülmektedir. Yağlı tohumlar (keten tohumu) en zengin lignan kaynağı iken baklagiller, tahıllar, sebzeler (sarımsak, kuşkonmaz,

havuç) ve meyveler (armut, kuru erik) minör kaynaklardır (Thompson ve ark.,1991).

Diğer Biyoaktif Bileşikler

Deve diken

Deve diken (Silybum marianum L.) yüzyıllardır karaciğer ve safra yolları hastalıklarında bitkisel tedavi olarak kullanılan bir bitkidir (Sayin ve ark.,2016). Deve dikeninin meyveleri ve tohumları, silibinin A ve B, izosilybin A ve B, silychristin ve silydianin içeren silimarin adı verilen flavonolignanların bir karışımı olan *S. marianum*'un ana aktif bileşenlerini içerir. Silymarinin antioksidan ve anti-enflamatuar etkileri vardır (Bahmani ve ark.,2015). Hepatosit rejenerasyonunu teşvik eder ve fibrogenezi inhibe eder. Ayrıca hepatoprotektif etkilere sahip olduğu kabul edilir (Fehér ve Lengyel, 2012). Hayvan çalışmaları, *S. marianum*'un yüksek glikoz ve lipid plazma seviyeleri, yüksek tansiyon ve karaciğer steatozu dahil olmak üzere metabolik sendromu özelliklerinin tedavisinde etkili olabileceğini göstermiştir (Tajmohammadi ve ark., 2018).

Polikosanol

Şeker kamışı dışındaki kaynaklardan elde edilen Polikosanol (PC) içeren diyet takviyeleri son yıllarda kolesterol düşürücü ajanlar olarak pazarlanmaktadır. Uzun zincirli alifatik birincil alkollerin bileşimi farklı kaynaklar arasında çok az farklılık göstermektedir. Oktakosanol tüm polikosanol karışımlarındaki ana alifatik birincil alkoldür ve en aktif bileşen olduğu düşünülmektedir (Marinangeli ve ark.,2007). PC ile indüklenen kolesterol düşürücü etkinin arkasındaki mekanizma henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İnsanlar ve sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, PC'nin in vitro

düşük yoğunluklu LDL kolesterol oksidasyonunu azalttığını göstermektedir. Şeker kamışı PC'sinin antioksidan aktivitesini inceleyen diğer çalışmalar, şeker kamışı PC takviyeleri ile tedavi edilen insanlardan alınan LDL'de oksidasyon durumunda önemli bir değişiklik olmadığını bildirerek önceki olumlu bulguları desteklememiştir (Menéndez ve ark., 2000).

Metabolik sendrom üzerinde etkili olan bazı fitobiyotikler

Kurkumin

Son yıllarda üzerine araştırma yapılan etken maddelerden biri de kurkumindir. Zerdeçalın (*Curcuma longa*) bir türevi olan kurkumin, antitümör, antioksidan, anti inflamatuvar, hipolipidemik ve antikarsinojenik etkiler gibi bir dizi farmakolojik aktiviteye sahip polifenollerin kurkuminoid alt grubuna aittir (Özcan, 2023 ; Chiang, 2004 ; Taghipour ve ark.,2018; Özcan ve ark., 2023)

Birçok araştırmacı kurkuminin Metabolik Sendrom ile ilgili terapötik etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Curcuminin PAI-1 ekspresyonunu baskıladığı, Nrf2'yi aktive ettiği, TNF- α ekspresyonunu aşağı regüle ettiği ve NF- κ B aktivasyonunu baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca, obezite ile ilişkili Wnt/ β -katenin yolunu inhibe ettiği ve hepatik stellat hücrelerinde PPAR- β 'yi aktive ettiği bildirilmiştir (Soetikno ve ark., 2011 ; Xu ve ark.,2003). Curcumin ayrıca leptin sinyalini keser, böylece adiponektin ekspresyonunu artırır. Curcumin obeziteyi olumsuz etkiler ve insülin duyarlılığını olumlu etkiler, MS'deki enflamatuvar yolları köreltir. Hiperglisemi, hiperlipidemi ve insülin direnci gibi obezite ile ilişkili metabolik bozuklukları iyileştirir (Rochlani, 2017).

Berberin

Berberin (BBR) *Coptis chinensis*'ten elde edilen temel bir benzilizokinolin alkaloididir (Wang ve ark., 2015). BBR bağırsak enfeksiyonları, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon, kardiyak aritmi, kanser, hiperlipidemi ve diyabet tedavisinde kullanılmaktadır (Bao ve ark., 2015.; Li ve ark., 2017). Çalışmalar, insüline dirençli hayvanlarda BBR kullanımının trigliserid seviyelerini, vücut ağırlığını ve insülin duyarlılığını iyileştirdiğini göstermiştir. Aslında, BBR enerji kullanımına katılan genleri yukarı ve lipogeneze katılan genleri aşağı doğru düzenlemektedir (Yang ve ark., 2012; Lee ve ark., 2006). İnsülin duyarlılaştırıcı etkisi, tiazolidinedionların yanı sıra metformininkine benzerdir. BBR'nin bel çevresini, TG seviyelerini ve sistolik kan basıncını azalttığı bildirilmiştir. Bu değişikliklerin MetS hastası kadınlarda daha belirgin olduğu bulunmuştur (Pérez-Rubio ve ark., 2013).

Steviosit

Stevioside, güçlü antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu bilinen *Stevia rebaudiana*'nın (Bertoni) yapraklarından ekstrakte edilebilir . Araştırmalar steviosidin böbrek fonksiyonu ve glikoz metabolizması üzerinde etkisi olduğunu göstermiştir. Stevioside, insülin eksikliği olan sıçanlarda insülin kullanımını ve insülin sekresyonunu artırarak kandaki glikoz konsantrasyonunu düzenleme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Stevioside'nin güçlü antidiyabetik ajanlardan biri olduğu kanıtlanmıştır, ancak bağırsakta zayıf bir şekilde emildiği ve biyoyararlanımı az olduğu için tedavi edici etkinliği daha azdır (Taghipour ve ark.,2019).

KAYNAKLAR

Abourashed, E. A. (2017). Review of stilbenes: applications in chemistry, life sciences and materials science. *Journal of Natural Products*, 2017, 80, 2, 577.

Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539-553.

Argilés, J. M. (1989). The obese Zucker rat: a choice for fat metabolism 1968–1988: twenty years of research on the insights of the Zucker mutation. *Progress in Lipid Research*, 28(1), 53-66.

Babio, N., Bulló, M., & Salas-Salvadó, J. (2009). Mediterranean diet and metabolic syndrome: the evidence. *Public Health Nutrition*, 12(9A), 1607-1617.

Bahmani, M., Shirzad, H., Rafieian, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2015). Silybum marianum: beyond hepatoprotection. *Journal Of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 20(4), 292-301.

Bao, J., Huang, B., Zou, L., Chen, S., Zhang, C., Zhang, Y., ... & He, C. (2015). Hormetic effect of berberine attenuates the anticancer activity of chemotherapeutic agents. *Plos One*, 10 (9), e0139298.

Barker, D. (2019). Lignans. *Molecules*, Apr 11;24(7):1424. doi: 10.3390/molecules24071424. PMID: 30978936; PMCID: PMC6479724.

Bray, G. A. (1977, February). The Zucker-fatty rat: a review. In Federation proceedings (Vol. 36, No. 2, pp. 148-153).

Buettner, R., Parhofer, K. G., Woenckhaus, M., Wrede, C. E., Kunz-Schughart, L. A., Scholmerich, J., & Bollheimer, L. C. (2006). Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal Of Molecular Endocrinology*, 36(3), 485-501.

Carey, D. G., Jenkins, A. B., Campbell, L. V., Freund, J., & Chisholm, D. J. (1996). Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM. *Diabetes*, 45(5), 633-638..

Carvajal, K., El Hafidi, M., & Baños, G. (1999). Myocardial damage due to ischemia and reperfusion in hypertriglyceridemic and hypertensive rats: participation of free radicals and calcium overload. *Journal of hypertension*, 17(11), 1607-1616.

Clifford, M. N., & Scalbert, A. (2000). Ellagitannins, occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. *J Food Sci Agric*, 80, 1118-25.

Egert, S., Kratz, M., Kannenberg, F., Fobker, M., & Wahrburg, U. (2011). Effects of high-fat and low-fat diets rich in monounsaturated fatty acids on serum lipids, LDL size and indices of lipid peroxidation in healthy non-obese men and women when consumed under controlled conditions. *European Journal of Nutrition*, 50, 71-79.

Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and

pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266.

Özdemir, B. E. (2020). Metabolik sendromlu sıçanlarda yüzme egzersizi ve detraining süreçlerinin hemoreolojik parametreler ve oksidatif strese etkisi (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü).

Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant Physiology*, 184(1), 39-52.

Fehér, J., & Lengyel, G. (2012). Silymarin in the prevention and treatment of liver diseases and primary liver cancer. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(1), 210-217.

Fernandes, I., Mariana, M., Lorigo, M., & Cairrao, E. (2024). The Influence of Plant-Based Diets on Metabolic Syndrome. *Diabetology*, 5(3), 255-270.

Francini-Pesenti, F., Spinella, P., & Calò, L. A. (2019). Potential role of phytochemicals in metabolic syndrome prevention and therapy. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 1987-2002.

Fujita Y, Maki K. High-fat diet-induced obesity triggers alveolar bone loss and spontaneous periodontal disease in growing mice. *BMC Obes.* 2015;3:1.

Gelmez, M. Y., Kasapoğlu, P., Adaş, Ç. U., Tahralı, İ., Gazioğlu, S. B., Çevik, A., & Deniz, G. (2012). Metabolik sendromda deneysel hayvan modelleri. *Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2(4), 15-21.)

Graf, B. L., Raskin, I., Cefalu, W. T., & Ribnicky, D. M. (2010). Plant-derived therapeutics for the treatment of metabolic syndrome. *Current opinion in investigational drugs* (London, England: 2000), 11(10), 1107.

Grundy, S. M., Benjamin, I. J., Burke, G. L., Chait, A., Eckel, R. H., Howard, B. V., ... & Sowers, J. R. (1999). Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 100(10), 1134-1146.

Guilherme, A., Virbasius, J. V., Puri, V., & Czech, M. P. (2008). Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(5), 367-377.

Hannou, S. A., Haslam, D. E., McKeown, N. M., & Herman, M. A. (2018). Fructose metabolism and metabolic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(2), 545-555.

Hazarika, A., Kalita, H., Boruah, D. C., Kalita, M. C., & Devi, R. (2016). Pathophysiology of metabolic syndrome: The onset of natural recovery on withdrawal of a high-carbohydrate, high-fat diet. *Nutrition*, 32(10), 1081-1091.

Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease models & mechanisms*, 2(5-6), 231-237.

İde, T., Erdoğan, A.N.D., & Ayaz, N.D. (2024). Development and Analysis of Metabolic Syndrome Feeds for Laboratory Animals (Rats and Mice). *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi*, (7), 15-23.

Jonk, A. M., Houben, A. J., De Jongh, R. T., Serne, E. H., Schaper, N. C., & Stehouwer, C. D. (2007). Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology*, 22(4), 252-260.

Kasim-Karakas SE, Vriend H, Almario R, Chow LC, Goodman MN. Effects of dietary carbohydrates on glucose and lipid metabolism in golden Syrian hamsters. *J Lab Clin Med*. 1996;128:208–13.

Kava, R., Greenwood, M. R. C., & Johnson, P. R. (1990). Zucker (fa/fa) rat. *Ilar Journal*, 32(3), 4-8.

Kim J.A. , Montagnani M. , Koh K.K. , Quon M.J.. (2006). İnsülin direnci ve endotel disfonksiyonu arasındaki karşılıklı ilişkiler: moleküler ve patofizyolojik mekanizmalar . *Dolaşım*, 113 , 1888–1904.

Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., ... & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(3), 140-162.

Klop, B., Elte, J. W. F., & Castro Cabezas, M. (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5(4), 1218-1240.

Kobi, J. B. B. S., Matias, A. M., Gasparini, P. V. F., Torezani-Sales, S., Madureira, A. R., da Silva, D. S., ... & Leopoldo, A. S. (2023). High-fat, high-sucrose, and combined high-fat/high-sucrose diets effects in oxidative stress and inflammation in male rats

under presence or absence of obesity. *Physiological Reports*, 11(7), e15635.

Lakka, HM, Laaksonen, DE, Lakka, TA, Niskanen, LK, Kumpusalo, E., Tuomilehto, J. ve Salonen, JT (2002). Orta yaşlı erkeklerde metabolik sendrom ve toplam ve kardiyovasküler hastalık mortalitesi. *Jama*, 288 (21), 2709-2716.

Lam, P. (2011). Effects of consuming dietary fructose versus glucose on de novo lipogenesis in overweight and obese human subjects. *Berkeley Scientific Journal*, 15(2).

Lee, Y. S., Kim, W. S., Kim, K. H., Yoon, M. J., Cho, H. J., Shen, Y., ... & Kim, J. B. (2006). Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. *Diabetes*, 55(8), 2256-2264.

Lewis, S. B., Wallin, J. D., Kane, J. P., & Gerich, J. E. (1977). Effect of diet composition on metabolic adaptations to hypocaloric nutrition: comparison of high carbohydrate and high fat isocaloric diets. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 30(2), 160-170.

Li, M., Zhang, M., Zhang, Z. L., Liu, N., Han, X. Y., Liu, Q. C., ... & Liao, C. X. (2017). Induction of apoptosis by berberine in hepatocellular carcinoma HepG2 cells via downregulation of NF- κ B. *Oncology research*, 25(2), 233.

Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology And Biochemistry*, 148, 80-89.

Macready, A. L., George, T. W., Chong, M. F., Alimbetov, D. S., Jin, Y., Vidal, A., ... & FLAVURS Study Group. (2014). Flavonoid-rich fruit and vegetables improve microvascular reactivity and inflammatory status in men at risk of cardiovascular disease—FLAVURS: a randomized controlled trial. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 99(3), 479-489.

Maison, P., Byrne, CD, Hales, CN, Day, NE ve Wareham, NJ (2001). Metabolik sendromun farklı boyutları zamanla birlikte değişir mi? Obezitenin temel özellik olduğunu destekleyen kanıtlar. *Diyabet Bakımı* , 24 (10), 1758-1763.

Mansouri, A., Gattolliat, C. H., & Asselah, T. (2018). Mitochondrial dysfunction and signaling in chronic liver diseases. *Gastroenterology*, 155(3), 629-647.

Marinangeli, C. P., Kassis, A. N., Jain, D., Ebine, N., Cunnane, S. C., & Jones, P. J. (2007). Comparison of composition and absorption of sugarcane policosanols. *British Journal Of Nutrition*, 97(2), 381-388.

Martínez-González, M. A., Salas-Salvadó, J., Estruch, R., Corella, D., Fitó, M., Ros, E., & Predimed Investigators. (2015). Benefits of the Mediterranean diet: insights from the predimed study. *Progress In Cardiovascular Diseases*, 58(1), 50-60.

McLaughlin, T., & Reaven, G. (2000). Insulin resistance and hypertension. Patients in double jeopardy for cardiovascular disease. *Geriatrics (Basel, Switzerland)*, 55(6), 28-32.

Menéndez, R., Más, R., Amor, A. M., González, R. M., Fernández, J. C., Rodeiro, I., ... & Jiménez, S. (2000). Effects of policosanol treatment on the susceptibility of low density lipoprotein

(LDL) isolated from healthy volunteers to oxidative modification in vitro. *British Journal Of Clinical Pharmacology*, 50(3), 255-262.

Mickelsen, O., Takahashi, S., & Craig, C. (1955). Experimental obesity. 1. Production of obesity in rats by feeding high-fat diets. *Journal of Nutrition*, 57, 541-554.

Miller, G. J. (1999). Lipoproteins and the haemostatic system in atherothrombotic disorders. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 12(3), 555-575.

Moloney, F., Yeow, T. P., Mullen, A., Nolan, J. J., & Roche, H. M. (2004). Conjugated linoleic acid supplementation, insulin sensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *The American Journal Of Clinical Nutrition*, 80(4), 887-895.

Muretta, J. M., & Mastick, C. C. (2009). How insulin regulates glucose transport in adipocytes. *Vitamins & Hormones*, 80, 245-286.

Obata, T. (2019). Metabolons in plant primary and secondary metabolism. *Phytochemistry Reviews*, 18(6), 1483-1507.

Özcan, C. (2023). The Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Powder on Fattening Performance and Slaughter Traits in Quail. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 10(4), 1167-1171.

Özcan, C., Çimrin, T., Yakar, Y., & Alaşahan, S. (2023). Effects Of Turmeric Powder (*Curcuma longa* L.) As A Feed Additive On Slaughter Performance And Fatty Acid Profile In Japanese Quails. *MAS Journal of Applied Sciences*, 8(4), 839-844. .

Panchal, S. K., & Brown, L. (2011). Rodent models for metabolic syndrome research. *BioMed Research International*, 2011(1), 351982.

Panchal, S. K., Poudyal, H., Iyer, A., Nazer, R., Alam, A., Diwan, V., ... & Brown, L. (2011). High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal Of Cardiovascular Pharmacology*, 57(5), 611-624.

Park, H. J., Yadav, D., Jeong, D. J., Kim, S. J., Bae, M. A., Kim, J. R., & Cho, K. H. (2019). Short-term consumption of Cuban policosanol lowers aortic and peripheral blood pressure and ameliorates serum lipid parameters in healthy Korean participants: Randomized, double-blinded, and placebo-controlled study. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 16(5), 809.

Pérez-Rubio, K. G., González-Ortiz, M., Martínez-Abundis, E., Robles-Cervantes, J. A., & Espinel-Bermúdez, M. C. (2013). Effect of berberine administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Metabolic Syndrome And Related Disorders*, 11(5), 366-369.

Peterson, R. G., Shaw, W. N., Neel, M. A., Little, L. A., & Eichberg, J. (1990). Zucker diabetic fatty rat as a model for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ilar Journal*, 32(3), 16-19.

Qaderi, M. M., Martel, A. B., & Strugnell, C. A. (2023). Environmental factors regulate plant secondary metabolites. *Plants*, 12(3), 447.

Rasool, S., Geetha, T., Broderick, T. L., & Babu, J. R. (2018). High fat with high sucrose diet leads to obesity and induces myodegeneration. *Frontiers In Physiology*, 9, 1054.

Reaven, G. M. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607.

Reaven, G. M., Risser, T. R., Chen, Y. D., & Reaven, E. P. (1979). Characterization of a model of dietary-induced hypertriglyceridemia in young, nonobese rats. *Journal Of Lipid Research*, 20(3), 371-378.

Rochlani, Y., Pothineni, N. V., Kovelamudi, S., & Mehta, J. L. (2017). Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic Advances In Cardiovascular Disease*, 11(8), 215-225.

Salam, U., Ullah, S., Tang, Z. H., Elateeq, A. A., Khan, Y., Khan, J., ... & Ali, S. (2023). Plant metabolomics: An overview of the role of primary and secondary metabolites against different environmental stress factors. *Life*, 13(3), 706.

Sayin, F. K., Buyukbas, S., Basarali, M. K., Alp, H., Toy, H., & Ugurcu, V. (2016). Effects of Silybum marianum extract on high-fat diet induced metabolic disorders in rats. *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 66(1), 43-49.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 45(4), 287-306.

Senaphan K, Kukongviriyapan U, Sangartit W, Pakdeechote P, Pannangpetch P, Prachaney P, et al. Ferulic acid alleviates

changes in a rat model of metabolic syndrome induced by high-carbohydrate, high-fat diet. *Nutrients*. 2015;7:6446–64.

Shahidi F, Naczki M. Food phenolics, sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, PA: *Technomic Publishing Co Inc*, 1995.

Shafrir, E., & Ziv, E. (2009). A useful list of spontaneously arising animal models of obesity and diabetes. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 296(6), E1450-E1452.

Sharma, K., McCue, P., & Dunn, S. R. (2003). Diabetic kidney disease in the db/db mouse. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 284(6), F1138-F1144.)

Sova, M., & Saso, L. (2020). Natural sources, pharmacokinetics, biological activities and health benefits of hydroxycinnamic acids and their metabolites. *Nutrients*, 12(8), 2190.

Sparks, J. D., Phung, T. L., Bolognino, M., Cianci, J., Khurana, R., Peterson, R. G. & Sparks, C. E. (1998). Lipoprotein alterations in 10-and 20-week-old Zucker diabetic fatty rats: hyperinsulinemic versus insulinopenic hyperglycemia. *Metabolism*, 47(11), 1315-1324.

Soetikno, V., Sari, F. R., Veeraveedu, P. T., Thandavarayan, R. A., Harima, M., Sukumaran, V., ... & Watanabe, K. (2011). Curcumin ameliorates macrophage infiltration by inhibiting NF- κ B activation and proinflammatory cytokines in streptozotocin induced-diabetic nephropathy. *Nutrition & Metabolism*, 8, 1-11.

Storlien, L. H., Baur, L. A., Kriketos, A. D., Pan, D. A., Cooney, G. J., Jenkins, A. B., ... & Campbell, L. V. (1996). Dietary fats and insulin action. *Diabetologia*, 39, 621-631.

Suman, RK, Ray Mohanty I, Borde MK, Maheshwari U, Deshmukh YA. Development of an experimental model of diabetes co-existing with metabolic syndrome in rats. *Adv Pharmacol Sci.* 2016;2016:11.

Taghipour, Y. D., Hajialyani, M., Naseri, R., Hesari, M., Mohammadi, P., Stefanucci, A., ... & Abdollahi, M. (2019). Nanoformulations of natural products for management of metabolic syndrome. *International Journal Of Nanomedicine*, 5303-5321.

Tajmohammadi, A., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2018). Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. *Phytotherapy Research*, 32(10), 1933-1949.

Thompson, L. U., Robb, P., Serraino, M., & Cheung, F. (1991). Mammalian lignan production from various foods.

Wang, N., Tan, H. Y., Li, L., Yuen, M. F., & Feng, Y. (2015). Berberine and Coptidis Rhizoma as potential anticancer agents: Recent updates and future perspectives. *Journal Of Ethnopharmacology*, 176, 35-48.

Wang, S. K., Chin, K. Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Ima-Nirwana, S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & Metabolism*, 13, 1-12.

Yang, J., Yin, J., Gao, H., Xu, L., Wang, Y., Xu, L., & Li, M. (2012). Berberine improves insulin sensitivity by inhibiting fat store and adjusting adipokines profile in human preadipocytes and metabolic syndrome patients. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine: eCAM*, 2012.

Zagoskina, N. V., Zubova, M. Y., Nechaeva, T. L., Kazantseva, V. V., Goncharuk, E. A., Katanskaya, V. M., ... & Aksenova, M. A. (2023). Polyphenols in plants: structure, biosynthesis, abiotic stress regulation, and practical applications. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(18), 13874.

BÖLÜM III

Çiftlik Hayvanlarında Enfeksiyöz Hastalıklara Karşı Genetik Dirençli Yetiştiricilik: Mastitis

**Semih YAZICI⁵
Yalçın YAMAN⁶**

1. Giriş

Mastitis, tüm memelilerde görülebilen fiziksel travma, kimyasal maruziyeti veya bakteri, maya, mantar ve virüs gibi enfektif ajanlara bağlı gelişen meme bezi dokusunun yangısıdır. Mastitis sütçü ruminantlarda en sık rastlanan sağlık problemi olup sütçülük sektöründe ekonomik açıdan en önemli hastalık olarak değerlendirilmiştir (Lipkens ve ark., 2019; Hogeveen ve ark., 2011). Mastitis inflamasyonun şiddetine göre, klinik, Sub-klinik ve kronik mastit olarak üç farklı sınıfta incelenebilir. Klinik mastitis tanısı, kızarmış ve şişmiş meme, yüksek ateş, süt yapısında görülen anormal renk ve yapılarak bakılarak konulabilir (Khan ve ark., 2006). Klinik mastitin aksine sub-klinik mastitiste süt ve meme yapısında

⁵ Arş. Gör., Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye;
semih.yazici@siirt.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4833-3520>

⁶ Doç. Dr., Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye;
yalcin.yaman@siirt.edu.tr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2705-2831>

anormallik göstermez, ancak süt miktarında düşme ve Somatik Hücre Sayısı (Somatic Cell Count, SCC) artışı görülür (Ababe ve ark., 2016). Subklinik mastitisin neden olduğu kayıpları ölçmek oldukça zordur, ancak klinik vakalardan daha fazla ekonomik kayıplara yol açtığı bilinmektedir (Zhao ve ark., 2008; Romero ve ark., 2018). Kronik mastitisde ise semptomlar uzun süre devam edebilirken hayvanlar subklinik durumda kalabilir veya klinik ve subklinik mastitis arasında geçişler gösterebilir. Bu kronikleşmiş süreç meme başının körelmesi, hayvanın sürüden çıkarılması ile sonuçlanabilir (Cheng ve ark., 2020). Mastitisin neden olduğu başlıca problemler, süt üretiminin düşmesi veteriner maliyetlerinin ve iş yükünün artışı, sütün ve süt ürünlerinin kalite ve güvenilirliğinin azalması (Auldist ve ark., 1996; Zhao & Lacasse, 2008), uzun süreli antibiyotik kullanımının tetiklediği antibiyotik direnci tablosu (Krömker ve ark., 2017) ve hayvan refahı sorunları (Leslie ve ark., 2012) olarak değerlendirilmiştir.

Mastitis ile ilgili süt verimi özellikleri değerlendirilerek bu hastalığa duyarlılık veya direnç açısından yapılan kıyaslamalarda, yüksek süt verimine sahip Holstein-Friesian inekleri, orta verimli Jersey gibi ırklara göre yüksek mastitis oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir (Washburn ve ark., 2002). Ayrıca daha düşük verimli İtalyan Rendena inekleri mastitise karşı daha yüksek direnç gösterdiği rapor edilmiştir (Curone ve ark., 2018). Mastitise karşı direnç/duyarlılık açısından meme şekli ve yapısı veya düşük somatik hücre sayısı (Somatic Cell Count-SCC) dolaylı seleksiyon kriteri olarak değerlendirilmektedir (Rogers & Hargrove, 1991; Lund ve ark., 1994; Boettcher ve ark., 1998; Kul ve ark., 2006). Anatomik olarak meme başı kanalı keratinöz Furstenberg rozeti ve sifinkter kası ile kapalı durumdadır (Avdić ve ark., 2015). Böylelikle patojenlere karşı doğal bir bariyer oluşturmaktadır. Sifinkterlerin yeteri kadar kapanmadığı meme başlarına enfektif ajanlar rahatça girebilir ve meme dokusuna ilerleyebilir (Alpan & Aksoy, 2015). Makineli sağımın bu sifinkterin zayıflamasına neden olduğu belirtilmiştir (Grindal & Hillerton, 1991). Büyük huni şeklindeki meme uçlarına, sarkık şekilli memelere veya doğum sonrası kör meme loblarına sahip sığırların, subklinik mastitis açısından daha büyük risk altında olduğu bildirilmiştir (Waller ve ark., 2014).

Bahsi geçen bu kompleks ve yüksek maliyetli süreçler mastitis tedavi, yönetimi ve korunmasında zorluklar oluşturmaktadır. Bu sebeplerle mastitis tedavisinde alternatif yaklaşımlar aranmakta ve mastitis dirençli popülasyonların oluşturulması önem kazanmaktadır. Sütçü hayvanların doğal olarak sahip oldukları genetik faktörler veya geçirdikleri ıslah süreçlerinin mastitise karşı duyarlılık veya direnç üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (Shaheen ve ark., 2016).

2. Etiyoloji

Mastitis, enfeksiyon ajanları ve toksinleri nedeniyle oluşabildiği gibi, kimyasal tahriş ve fiziksel travma gibi birçok farklı sebeple meydana gelebilir (Chaffer ve ark., 2020). Süt ineklerinde mastitis çoğunlukla mikroorganizmalar, genellikle meme bezine giren ve meme dokusunda çoğalabilen bakteriler tarafından kaynaklanır. Bu bakteriler, bez dokusuna doğrudan zarar veren toksinler ve diğer virülans faktörleri üretir (Ranjan ve ark., 2006). Sığır mastitisi, genellikle çevresel ve bulaşıcı birçok bakteriyal patojen nedeniyle ortaya çıkar. Bulaşıcı patojenlerin ana rezervuarı enfekte memelerdir. Bu patojenler genellikle sağım sırasında hayvanlar arasında yayılır. Ana bulaşıcı patojenler; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* ve *Mycoplasma spp.* 'dir Diğer bulaşıcı patojenler arasında *Corynebacterium bovis* gibi bakteriler vardır. Çevresel patojenler, hayvanın çevresinden herhangi bir zamanda memeye bulaşabilir. Çevresel patojenler arasında Koliform bakteriler (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*) ve çevresel streptokoklar (*Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*), *Trueperella pyogenes*, bazı maya ve mantarlar yer almaktadır (Shoaib ve ark., 2022). Küçük ruminantlarda ise Stafilokoklar başlıca etiyolojik ajanlardır, klinik mastitis vakalarında en sık izole edilen tür *S. aureus*, subklinik vakalarda ise koagülaz negatif bakterilerdir. Klinik mastitis, çoğunlukla sağım makinelerinin ilk kez kullanıldığı dönemde ve laktasyonun ilk üçte biri sırasında meydana gelir. Küçük ruminant mastitisi genellikle kronik ve bulaşıcı bir enfeksiyondur, birincil bulaşma kaynağı meme ve deri taşıyıcılığıdır, yayılma çoğunlukla sağım sırasında gerçekleşir (Bergonier ve ark., 2003).

3. Bulaşma

Mastitis için iki temel bulaşma yolu vardır. Bunlar; kontagiyoz-geçişli ve çevresel bulaşmadır. Kontagiyoz bulaşma, inekten ineğe bulaşmayı ifade eder, çünkü mastitisli inekler hastalığın en büyük kaynağıdır. Hastalığa yol açan etkenlerin yayılması, temelde sağım sırasında gerçekleşir. Örneğin, sağıcıların elleri, meme temizliği için kullanılan bezler veya sağım makineleri aracılığıyla bulaşma gerçekleşebilir (Zadoks ve ark., 2011). Çevresel mastitis ise çevrede başlar ve yataklık, gübre veya su gibi ortamlardan memelere bulaşma olarak tanımlanmaktadır (Gurjar ve ark., 2012).

4. Tanı

Mastitis tanısında geleneksel olarak uygulanan çeşitli yöntemler, enfeksiyonun belirlenmesi ve etken mikroorganizmaların tespit edilmesi amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında; klinik muayene, pH lm, California Mastitis testi, somatik hücre sayımı, bakteriyolojik incelemeler yer alır.

4.1. Klinik Muayene

Meme görünür anormallikler, simetri, boyut, kıvam ve lezyonların varlığı açısından incelenir. Klinik mastitis, memede bazı patolojik durumlarla tanınırken, akut mastitis olguları memede şişlik, ağrı, kızarıklık ve sıcaklık gibi iltihap belirtileriyle kendini gösterir. Kronik mastitiste ise memenin sertleşmesi, meme başlarının tıkanması, atrof, fibrozis ve apse oluşumu görülür. Akut mastitis ayrıca sütün rengine değişiklik, pulcuklar ve pıhtıların varlığı ile de tanınacağı bildirilmiştir (Thomas & Simon, 2018).

4.2. pH lm

Normal süt 6.5 ile 6.7 arasında bir pH değerine sahiptir. Bu değer, yaklaşık olarak kanın pH değeriyle (7.2-7.4) benzerdir. Ancak enfeksiyon mevcut olduğunda, sütün pH değeri alkaliliğe doğru kayma eğilimi

gösterdiği için sodyum hidroksit gibi bir reaktif kullanılarak mastitin ph tabanlı tespit edilebileceği sonucuna varılmıştır (Andrews ve ark., 1992).

4.3. California Mastitis Testi (CMT)

Mastitisin varlığını gösteren beyaz kan hücreleri ile reaksiyona girerek jel benzeri bir madde oluşturur. Subklinik mastitisin prevalansı, CMT ile İskandinav derecelendirme sistemi (1-5 arası dereceler) kullanılarak renk değişimine dayalı olarak değerlendirilmektedir. Her bir ticari marka için üreticinin talimatlarına göre gerçekleştirilir. Kısaca, her meme çeyreğinden yaklaşık ½ çay kaşığı süt, üzerinde A, B, C ve D olarak işaretlenmiş 4 sıg kupa bulunan plastik bir palete alınır. Süte eşit miktarda CMT reaktifi eklenir ve içerikler karışması için palet döndürülür. Yaklaşık 10 saniye sonra, palet döndürülmeye devam edilirken sonuç okunur. Sonuçlar, pıhtılaşma (çökeltme) seviyesine bağlı olarak değerlendirilir (Marshall ve ark., 1993).

4.4. Somatik Hücre Sayısı (SCC)

SCC'nin belirlenmesi, meme sağlığını izlemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Somatik hücreler süt için normal bir bileşendir ve yalnızca aşırı miktarda olduklarında bir sorun olduğunu gösterir. Bakteriyolojik kültür sonuçları ile birleştirildiğinde, mastitis durumu hakkında önemli bilgiler verir. SCC'de lökosit kaynaklı yükselme görülür. İltihap sırasında, süt içerisine PMN'nin (polimorfonükleer lökositler) hücumu nedeniyle SCC'deki artış belirgindir. Sağlıklı bir inekte bir meme çeyreğinde SCC 100.000 hücre/ml'den az olmalıdır (Hamann, 2002). 200.000 hücre/ml'nin üzerindeki SCC seviyeleri enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilir (Smith ve ark., 2001).

4.5. Sütün Bakteriyolojik İncelenmesi

Hijyenik bir şekilde toplanmış süt örneğinin standart bir hacminin agar kültür ortamına inokülasyonu sonrasında gözlemlenen bakteri üremesi ve koloni oluşumu değerlendirilerek yapılna mikrobiyolojik bir yöntemdir ve etken spesifik sonuçlar verebilir (Radostits ve ark., 2007).

5. Mastitis Tedavi ve Yönetimi:

Mastitisin yönetimi, önleyici ve tedavi edici yöntemleri kapsamakta olup, genellikle antibiyotik tedavisine dayanmaktadır. Perakut mastitis durumunda, mikroorganizmaların ve toksinlerin uzaklaştırılması için meme sık aralıklarla sağılmalıdır. Süt salınımını kolaylaştırmak için oksitosin enjeksiyonu yapılabilir ve sıvı desteği damardan veya oral olarak uygulanabilir. Ayrıca, iltihap önleyici ilaçlar, ağrı kesiciler, ateş düşürücüler ve antibiyotikler sistemik ya da meme içi yoluyla kullanılabilir. Akut mastitis tedavisinde, düzenli sağımın yanı sıra antibiyotik uygulamaları önceliklidir. Gerektiğinde sıvı desteği sağlanabilir ve iltihap önleyici ilaçlar, ağrı kesiciler veya ateş düşürücüler uygulanır. Subakut mastitiste ise genellikle oksitosin enjeksiyonu sonrası memenin sağılması ve meme içi antibiyotik infüzyonu yeterlidir. Kronik mastitis tedavisi, genellikle klinik belirtiler ortaya çıktığında tedavi edilmesi ya da hayvanın sürüden çıkarılması yoluyla gerçekleştirilir. Subklinik mastitis ise laktasyon döneminde tedavi açısından ekonomik olmadığından, genellikle kuru dönemde antibiyotiklerin meme içi uygulanması gibi dönemlere uygun tedaviler bildirilmiştir (Lago ve ark., 2011; Li ve ark., 2023).

Amerikan Ulusal Mastiti Konseyi (National Mastitis Council - NMC) tarafından belirlenen 10 aşamalı mastitisi önlenme ve mevcut mastitis vakalarını yönetebilmek için gerekli adımlar bildirilmiştir. Bu maddeler:

İyi Sağım Teknikleri: Yeni mastitis vakalarını önlemek için doğru ve etkili bir sağım tekniği uygulanmalıdır.

İyi İşleyen Sağım Makinesi: Sağım makinelerinin düzenli bakımı ve uygun çalışması, yeni mastitis vakalarını önlemek için önemlidir.

Başarılı Kuru Dönem Yönetimi: Kuru dönemde enfeksiyonları önlemek ve mevcut mastitis vakalarını yönetmek için doğru uygulamalar yapılmalıdır.

Klinik ve Subklinik Mastitisin Başarılı Tedavisi: Mastitisin yayılmasını önlemek ve mevcut vakaları tedavi etmek için etkili tedavi yöntemleri kullanılmalıdır.

Kronik Enfekte Hayvanların Sürüden Çıkarılması: Yeni mastitis vakalarını önlemek ve mevcut vakaları yönetmek için kronik enfekte hayvanlar sürüden çıkarılmalıdır.

İyi Refah, Hijyen ve Barınma Koşulları: Hayvanların yaşam alanlarının hijyenik ve konforlu olması, yeni enfeksiyonların oluşumunu engeller.

Kayıt Tutma: Süt üretimi ve sağlık durumu ile ilgili verilerin düzenli olarak kaydedilmesi, mastitis yönetiminde stratejik planlama sağlar.

Hedef Belirleme - İzleme - Değerlendirme ve Değişiklik: Yönetim stratejisi olarak hedefler belirlenir, performans izlenir ve gerektiğinde değişiklikler yapılır.

Üreme Politikası ve Satın Alma Politikası: Yeni mastitis vakalarını önlemek için doğru hayvan seçimi ve sürü yönetimi politikaları uygulanmalıdır.

Hijyen Önlemleri ve Genel Sürü Sağlığı Durumu: Genel hijyen ve sürü sağlığı önlemleri, yeni mastitis vakalarının önlenmesine yardımcı olur. (National Mastitis Council - NMC, <https://www.nmconline.org>)

6. Mastitis Prevalansı ve Neden Olduğu Ekonomik Kayıplar

Mastitisin neden olduğu ekonomik kayıplar, doğrudan maliyetler (veteriner hizmetleri, ek iş gücü ihtiyaçları ve tedavi sırasında atılan süt) ve dolaylı maliyetler (süt verimindeki azalma, kalite kayıpları ve erken kesim) olarak iki ana kategoriye ayrılmıştır (Azooz ve ark., 2020; Kovačević ve ark., 2022). Mekonnen ve ark. (2019) çalışmalarına göre,

Etiyopya'da mastitisle ilgili yıllık ortalama kayıp maliyeti çiftlik başına 4.765 Etiyopya Birri (ETB) veya 213,94 ABD doları olarak belirtilmiştir. Sinha ve ark. (2014) çalışmalarına göre, Hindistan'da mastitin laktasyon başına maliyeti 1.390 INR, 84.234 USD, olarak tahmin edilmiştir. Çin'de ise, yedi eyaletteki büyük süt çiftliklerinde, ekonomik etki çiftlik başına aylık 15.000 ile 76.000 ABD doları arasında değişmekte olduğu bildirilmiştir (He ve ark., 2020).

ABD'deki mastitis olgularının doğrudan ve dolaylı maliyetleri hesaplandığında, laktasyonun ilk 30 günü için toplam ekonomik maliyetin 444 ABD doları olduğu bildirilmiştir (Rollin ve ark., 2015). Hollanda'da klinik ve subklinik mastitis nedeniyle kayıplar inek başına yılda 17 ila 198 avro arasında değiştiği ve dünya çapında, klinik mastitisin ekonomik kayıplarına ilişkin yayınlanmış tahminler değerlendirilerek bir çiftlikteki inek başına maliyetin 61 ila 97 avro arasında olduğu bildirilmiştir (Hogeveen ve ark., 2011).

Türkiye'de meme hastalıklarının yaygınlığını belirlemek amacıyla 1981-82 yıllarında sekiz farklı ilde toplam 209.377 baş ineğin California Mastit Testi yapılmış bu çalışmalar sonucunda, Ankara'da %35.7, Adana'da %53.1, Kayseri'de %24.3, Eskişehir'de %15 ve Konya'da %5 oranında mastitis prevalansı rapor edilmiştir (Öncel, 1984). Türkiye'de süt sığırlarında subklinik mastitis ile ilgili bireysel çalışmaların verilerini bir araya getirerek meta-analiz yöntemiyle daha doğru bir prevalans tahmini sağlanması için yapılan bir çalışmada, 1988 ile 2019 yılları arasında gerçekleştirilen 38 çalışmadan elde edilen veriler kullanılmıştır. Çalışmalarda tahmin edilen subklinik mastitis prevalansı, inek bazında (37 çalışmada 11.182 inek) ve meme çeyreği bazında (33 çalışmada 48.990 meme çeyreği) olmak üzere ayrı ayrı analiz edilmiştir. Sonuçlar, inek bazında subklinik mastitisin genel prevalansının %0,48 (95% Güven aralığı: %0,41-%0,56) ve meme çeyreği bazında ise %0,32 (95% Güven aralığı: %0,26-%0,37) olduğu gösterilmiştir (Çelik ve Akçay, 2024).

Türkiye'de 2014 yılında yürütülen bir çalışmada enfekte hayvan başına ortalama kayıp tutarının 244 ₺ (158-1204 litre süt eşdeğeri) olduğu rapor edilmiştir. Toplam finansal kayıplar içerisinde, mastitis farklı şiddet

seviyelerine göre ekonomik kayıp dağılımı incelendiğinde, hafif ve orta dereceli vakalarda en büyük kaybın tedavi masraflarından kaynaklandığı (%80 ve %60), şiddetli vakalarda ise en büyük kaybın süt verimindeki düşüşten (%51) olduğu belirtilmiştir (Yıldız ve Yalçın, 2014).

Mastitis kaynaklı ekonomik kayıpların hesaplandığı bir başka çalışmada, Türkiye'de mastitis nedeniyle oluşan kayıpların, 395.6 bin tonu doğrudan süt verim kaybı olmak üzere, toplam 815.2 bin ton süte eşdeğer yaklaşık 1.39 milyar ₺ (261.5 milyon \$) finansal zarara yol açtığı rapor edilmiştir. Bu kayıp, ülkenin yıllık inek sütü üretiminin %4.3'üne, sağmal inek başına 226.3 ₺ (133 litre süt eşdeğeri veya 43 \$) kayba denk gelmekte olup, aynı zamanda Türkiye'nin toplam hayvansal üretim değerinin yaklaşık %2'sini ve toplam süt üretim değerinin %4-5'ini oluşturduğu bildirilmiştir (Sarıözkan, 2019).

7. Çiftlik Hayvanlarında Mastitise Karşı Yapılan Genetik Direnç/Duyarlılık Çalışmaları

7.1. Sığırlarda mastitis direnç/duyarlılık çalışmaları

Süt üretiminde en maliyetli hastalıklardan biri olan mastitise karşı genetik direncin artırılması, süt sığırı ıslahında önemli bir hedef haline gelmiştir. Bu nedenle, mastitis direncini artırmak için genetik ıslah, mastitis kontrolü stratejilerine iyi yönetim uygulamalarının tamamlayıcısı olarak dahil edilmemesi yönünde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Ancak mastitis direnci, enfeksiyona yanıt, inflamasyon ve enfeksiyon sonrası iyileşme gibi birçok süreçte rol oynayan pek çok gen tarafından etkilenir. Düşük kalıtım derecesi, çevresel değişkenlikler ve çiftlik yönetim farklılıkları, genetik varyantlar ile mastitis direnci arasındaki bağlantıların belirlenmesini daha da karmaşık hale getirmektedir (Pyörälä, 2002 ; Cai ve ark., 2018 ; Cheng ve ark., 2020).

Genetik ıslah etkisi kümülatif olup kalıcı ve maliyet etkin değişiklikler sağlar. Ancak, bir özellik yönünden yapılacak genetik seleksiyonun başarısı, o özelliğin kalıtım derecesine ve eklemeli genetik varyasyona bağlıdır. Mastitis direncinin kalıtım derecesi düşük (≤ 0.05)

olduğundan (Koeck ve ark., 2012; Narayana ve ark., 2018; 2021), genomik yöntemler, konvansiyonel soy ağacına dayalı ıslah yöntemlerine kıyasla, popülasyondaki faydalı alellerin frekansını artırmak için önemli fırsatlar sunar. Ayrıca, mastitis direnci ile ilişkili genetik varyantların belirlenmesi, bu özelliğin genetik mimarisinin anlaşılmasında en önemli aşamalardandır (Tiezzi ve ark., 2015).

Çin Holstein ineklerinde yapılan bir çalışmada, 596 süt veren inek arasından, on boğanın kızları olan kırk süt ineği seçilmiştir. Vaka grubu olarak seçilen 20 inekte, tüm laktasyon dönemlerinde klinik mastitis görülmüştür. Somatik hücre sayımı (SCC) değerleri $[(2100,3 \pm 891,1) \times 10^4 > 100 \times 10^4 \text{ hücre/ml}]$ olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu olan 20 inekte üç laktasyon dönemi boyunca mastitis görülmemiştir. SCC değerleri $[(22,4 \pm 6,8) \times 10^4 < 30 \times 10^4 \text{ hücre/ml}]$ olarak ölçülmüştür. Bağımsız örnek popülasyon doğrulama aşamasında, 383 inek (vaka grubunda 73 ve kontrol grubunda 310), otuz bir boğanın kızlarından oluşan ve üçüncü erken laktasyon döneminde (15–60 gün) bulunan 886 süt veren inek arasından seçilmiştir. Benzer süt üretim miktarına sahip ineklerin aynı bakım ve besleme koşullarına tabi tutulmuştur. Bu çalışmada, GWAS-2b-RADseq yöntemiyle iki aşamalı genotip-fenotip ilişki analizi aracılığıyla mastitis ile ilişkili bağışıklık düzenleyici genlerin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) taranmış ve tanımlanmıştır. 7,957,920 markerden 10,058 yüksek kaliteli SNP taranmış ve bu SNP'lerin alel frekansları hesaplanmıştır. İki GWAS analiz modeli, Bayes ve Lojistik regresyon, kullanılarak 27 önemli SNP ortak olarak işaretlenmiş, bunların arasında üç SNP'in, (rs75762330, rs88640083, rs20438858) bağışıklık düzenleyici genlere (*PTK2B*, *SYK* ve *TNFRSF21*) anotasyonu yapılmıştır. Belirlenen bu üç SNP, kodlama yapmayan bölgelerde bulunmuş ve düşük veya orta dereceli genetik polimorfizm göstermiştir. Ancak, bağımsız örnek popülasyon doğrulama (Vaka-kontrol çalışması) verileri, bu üç önemli SNP'nin klinik mastitis özelliği ile önemli ölçüde ilişkili olduğunu göstermiştir. Daha da önemlisi, *PTK2B* ve *SYK* genlerinin ifade seviyeleri, hem klinik mastitis ineklerin periferik kan lökositlerinde (Periferic Blood Leucosyt, PBL) hem de in vitro olarak – LPS (Lipopolysaccharide) (*E. coli*)- uyarılmış sığır meme epitel hücrelerinde düşüş olurken, *TNFRSF21*'in ifade seviyesinde artış görülmüştür. Aynı koşullar altında, Toll-benzeri reseptör 4 (*TLR4*), *AKT1*

ve pro-inflamatuar faktörlerin (*IL-1 β* ve *IL-8*) ifade seviyeleri de artmıştır. Ayrıca, araştırmacılar network (bağlantı, ilişki) analizinde, *PTK2B* ve *SYK*'nin Çin Holstein sığırlarının doğuştan gelen bağışıklık sinyal yolu içinde ortak ifade edildiğini gösterilmiştir. Bu sonuçlar neticesinde araştırmacılar, sığır mastitisinde bahsi geçen SNP'lerin çalışılması için güçlü kanıtlar sağlamış ve *SYK*, *PTK2B* ve *TNFRSF21* genlerinin mastitis duyarlılığı/toleransı üzerindeki rolünü ortaya koymuştur. (Yang ve ark., 2019).

Süt sığırlarında mastitis üzerinde etkili olan ana genleri belirlemek amacıyla yapılan bir başka çalışmada mastitis fenotipi için yüksek yoğunluklu SNP çiplerden faydalanılarak yapılan genom taramasıyla *Bos taurus* otozom (BTA) 6, 13, 16, 19 ve 20' deki 6 kromozomal bölge seçilmiştir. Bu 6 hedef bölge için dizilim seviyesindeki varyantlar kullanılarak ilişkilendirme analizleri gerçekleştirilmiş ve üç farklı ırktan alınan tüm genom dizilim verileriyle nedensel varyantlar haritalandırılmıştır. Kantitatif özellik lokusu (QTL, Quantative trait loci) keşif popülasyonu, 4.992 progeny testi yapılmış Holstein boğayı kapsamış ve QTL'ler 4.442 Nordic Red ve 1.126 Jersey sığırında doğrulanmıştır. Klinik mastitis için en yüksek ilişkilendirme sinyali, Holstein sığırlarında BTA 6'da 88.97 Mb konumunda gözlemlenmiş ve Nordic Red sığırlarında da doğrulanmıştır. BTA 6'da en yüksek ilişkilendirme bölgesi, bilinen biyolojik işlevlere dayanarak mastitis üzerinde etkili olabilecek güçlü adaylar olan vitamin D bağlayıcı protein öncüsü (GC) ve nöropeptid FF reseptörü 2 (*NPFFR2*) genlerini içerdiği bildirilmiştir. Holstein sığırlarında BTA 6'da 88.32 Mb konumunda mastitis üzerinde etkili farklı bir QTL tespit edilmiştir. Ayrıca, Nordic Red sığırlarında BTA 13 ve 19, Jersey sığırlarında ise BTA 16 ve 20'deki QTL'lerin ayrıştığı doğrulanmıştır. Bu hedef bölgelerde birkaç aday gen tanımlanmış olsa da, herhangi bir gen ya da polimorfizmin bu bölgeler için nedensel faktör olduğu kesin olarak belirlenemediği belirtilmiştir (Sahana ve ark., 2014).

Bir başka çalışmada, ilk laktasyondaki Holstein ineklerde klinik mastitis için yapılan GWAS çalışmasında 103.585 baş ilk laktasyondaki inekte mastitis vaka bilgisi ile Illumina BovineSNP50 BeadChip'ten elde edilen 1.361 boğanın genotip bilgileri kullanılarak yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda klinik mastitisin oldukça poligenik bir kalıtım

modeline sahip olduğunu doğrulanmıştır. Ancak kromozom 2, 14 ve 20'deki tespit edilen ardışık 10 SNP, klinik mastitisle ilişkili genetik varyasyon üzerinde etkili olan bölgeleri ortaya koymuştur. Bu bölgelerin, kromozom 14'teki bazı genler (*LY6K*, *LY6D*, *LYNX1*, *LYPD2*, *SLURP1* ve *PSCA*), ana histokompatibilite kompleksiyle bağlantılı nötrofil düzenleme fonksiyonuyla bilinen lenfosit-antijen-6 kompleksi (*LY6*) içinde olduğu görülmüştür. Kromozom 2'deki bazı genlerin (*IFIH1*, *LY75* ve *DPP4*) , bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde veya belirli patojenlerin varlığında bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde (*ITGB6*, *NR4A2*) rol oynadığı belirlenmiştir. Kromozom 20'deki genlerin, meme bezi metabolizması (*GHR*, *OXCT1*), antikor üretimi ve bakteriyel hücrelerin fagositozu (*C6*, *C7*, *C9*, *C1QTNF3*), tümör baskılanması (*DAB2*), meme epitelinin involüsyonu (*OSMR*) ve sitokin düzenlemesi (*PRLR*) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Tiezzi ve ark., 2015).

Çiftlik hayvanlarında QTL bilgilerinin arşivlendiği ve yayımlandığı bir platform olan Animal QTL database (QTLdb), SCS (Somatik Hücre Skoru, Somatic Cell Score) için 1869 ve klinik mastitis için 569 QTL bildirilmiş; klinik mastitis ve SCS ile ilgili QTL'ler, SCS için BTA29 hariç tüm sığır otozomlarında rapor edilmiştir (<http://www.animalgenome.org/QTLdb>). Yapılan çalışmalar sonucunda bazı kromozomların, özellikle klinik mastitis için (BTA6, BTA12, BTA24, BTA25, BTA28), fazla temsil edildiği bildirilmiştir. Ancak, yalnızca birkaç QTL bağımsız çalışmalar arasında tutarlı bir şekilde rapor edilmiştir (Hu ve ark., 2013). Yaklaşık 88–89 Mb konumunda, BTA6 üzerindeki klinik mastitis ve SCS ile ilişkili bir QTL, İskandinav süt sığırları ırkları (Sahana ve ark., 2013; Cai ve ark., 2018; Sodelan ve ark., 2011; Wu ve ark., 2015; Olsen ve ark., 2016; Sahana ve ark., 2014), İskandinav ve İtalyan Holstein (Fontanesi ve ark., 2014), ABD Holstein (Cole ve ark., 2011), Alman Holstein (Shafy ve ark., 2014), İtalyan Valdostana Red Pied (Strillaci ve ark., 2014) ve Fransız Holstein ile Montbéliarde ineklerinde (Tribout ve ark., 2020) yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu QTL bölgesinde ön plana çıkan *NPFFR2* geni de dahil olmak üzere birden fazla potansiyel nedensel gen bulunduğunu gösterilmiştir (Olsen ve ark., 2016; Sahana ve ark., 2014; Tribout ve ark., 2020). Ayrıca bu QTL için en olası aday gen, Vitamin D bağlayıcı proteini kodlayan *GC* geni olarak belirlenmiştir (Cai ve ark., 2018; Olsen ve ark., 2016; Sahana ve ark.,

2014). Tanımlanan QTL'ler için aday genler ve aday varyantlar hakkındaki bilgiler hâlâ eksiktir ve aynı QTL'nin farklı ırklarda aynı işleve sahip olduğu konusunda bilinenlerin yetersiz olduğu bildirilmiştir (Cai ve ark., 2024).

7.2. Koyun ve keçilerde mastitis direnç/duyarlılık çalışmaları

Küçük ruminantlarda da mastitis önemli ekonomik kayıplara neden olduğundan, mastitise karşı dirençli yetiştiricilik olanakları halen araştırılmaktadır. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada ilk veya ikinci laktasyon dönemindeki 609 safkan Chios (Sakız) süt koyunu incelenmiştir. Klinik mastitisin varlığı veya yokluğu (sırasıyla 0/1), laktasyonun ilk beş ayı boyunca aylık ziyaretlerde deneyimli bir veteriner hekim tarafından kaydedilmiştir. Ziyaret günü, sağımhane koşullarında aseptik şartlarda mastitisle ilişkili üç özelliğin (CMT, SCC ve Total Viable Count-TVC) ölçümü için iki adet 50 ml süt örneği toplanmıştır. Klinik mastitis görülme sıklığı ve üç mastitis belirtici özellik için kalıtım derecesi ve güçlü pozitif genetik korelasyonlar tahmin edilmiştir. Bu mastitis özellikleriyle anlamlı bir şekilde ilişkili olan SNP'ler, 2, 3, 5, 16 ve 19. kromozomlarda dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Mastitis direnci için gen yolları, moleküler etkileşim ağları ve fonksiyonel gen kümeleri belirlenmiştir. Tespit edilen bölgelerdeki aday genler, koyun transkripsiyon atlasının ve süt somatik hücrelerinden elde edilen transkriptom verilerinin analizi temel alınarak tanımlanmıştır. Doğal bağışıklıkta (İnnate immunity) rol oynayan ilgili aday genler arasında, *SOCS2*, *CTLA4*, *C6*, *C7*, *C9*, *PTGER4*, *DAB2*, *CARD6*, *OSMR*, *PLXNC1*, *IDH1*, *ICOS*, *FYB* ve *LYFR*'nin bulunduğu bildirilmiştir (Bergonier ve ark., 2003).

Assaf koyunlarında yapılan bir başka çalışmada toplam 1894 koyun kullanılmış ve somatik hücre skoru (SCS) fenotipi üzerinden GWAS çalışması yapılmıştır. Düzeltme yapılmış fenotip verilerinden en üst (%5'lik dilim, n=96) ve en alt (%5'lik dilim, n=96) fenotip uçlarında yer alan toplam 192 koyun seçilmiştir. Illumina Ovine Infinium HD SNP BeadChip (680K) kullanılarak analiz edilen verilerde, genom seviyesinde anlamlı SNP bulunamamış, ancak 19. kromozomda, NUP210 ve ARPP21

genlerinin içinde veya yakınında tespit edilen dört SNP'nin kromozom seviyesinde anlamlı olduğu rapor edilmiştir (Öner ve ark., 2021).

Bir başka çalışmada, farklı doğum sayıları ve yaşlara sahip 210 sağlıklı İvesi koyunundan süt üretimi verileri kaydedilmiştir. Süt özellikleri üzerindeki sabit etkileri belirlemek için genel doğrusal model (GLM) ve varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. Süt verimi ve süt kalitesi ile ilişkili olan sitokin sinyalinin baskılayıcı 2 (*SOCS2*) genindeki bir SNP'nin (rs868996547) ivesi koyunlarının süt verimi, yağ oranı, yağ/protein oranı ve SCC değeri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Hasan & Ceyhan 2024).

Keçilerde yapılan bir çalışmada, 20 suni tohumlama tekesinin yavruları olan 1.941 Alp ve Saanen keçisi Illumina GoatSNP50 BeadChip ile genotiplendirilmiştir. QTLmap yazılımı kullanılarak bağlantı analizleri ve bağlantı dengesizliği değerlendirilmiştir. Çalışma, süt keçilerinde 11 fenotipik karakter (ön meme, meme profili, meme tabanı pozisyonu, arka meme, arka meme bağlantısı, meme başı uzunluğu, meme başı formu, meme başı açısı, meme başı yönelimi, göğüs derinliği, ayak yönelimi) ve SCC özellikleri için bağlantı analizlerinde 37 kromozom düzeyinde önemli kantitatif özellik lokusu (QTL) bildirilmiştir. Bağlantı dengesizliği analizlerinde ise 222 genom düzeyinde anlamlı QTL rapor edilmiştir. Dikkate değer şekilde, Keçi otozomu, *Capra hircus* otozomu, (CHI) 19'un, bahsi geçen fenotipler ve SCC ile ilişkili SNP'ler açısından oldukça zengin olduğu ve Saanen ırkında iki yüksek derecede anlamlı bölge içerdiği gözlemlenmiştir. Bu bölgelerden biri (33–42 Mb), SCC ile önemli ölçüde ilişkili olup, intramamar enfeksiyonlara yanıtla ilişkili aday genleri (*RARA*, *STAT3*, *STAT5A* ve *STAT5B*) içerdiği bildirilmiştir. CHI 19'un başka bir bölgesinin (24.5–27 Mb), süt üretimi (süt, yağ ve protein verimi) ile meme özellikleri (meme tabanı pozisyonu ve arka meme bağlantısı) üzerine olumsuz bir pleiotropik etki gösterdiği ve bu durumda, bu iki özellik grubu arasında var olan negatif genetik korelasyonlarla uyumlu olduğu bildirilmiştir. Bu QTL'ler Alpin ırkında bulunamazken Alpin ırkında en anlamlı iki bölge, CHI 6'da (45.8–46.0 Mb) ve CHI 8'de (80.7–81.1 Mb) göğüs derinliği ile ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçların, gelecekte keçi seleksiyonu için faydalı olacağı ve nedensel mutasyonların

tanımlanmasına yol açabilecek potansiyele sahip olabileceği değerlendirilmiştir (Martin ve ark., 2018).

Mastitis ve gastrointestinal parazit direncine karşı yapılan bir çalışmada, Romanya'dan Banat's White (n = 36) ve Carpatina (n = 35) ile Macaristan'dan Hungarian Milking (n = 79) Keçileri olmak üzere toplamda 150 hayvanda 19 gene ait 52 tek SNP analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda, 10 gene (*PTX3*, *IL6*, *CLEC4E*, *IL8*, *IL1RN*, *IL15RA*, *TNFSF13*, *SOCS3*, *TNF* ve *TLR3*) ait 16 polimorfik SNP tespit edilmiştir. Romanya ve Macaristan'daki bahsi geçen üç yerli keçi ırkına ait 150 akraba olmayan bireyden oluşan panelde tespit edilen bu 16 polimorfik SNP'nin Doğu ve Orta Avrupa'daki keçi ırklarında mastitis ve gastrointestinal parazitlere karşı genetik direnç çalışmalarında kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu rapor edilmiştir (Ilie ve ark., 2018).

8. Sonuç

Mastitis, süt sığırları ve küçük ruminantlar için önemli ekonomik kayıplara neden olan, multifaktöriyel bir hastalıktır. Genom bazlı analizler, mastitis direncine sahip bireylerin tespit edilmesi ve bu bireylerin dirençle ilişkilendirilen genetik varyasyonlarının popülasyonda yaygınlaştırılması için bir alan sunmaktadır. Bu tür çalışmalar, mastitisin genetik temellerinin anlaşılmasını sağlayarak, uzun vadede hem hayvan refahını artırmayı hem de hastalık yönetimi masraflarını azaltmayı hedeflemektedir. Ancak mastitis direnci, düşük kalıtım derecesine sahip olmasının yanı sıra poligenik (birçok gen tarafından etkilenen) bir karakter olduğu için genetik açıdan kompleks bir durum oluşturmaktadır. Diğer taraftan, hastalığın etiyojisi yalnızca genetik faktörlere dayanmamakta, çevresel koşullar, hayvan bakımı, sağım hijyeni ve beslenme gibi birçok etkenden de etkilenmektedir. Bu nedenle, mastitisin başarılı bir şekilde kontrol altına alınması ve hastalığın ekonomik etkilerinin minimize edilmesi için genetik iyileştirme çalışmalarının yanı sıra kapsamlı ve bütüncül önlemlerin de alınması gerekmektedir. Sağım hijyeni protokollerinin titizlikle uygulanması, hayvanların genel sağlık ve bağışıklık durumlarının korunması, uygun beslenme stratejileri ve çevresel koşulların iyileştirilmesi gibi tamamlayıcı önlemler, genetik iyileştirme

programlarının başarısını destekleyen kritik unsurlardır. Özetle, mastitis gibi kompleks bir hastalığın yönetiminde genomik ıslah önemli bir rol oynasa da, bu yaklaşımlar tek başına yeterli değildir. Genetik ve çevresel faktörlerin bir arada ele alındığı, multidisipliner yaklaşımlar geliştirilmesinin, mastitis direnci yüksek popülasyonların oluşturulmasında ve hastalığın uzun vadeli ekonomik etkilerinin azaltılmasında en etkili yöntem olacağı değerlendirilmektedir.

Kaynaklar

Abebe R, Hatiya H, Abera M, Megersa B, Asmare K. Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Vet Res*. 2016;12:270.

Alpan, O., & Aksoy, A. R. (2015). *Stışır yetiştiriciliği ve besiciliği* (7. baskı, ss. 161-162). İstanbul: Favori Yayınları.

Andrews, A. T. (1992). Introduction to chapter on indigenous enzymes in milk. In P. F. Fox, (Ed.), *Advanced dairy chemistry*, Vol. 1, Proteins (pp. 286–292). London: Elsevier.

Animal Genom *Animal QTLdb*. Retrieved December 11, 2024, from <http://www.animalgenome.org/QTLdb>

Auldism MJ, Coats S, Sutherland BJ, Mayes JJ, McDowell GH, Rogers GL. Effects of somatic cell count and stage of lactation on raw milk composition and the yield and quality of Cheddar cheese. *J Dairy Res*. 1996;63(2):269–80.

Avdic, R., Mrvic, V., Tandir, F., Hadziomerovic, N., Cuahija, V., & Bejdic, P. (2015). Macro and micro structure of Furstenberg rosette and teat canal. In *International Congress. “One World–One Health–One Vision*.

Azooz M.F., El-Wakeel S.A., Yousef H.M. Financial and economic analyses of the impact of cattle mastitis on the profitability of Egyptian dairy farms. *Veterinary World*. 2020;13(9):1750–1759. doi:10.14202/vetworld.2020.1750-1759.

Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J., Beiboer, M. L., Wilmink, H., Benedictus, G., & Brand, A. (1998). Incidence of

clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *Journal of dairy science*, 81(2), 411–419. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75591-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75591-2).

Bergonier D, de Crémoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res.* 2003 Sep-Oct;34(5):689-716. doi: 10.1051/vetres:2003030. PMID: 14556701.

Bonestroo, J., Fall, N., Hogeveen, H., Emanuelson, U., Klaas, I. C., & van der Voort, M. (2023). The costs of chronic mastitis: A simulation study of an automatic milking system farm. *Preventive Veterinary Medicine*, 210, 105799 doi: 10.1016/j.prevetmed.2022.105799.

Cai, Z., Iso-Touru, T., Sanchez, M. P., et al. (2024). Meta-analysis of six dairy cattle breeds reveals biologically relevant candidate genes for mastitis resistance. *Genetics Selection Evolution*, 56(1), 54. <https://doi.org/10.1186/s12711-024-00920-8>.

Chaffer, M., Leitner, G., Glickman, A., van Creveld, C., Winkler, M., Saran, A., et al. (2000). Determination of udder health in camels (*Camelus dromedarius*). *Journal of Camel Practice and Research*, 7(2), 171-174.

Cheng, W. N., & Han, S. G. (2020). Bovine mastitis: Risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments - A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(11), 1699-1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>.

Curone, G., Filipe, J., Cremonesi, P., et al. (2018). What we have lost: Mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Research in Veterinary Science*, 116, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.11.020>.

Çelik, E., & Akçay, A. (2024). Meta-analysis and meta-regression of subclinical mastitis prevalences in dairy cattle in Türkiye. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 71(2), 195-206. <https://doi.org/10.33988/auvfd.1155601>.

Dejyong T., Chanachai K., Immak N., Prarakamawongsa T., Rukkwamsuk T., Tago Pacheco D., Phimpraphai W. An economic analysis of high milk somatic cell counts in dairy cattle in Chiang Mai. Thailand. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022;9 doi: 10.3389/fvets.2022.958163.

Grindal RJ, Hillerton JE. Influence of milk flow rate on new intramammary infection in dairy cows. *Journal of Dairy Research*. 1991;58(3):263-268. doi:10.1017/S0022029900029848

Grindal RJ, Hillerton JE. Süt akış hızının süt ineklerinde yeni meme içi enfeksiyona etkisi. *J Dairy Res*. 1991;58(3):263–8.

Gurjar, A., Gioia, G., Schukken, Y., Welcome, F., Zadoks, R., & Moroni, P. (2012). Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 28(3), 565–576. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.07.011>.

Hamann, J. (2002). Relationships between somatic cell counts and milk composition. *Bulletin of the International Dairy Federation* No. 372, Brussels, Belgium. pp. 56-59.

Hasan, M. U., & Ceyhan, A. (2024). The investigation of SNP in SOCS2 gene and its effect on milk yield, fat, protein, and somatic cell count in Awassi ewes. *Tropical animal health and production*, 56(8), 272. <https://doi.org/10.1007/s11250-024-04147-Z>.

He W., Ma S., Lei L., He J., Li X., Tao J., Wang X., Song S., Wang Y., Wang Y., Shen J., Cai C., Wu C. Prevalence, etiology, and economic impact of clinical mastitis on large dairy farms in China. *Veterinary Microbiology*. 2020;242 doi: 10.1016/j.vetmic.2019.108570.

Hogeveen, H.; Huijps, K.; Lam, T.J.G.M. Economic Aspects of Mastitis: New Developments. *N. Z. Vet. J.* **2011**, *59*, 16–23.

Hu, Z. L., Park, C. A., Wu, X. L., & Reecy, J. M. (2013). Animal QTLdb: An improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research*, *41*(D1), D871–D879.

Ilie, D. E., Kusza, S., Sauer, M., & Gavojdian, D. (2018). Genetic characterization of indigenous goat breeds in Romania and Hungary with a special focus on genetic resistance to mastitis and gastrointestinal parasitism based on 40 SNPs. *PLOS ONE*, *13*(5), e0197051. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197051>.

Jadhav, P. V., Das, D. N., Suresh, K. P., & Shome, B. R. (2018). Threshold somatic cell count for delineation of subclinical mastitis cases. *Veterinary World*, *11*, 789–793. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.789-793>.

Khan, M., & Khan, A. (2006). Basic facts of mastitis in dairy animals: A review. *Pakistan Veterinary Journal*, *26*, 204–208.

Koeck, A., Miglior, F., Kelton, D. F., & Schenkel, F. S. (2012). Genetic parameters for mastitis and its predictors in Canadian Holsteins. *Journal of dairy science*, *95*(12), 7363-7366.

Kovačević Z., Mihajlović J., Mugoša S., Horvat O., Tomanić D., Kladar N., Samardžija M. Pharmacoeconomic analysis of the

different therapeutic approaches in control of bovine mastitis: Phytotherapy and antimicrobial treatment. *Antibiotics*. 2022;12(1) doi: 10.3390/antibiotics12010011.

Krömker V, Leimbach S. Mastitis treatment-reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reprod Domest Anim*. 2017;52(Suppl 3):21–9.

Kul, E., Erdem, H., & Atasever, S. (2006). SÜT SIĞIRLARINDA FARKLI MEME ÖZELLİKLERİNİN MASTİTİS VE SÜT SOMATİK HÜCRE SAYISI ÜZERİNE ETKİLERİ. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(3), 350-356. <https://doi.org/10.7161/anajas.2006.21.3.350-356>.

Kovačević, Z., Mihajlović, J., Mugoša, S., Horvat, O., Tomanić, D., Kladar, N., & Samardžija, M. (2022). Pharmacoeconomic analysis of the different therapeutic approaches in control of bovine mastitis: Phytotherapy and antimicrobial treatment. *Antibiotics*, 12(1), 11. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010011>.

Krömker, V., & Leimbach, S. (2017). Mastitis treatment-reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(Suppl 3), 21–29.

Kul, E., Erdem, H., & Atasever, S. (2006). Süt sığırlarında farklı meme özelliklerinin mastitis ve süt somatik hücre sayısı üzerine etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 21(3), 350–356. <https://doi.org/10.7161/anajas.2006.21.3.350-356>.

Lago, A., Godden, S. M., Bey, R., Ruegg, P. L., & Leslie, K. (2011). The selective treatment of clinical mastitis based on on-farm culture results: I. Effects on antibiotic use, milk withholding time,

and short-term clinical and bacteriological outcomes. *Journal of dairy science*, 94(9), 4441–4456. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4046>.

Lam T, Olde Riekerink R, Sampimon O, Smith H. Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach. *Ir Vet J*. (2009) 62(Suppl 4):S34–9. 10.1186/2046-0481-62-S4-S34

Leslie KE, Petersson-Wolfe CS. Assessment and management of pain in dairy cows with clinical mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 2012;28(2):289–305.

Li Xiaoping , Xu Chuang , Liang Bingchun , Kastelic John P. , Han Bo , Tong Xiaofang , Gao Jian. Alternatives to antibiotics for treatment of mastitis in dairy cows. *Frontiers in Veterinary Science* 10 2023.

Lipkens, Z.; Piepers, S.; De Visscher, A.; De Vliegher, S. Evaluation of Test-Day Milk Somatic Cell Count Information to Predict Intramammary Infection with Major Pathogens in Dairy Cattle at Drying Off. *J. Dairy Sci.* **2019**, *102*, 4309–4321.

Lisle W. George, Thomas J. Divers, Norm Ducharme, Frank L. Welcome, Chapter 8 - Diseases of the Teats and Udder, Editor(s): Thomas J. Divers, Simon F. Peek, *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle* (Second Edition), W.B. Saunders, 2008, Pages 327-394, ISBN 9781416031376, <https://doi.org/10.1016/B978-141603137-6.50011-9>.

Marshall, R.T., Edmonson, J.E., & Stevens, B. (1993). Using the California mastitis test. University of Missouri Extension. <https://extension.missouri.edu/publications/g3653>.

Martin, P., Palhière, I., Maroteau, C., Clément, V., David, I., Klopp, G. T., & Rupp, R. (2018). Genome-wide association mapping for type and mammary health traits in French dairy goats identifies a pleiotropic region on chromosome 19 in the Saanen breed. *Journal of dairy science*, 101(6), 5214–5226. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13625>.

Mekonnen S.A., Koop G., Getaneh A.M., Lam T., Hogeveen H. Failure costs associated with mastitis in smallholder dairy farms keeping Holstein Friesian × Zebu crossbreed cows. *Animal : An International Journal of Animal Bioscience*. 2019;13(11):2650–2659. doi: 10.1017/S175173111900082X.

Narayana, S. G., Miglior, F., Naqvi, S. A., Malchiodi, F., Martin, P., & Barkema, H. W. (2018). Genetic analysis of subclinical mastitis in early lactation of heifers using both linear and threshold models. *Journal of dairy science*, 101(12), 11120–11131. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15126>.

National Mastitis Council. *Recommended mastitis control program*. Retrieved December 11, 2024, from <https://www.nmconline.org/wp-content/uploads/2016/08/RECOMMENDED-MASTITIS-CONTROL-PROGRAM-International.pdf>.

Öncel, G., 1984. Mastitis mücadelesinin yasal durumu ve bu konuda uygulanan projeler. I. Mastitis semineri, 15-16 Kasım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.

Öner, Y., Serrano, M., Sarto, P., Iguácel, L. P., Piquer-Sabanza, M., Estrada, O., Juan, T., & Calvo, J. H. (2021). Genome-Wide Association Studies of Somatic Cell Count in the Assaf Breed.

Animals : an open access journal from MDPI, 11(6), 1531.
<https://doi.org/10.3390/ani11061531>.

Puerto M.A., Shepley E., Cue R.I., Warner D., Dubuc J., Vasseur E. The hidden cost of disease: I. Impact of the first incidence of mastitis on production and economic indicators of primiparous dairy cows. *Journal Dairy Science*. 2021;104(7):7932–7943. doi: 10.3168/jds.2020-19584.

Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (2007). *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 10th edn. Saunders Elsevier. p: 1045-1046.

Ranjan R, Swarup D, Patra RC, Nandi D. Bovine protothecal mastitis: A review. Vol. 1, *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 2006. p. 1-7.

Rollin E., Dhuyvetter K.C., Overton M.W. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. *Preventive Veterinary Medicine*. 2015;122(3):257–264. doi: 10.1016/j.prevetmed.2015.11.006.

Romero J., Benavides E., Meza C. Assessing financial impacts of subclinical mastitis on Colombian dairy farms. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018;5:273. doi: 10.3389/fvets.2018.00273.

S. Pyörälä New strategies to prevent mastitis *Reprod. Domest. Anim.*, 37 (2002), pp. 211-216

Sahana G, Guldbrandtsen B, Thomsen B, Holm L-E, Panitz F, Brøndum RF, Bendixen C, Lund MS. Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and

whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. J Dairy Sci. 2014;97(11):7258–7275. doi: 10.3168/jds.2014-8141.

Sarıözkan, S. (2019). Türkiye’de Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Mastitis Nedeniyle Oluşan Finansal Kayıpların Tahmin Edilmesi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8(2), 147-151. <https://doi.org/10.31196/huvfd.667550>

Shaheen M, Tantary H, Nabi S. A treatise on bovine mastitis: disease and disease economics, etiological basis, risk factors, impact on human health, therapeutic management, prevention and control strategy. Adv Dairy Res. 2016;4:1. doi: 10.4172/2329-888X.1000150.

Shoaib, M., Islam Aqib, A., Aamir Naseer, M., Ahmad Bhutta, Z., PU, W., Tanveer, Q., Hammad, M. (2022). Etiology of Bovine Mastitis. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.98543.

Sinha M.K., Thombare N.N., Mondal B. Subclinical mastitis in dairy animals: Incidence, economics, and predisposing factors. Scientific World Journal. 2014;2014 doi: 10.1155/2014/523984.

Smith, K.L., Hillerton, J.E. and Harmon, R.J. (2001). National Mastitis Council Guidelines on Normal and Abnormal Milk based on Somatic Cell Counts and Signs of Clinical Mastitis. Madison, WI, USA. pp. 3.

Thomas J. Divers, Rebhun's Diseases of Dairy Cattle (Third Edition), Elsevier, 2018, Pages 2-16, ISBN 9780323390552, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39055-2.00001-2>.

Tiezzi F, Parker-Gaddis KL, Cole JB, Clay JS, Maltecca C. A genome-wide association study for clinical mastitis in first parity

US Holstein cows using single-step approach and genomic matrix re-weighting procedure. PLoS ONE. 2015;10(2):e0114919.

Van Soest F.J.S., Santman-Berends I., Lam T., Hogeveen H. Failure and preventive costs of mastitis on Dutch dairy farms. Journal of Dairy Science. 2016;99(10):8365–8374. doi: 10.3168/jds.2015-10561.

Waller KP, Persson Y, Nyman A-K, Stengärde L. Udder health in beef cows and its association with calf growth. Acta Vet Scand. 2014;56:9. doi: 10.1186/1751-0147-56-9.

Washburn SP, White SL, Green JT, Jr, Benson GA. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. J Dairy Sci. 2002;85:105–11. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74058-7.

Yang, F., Chen, F., Li, L., Yan, L., Badri, T., Lv, C., Yu, D., Zhang, M., Jang, X., Li, J., Yuan, L., Wang, G., Li, H., Li, J., & Cai, Y. (2019). Three Novel Players: PTK2B, SYK, and TNFRSF21 Were Identified to Be Involved in the Regulation of Bovine Mastitis Susceptibility via GWAS and Post-transcriptional Analysis. *Frontiers in immunology*, 10, 1579. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01579>.

Yıldız, A. Ş., & Yalçın, C. (2014). Ankara İli Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Klinik Mastitis Kaynaklı Ekonomik Kayıplar. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi(2), 55-62.

Zadoks, R.N. & Schukken, Y. (2011). Klebsiella mastitis: Prevention and treatment recommendations. In: 3rd International Symposium on Mastitis and Milk Quality (p140-144). St Louis,

USA September 22-24. Available:
<http://www.nmconline.org/articles/klebsiella.pdf> [2016-01-05]

Zhao X, Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J Anim Sci.* 2008;86:57–65. doi: 10.2527/jas.2007-0302.

BÖLÜM IV

Süt İneklerinde Robotik Sağım

Tamer KAYAR¹

1. Giriş

Süt, hem işletmelerin ana gelir kaynaklarından biri olması hem de insan sağlığı için vazgeçilmez bir besin kaynağı olması nedeniyle önemlidir. Protein, kalsiyum ve fosfor gibi temel besin öğeleriyle zengin bir içeriğe sahip olan süt, kemik dokusunun gelişimini desteklerken, kalsiyum emilimini artırarak kemik sağlığına katkı sağlar. <https://orcid.org/0000-0002-4011-1050>

Sütün elde edilmesi, yani sağım işlemi, hem hayvan sağlığı hem de işletmenin verimliliği açısından kritik bir öneme sahiptir. Sağım, laktasyondaki hayvanlardan manuel ya da mekanik yöntemlerle belirli aralıklarla uygulanması gereken bir işlemdir ve sağım işleminin özenle yönetilmesi gerekir (Demir & Öztürk, 2010). İşletmelerde sağımın doğru yönetilmesi, maliyetlerin azaltılması ve süt veriminin artırılması için çok önemlidir. Bu amaca yönelik olarak geliştirilen sağım makineleri, çalışma verimliliğini artırmak ve

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Aksaray/Türkiye, Orcid: 0000-0002-4011-1050, tmrkyr76@gmail.com

hayvan refahını desteklemek için yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bilgen, 1991).

Modern teknolojinin hayvancılık sektöründeki etkisiyle, sağım süreçlerinde önemli yenilikler yaşanmıştır. Bu yeniliklerden biri olan süt sağım robotları, Avrupa ülkeleri, ABD, Kanada ve Avustralya gibi ülkelerde yaygınlaşmış; Türkiye’de ise yeni yeni benimsenmeye başlamıştır (Çıkrıkcı, 2019). Robotik sağım sistemlerinin getirdiği otomasyon, insan emeği ihtiyacını azaltırken süt verimi ve kalitesinde artış sağlayabilmektedir. Ayrıca, insan eliyle yapılan işlemlerde ortaya çıkabilecek hata oranlarının da minimize edilmesine olanak tanır. Bunun yanı sıra, bu sistemlerin hayvan refahını destekleyen özellikleri, özellikle stres faktörünü azaltarak hayvan sağlığı üzerinde olumlu etkiler yaratmaktadır.

Bu bölümde, süt sağım robotlarının yapısal ve teknik özellikleri, süt üretimi ve kalitesine etkisi, hayvan sağlığına etkileri, iş gücü üzerine etkileri, avantajları ve dezavantajları gibi konular ele alınacaktır.

2. Sağım Robotunun Yapısal ve Teknik Özellikleri

Robotik sağım sistemleri, süt sığırlarının bireysel olarak sağımını gerçekleştiren, modern teknoloji ile donatılmış ve hayvan refahını artırmayı amaçlayan sistemlerdir. Bu sistemler, barınaklara entegre edilerek, sağım işleminin stres düzeyini düşürür ve iş gücü ihtiyacını önemli ölçüde azaltır. Robotik sağımda temel amaç, hayvanların kendi tercih ettikleri zamanlarda sağım işlemine katılmalarını sağlamaktır (Madsen & ark., 2010).

Robotik sağım ile geleneksel sağım arasındaki farklılıkların yanı sıra, farklı marka robotlar arasında da yapısal ve işlevsel çeşitli farklılıklar bulunmaktadır. Bunlar; ineklerin sağım robotuna giriş ve çıkış yönlerine göre farklı tasarımlar, robotik kolların çalışma şekli ve tasarımlarındaki farklılıklar, ön sağım işlemindeki farklılıklar, süt

kalitesi ölçümündeki farklılıklar, sağım sonrası dezenfeksiyon işlemlerindeki farklılıklar, bilgisayarlı sürü yönetim sistemindeki farklılıklar olarak sıralanabilmektedir (Çıkrıkcı, 2019).

Robotik sağım, sağım işleminin tamamen otomatik sistemler aracılığıyla gerçekleştirilmesini ifade eder. Hayvan robota geldiği andan itibaren kontrol robotta olmaktadır. Memenin sağıma hazırlanması, sağım başlıklarının takılıp çıkarılması, otomatik ünitelerin kontrolü, kontrol bilgisayarı yardımıyla yapılmaktadır. Sağım robotunun çalışma aşamaları; robotun kapılarının açılıp ineğin içeri girmesi, hayvanda bulunan çip sayesinde ineğin tanınması, ineğin sağıma kabul edildiği taktirde kapıların kapanması, memelerin temizlik ve daldırma işleminin yapılarak hazırlanması, meme başlarının ultrasonik sensörler ile tespit edilerek meme başlıklarının takılması, süt analizinin bilgisayara yansıtılması bu sayede süt kontrolünün sağlanması, meme başlıklarının çıkartılması, sağım sonrası dezenfeksiyon ve daldırma işleminin yapılması, kapıların açılarak ineğin serbest bırakılması ve sütün soğutucu tanklara transferi şeklinde sıralanabilir (De Koning & ark. 2001; Graves, 2002; Reinemann, 2002).

Sağım robotlarının ana bileşenleri arasında otomatik kapılar, sağım bölmesi, yemleme ünitesi, bilgisayar ve sürü yönetim sistemi, robot kol, sensörler ve temizleme sistemleri bulunmaktadır. Bu bileşenler hem hayvan sağlığını korumak hem de yüksek kaliteli süt üretimini desteklemek için birbiriyle entegre bir şekilde çalışmaktadırlar (Türkyılmaz, 2005; Alıç & Yener, 2006).

2.1. Otomatik Kapılar

Robotik sağım sisteminde otomatik kapılar, sağım bölümüne giriş ve çıkış noktalarında bulunurlar ve elektrikle çalışmaktadırlar. Kapılar ineğin sağım bölümünde tutulması ya da sağım bölümünden çıkarılmasında kullanılmaktadır (Graves, 2002; Alıç & Yener, 2006).

2.2. Sağım Bölmesi

Sağım bölmesi, sağımda ineğin durduğu, zapt edildiği, giriş ve çıkış kapılarını içeren, robotun manevra yapma kabiliyetine sahip kolunun bulunduğu, hayvana yem verilen, farklı aksesuarlar monte edilmiş ve çeşitli konularda hizmet veren bölümdür (Graves, 2002).

Sağım bölmesi, ineklerin giriş çıkışını otomatik olarak kontrol ederek bir hayvanın sığacağı şekilde tasarlanmıştır. Robotik sağım üniteleri ahırların farklı bölgelerine yerleştirilebilmekle birlikte çoğunlukla ahırın son kısımlarına yerleştirilmektedir. Bunun sebebi ise, sağım robotunun kontrolleri için hayvanlar arasına girerek stres oluşturmamaktır. Hayvanlara robotik sağımı cazip hale getirmek için bölmenin içinde, ön tarafına yemlik yerleştirilmiştir (Halachmi & ark., 2003; Türkyılmaz, 2005).

2.3.Yemleme Ünitesi

Robotik sağım sistemlerinde yemleme ünitesi, sağım bölmesinde yemlemenin yapıldığı yerdir. Yem ineğin sağım durağına gönüllü olarak gitmesini teşvik etmekle birlikte, sağım boyunca ineğin sakin kalmasını sağlamaktadır (Graves, 2002).

2.4. Bilgisayar ve Sürü Yönetim Sistemi

Robotik sağım sistemlerinin kalbinde, her hayvanın bireysel verilerini kayıt altına alan ve süreçleri yöneten bir bilgisayar sistemi bulunur. Bu sistem, süt miktarı, sağım süresi ve hayvan sağlığına ilişkin kritik bilgileri toplar ve analiz eder (Alıç & Yener, 2006). Bilgisayar sistemi böylelikle sağım başlangıcında ya da sonrasında; sağılan süt, süt toplama tankına gönderildikten sonra gerekli testleri yaparak, sütün kalitesini ve memenin sağlık durumunu belirlemede ve sağlık sorunlarının erken teşhisinde kullanılmaktadır. Burada mastitis ve benzeri problemlerinin tespit edildiği durumlarda hayvan sahibinin elde edilen bu bilgileri kaydetmesi ve gerekli müdahaleleri yapması gerekmektedir (Graves, 2002).

Ayrıca sağım esnasında ineğin tanınması, ineğe verilen yem miktarının belirlenmesi, sağım başlıklarının takılıp çıkarılması, manevra yeteneği olan robot kolun hareketleri, otomatik kapıların

açılıp kapanması da bilgisayar tarafından kontrol edilmektedir (Graves, 2002; Dick, 2002).

2.5. Robot Kol

Robot kol, sağım başlıklarını ineğin meme başlarına doğru ve hassas bir şekilde yerleştirmek için tasarlanmıştır. Pnömotik sistemle çalışan robot kol veya kollar, sensörleri ve sağım başlıklarını taşıyan bölümdür (Türkyılmaz, 2005). Farklı tiplerde robot kollar mevcut olup, bunlar hayvana genellikle yandan, arkadan veya alttan yaklaşımla çalışır (Rossing ve ark. 1997, De Koning & ark., 2001). Her bir yöntem, hayvanın rahatlığını ve sistemin etkinliğini optimize etmek amacıyla tasarlanmıştır (Türkyılmaz, 2005).

Yandan yaklaşan robot kolların uygulama kolaylığı sağlamasına rağmen en büyük handikapı ineğin olası tekmelerine maruz kalabilmeleridir. Arkadan yaklaşan robot kolların kullanımında, durakta bulunan ineğin önce arka bacaklarının belirli bir açıklıkta olması gerekir. Bu da inekte belirli bir seviyede stres oluşturmaktadır. Alttan uygulanan robot kollarda ise robot kol, sadece inek sağıma girdikten sonra harekete geçtiği için zaman kaybına neden olabilmekte ve zeminde yer aldığı için temizlenmeleri de güç olabilmektedir (Türkyılmaz, 2005).

Tek duraklı sağım sistemlerinde, tek bir robot kolun kullanımı söz konusudur. Diğer bir sistemde ise, yani birden fazla durağa sahip sağım sistemlerinde hareket ve manevra kabiliyetine sahip bir robot kol bulunmaktadır. Robot kol duraklar arasında hareket edebilmektedir. Bütün sistemler için, robot kol üzerinde bulunan sağım başlıkları meme başlarına belirli bir sıralamayla takılmaktadır. Sağım başlıkları öncelikle arka meme başlarına sonra ön meme başlarına takılarak işlem tamamlanmaktadır. Genellikle bu işlem 45-100 saniye sürmektedir. Bu sürenin değişken olmasının sebebi robotik sağım sistemi ile ineğin meme yapısı ve davranışlarındaki farklılıklardır. Başlıklar takıldıktan sonra, robot kolun herhangi bir bağlantısı kalmamaktadır ve diğer durağa doğru hareket etmektedir (De Koning & ark., 2001).

2.6. Sensörler

Sensörler, sağım robotlarının en kritik parçalarından biridir ve meme başlarını algılayarak sağım işlemini başlatır. Bu sistemde inekler robota girişte elektronik numaralar ile tanınır. Buradaki numaralar hayvana ait tablonun bilinmesi için sağım bölmesi ile sistemin girişine yerleştirilen sensörler sayesinde okunmaktadır (Alıç & Yener, 2006).

Memenin biçimi ve meme başı konumu, inekten ineğe farklılık göstermektedir. İneklerin sağım bölmesinde hareket etmeleri meme başı konumunda değişime neden olmaktadır. Robotik sağım sisteminde, meme ve meme başı konumu ölçülerek sisteme kaydedilmektedir. Belirlenen koordinatlar sisteme kaydedildikten sonra hayvanın diğer bir sağım bölgesine gelişinde kullanılarak hem zaman kazanılmış olur hem de sağım başlıklarının başarılı bir şekilde takılması sağlanır. Bu nedenle sağım robotunda meme başının konumu ve pozisyonunun tespit edilmesi gereklidir. Sensörler, hayvanların memelerini algılamak, sağım başlıklarını doğru pozisyona yerleştirmek için kullanılır. Ultrasonik, lazer ve optik teknolojilerle donatılmış bu sensörler, sağım işleminin etkinliğini artırır (Schillingmann & Mottram 1993; De Koning & ark. 2001; Ordolff 2001; Graves, 2002). Sağım robotundan en yüksek performansı alabilmek ve ultrasonik sensörlerin meme başlarını sorunsuz olarak bulabilmesi için memenin temiz ve kuru olması gerekmektedir (De Koning & ark., 2001).

Sensörlerin bir diğer önemi de süt akışını ve süt kalitesini belirlemek için kullanılmasıdır. Robot kol tarafından takılan sağım başlıkları, süt akışı azaldığında yine robot kol tarafından çıkarılmaktadır.

2.7. Sağım Sistemi

Robotik sağım sisteminde sağım işlemini gerçekleştiren birimler; sağım başlıkları, sensörler, süt iletim hattı ile inekten alınan

sütün toplanmasında ve ölçülmesinde görevli ölçüm kavanozu şeklinde sıralanmaktadır (Graves, 2002).

Robotik sağım sisteminde inekler sisteme gönüllü olarak girerler. İnekler, sağım veya yemleme için doğrudan tanımlama istasyonuna gider. Robot sağım sisteminin sağım bölmesine ulaştıklarında sistem çalışmaya başlar. Sağım sisteminde bulunan bilgisayar, inekleri genellikle ineğin boynundaki manyetik tasma sayesinde tanır ve sağım işlemi başlatılır. Sistemin ön kapısı elektronik olarak kapatıldığında, elektronik besleyici ile güç sağlanır. Sistemin bir parçası olan robot kol ineğin altına yerleştirilerek bu kol üzerinde bulunan yıkama sistemi ile meme başının temizliği yapılır. Yıkamadan sonra temizleme işlemi yapan silindirik fırça çıkartılır ve lazer ünitesi tarafından inek meme ucunun konumu belirlenir. Daha sonra robot kollarındaki sağım başlıkları ineğin memelerine takılır. Her sağım başlığının kendi ölçüm cihazı vardır. Süt akışı azaldıkça sağım başlıklarındaki vakum azalır ve sağım başlıkları çıkarılır. Tüm sağım başlıkları çıkarıldıktan sonra robot koldaki her bir sağım başlığı yıkanır, robot kol tekrar ineğin altına hareket eder ve her meme başına dezenfektan püskürtür. Memelerin dezenfeksiyonu tamamlandıktan sonra otomatik çıkış kapıları açılır ve inek sağım bölümünden dışarı çıkar (Demir & Öztürk, 2010).

2.8. Temizleme Sistemi

Temizlik, hem sağım robotlarının hem de süt üretiminin kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır. Robotik sistemler, sağım öncesi ve sonrası memelerin temizlenmesi için özel fırça ve dezenfeksiyon mekanizmaları kullanır. Ayrıca, sağım ekipmanlarının otomatik olarak yıkanması, sistemin hijyen standartlarını korumasına yardımcı olur.

Sağımdan önce ve sonra meme ile sağım başlıkları, süt hortumları, süt toplama kavanozu, süt iletim boruları ve süt tankının temizlenmesi gerekmektedir. Meme başlarının yıkanmasındaki amaç süte bulaşabilen kirlerin uzaklaştırılmasıdır. Meme başı temizleme sistemi patojen mikroorganizmaların bir meme başından

diğerine veya bir inekten diğerine taşınma riskini azaltmaktadır (De Koning & ve ark., 2001; Graves, 2002; Alıç & Yener, 2006). Sağım ekipmanlarında sağımdan sonra süt kalıntıları, protein, yağ, vb madde kalıntılarında oluşan kurumuş bir tabaka oluşmaktadır. Temizlik amacıyla kullanılan dezenfektanlar , bu kalıntıların sağım ekipmanlarından temizlenmesine yardımcı olmaktadır (Alıç & Yener, 2006). Sütün herhangi bir tedaviden dolayı antibiyotik vb ilaç kalıntıları içerdiği durumlarda, bu sütün temas ettiği ekipmanların temizlenmesi gerekmektedir. Günde 2-3 kez bütün sistem tamamen yıkanmaktadır. Depolama tankları ise süt transferi tamamlandıktan sonra yıkanmaktadır. Eğer depolamada iki tank kullanılıyorsa, ara bağlantılar ve otomatik valflar dezenfektan solüsyonlarla temizlenmektedir (Graves, 2002; Alıç & Yener, 2006).

2.9. Sütün Soğutulması ve Depolanması

İnekten sağılan sütün, soğutulup depolanmasından önce süt ölçerlere daha sonra da süt toplama tanklarına transfer edilmesi gerekmektedir (Graves, 2002 ; Alıç & Yener, 2006).

Robotik sağım sisteminde de birçok sağım sisteminde olduğu gibi süt soğutma ve depolama sistemleri kullanılmaktadır. Depolama sistemi herhangi bir zamanda kullanılabilir. Çünkü inekler farklı saatlerde sağım bölmesine gelebilmektedir. Sistemde sütün toplanması ve sonradan tankın temizlenmesine olanak sağlayan ikinci bir tank bulunmaktadır. Soğutma sistemi, sağılan sütün soğutulması için soğutma levhaları ile donatılmış olan uzun ve çok geniş bir tanka sahiptir. Bu nedenle, kullanılan ikinci tank küçük yapılıdır ve genellikle sütün az miktarlarda hızlı bir şekilde soğutulmasını sağlamaktadır. Küçük tanka yeteri miktarda süt ulaştığı zaman geniş ve büyük tank tam anlamıyla soğutulmakta ve sonra süt esas tanka transfer edilmektedir (Graves, 2002).

3. Robotik Sağım Sistemlerinde Süt Üretimi ve Sütün Kalitesi

Robotik sağım sistemleri, sağım sıklığını artırarak süt üretiminde belirgin bir artış sağlamaktadır (Demir & Öztürk, 2010). Geleneksel yöntemlerle günde 2-3 kez sağım yapılırken, robotik

sistemler hayvanların ihtiyaçlarına bağlı olarak günde 4-5 kez sağım gerçekleştirebilir. Bu artış, laktasyon döneminde toplam süt verimini %10-15 oranında yükseltebilmektedir (Erdman & Varner, 1995; Klei & ark., 1997; Hogeveen & ark., 2000; Baines, 2004). nal & Kuraloglu (2016), robotik sağımda sağım sıklığını etkileyen faktörleri řu şekilde sıralamışlardır:

- İneğin sağım bölmesine giriş rahatlığının sağlanabilmesi,
- İneğin sağılma isteği, sağım ünitesinde bulunan ve hayvana verilen konsantre yem veya ahır düzeninde sağım duraklarının yeri,
- Yüksek süt verimli ineklerin sağılmak için daha sık gelme eğilimleri,
- Hayvanın süt verimi ve sütün akış hızı ve sağım süresi,
- Yedek bir tankın varlığı veya yokluğuna bağlı olarak sistem temizliği için gerekli sürenin uzunluğu.

İnsan beslenmesinde büyük öneme sahip olan sütün kalitesi üzerinde etkili birçok faktör vardır. Süt kalite parametreleri arasında sütün asitliği ve de somatik hücre sayısı yer almaktadır. Sütteki serbest yağ asidi miktarındaki artış ile birlikte sütün asitliği de artmaktadır. Sütün asitliğini artıran bir diğer faktör de sağım sıklığıdır. Bu durum günde 3 sağım yapılan geleneksel sağım sistemlerinde ve robotik sağım sisteminde görülebilmektedir (Ipema & Schuiling 1992). Yapılan çalışmalarda sağım sıklığının sütteki somatik hücre sayısına ise çok etkili olmadığını bildirilmiştir (Kruip & ark., 2002).

Robotik sağımın süt kalitesine etkisi de dikkat çekicidir ve işletmelerde üzerinde durulması gereken bir konudur. Bir çok çalışma, işletmelerde uygulanan sağım sistemlerinin sütteki somatik hücre sayısına etkili olduğunu ve özellikle robotik sağımın somatik hücre sayısını azaltıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Kruip, 2000; Helgren & Reinemann 2003). Nitekim bu sistemde sütün iletkenliği, sıcaklığı ve somatik hücre sayısı gibi parametreleri, sistemde bulunan sensörler yardımıyla sürekli olarak izlenmektedir.

Özellikle mastitis gibi hastalıkların erken teşhisi sağlanarak süt kalitesinin düşmesi önlenmektedir (Alıç & Yener, 2006).

Geleneksel sağım ile robotik sağım sistemlerinde, sağım öncesi ve sonrası yapılan meme başları temizliğinin sütteki toplam bakteri içeriğine etkisi karşılaştırılmış ve yapılan çalışmada, geleneksel sağım sisteminde bakterilerin %65'inin ve robotik sağım sistemlerinde ise %95'inin uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir (Melin & ve ark., 2004).

Sığırlardan elde edilen temel ürünlerin başında gelen süt çeşitli şekillerde işlenebilir ve muhafazası özel koşullar gerektirir. Ayrıca sütün ve süt ürünlerinin raf ömürleri kısadır (Akman & ve ark., 2005). Bu yüzden sağımdan hemen sonra elde edilen süte ön soğutma uygulanması gerekmektedir. Çünkü düşük sıcaklıklarda bakteri üremesi engellenmektedir (De Koning & ve ark., 2002; Reinemann, 2002).

Geleneksel sağım yöntemlerine kıyasla, robotik sistemlerde süt kalitesinin daha stabil olduğu bildirilmektedir. Bunun temel nedenlerinden biri, sağım işleminin insan müdahalesinden bağımsız şekilde gerçekleşmesi ve temizlik standartlarının yüksek olmasıdır. Bu durum ise, sütte kontaminasyon riskini minimize etmekte, sütteki mikrobiyal yükün azalmasına katkıda bulunmakta ve ürünün raf ömrünü uzatmaktadır.

4. Robotik Sağım Sistemlerinin Hayvan Davranışlarına Etkileri

Hayvan refahını ve davranışlarını optimize etmek için robotik sağımın hayvan davranışları üzerindeki etkilerini düzenli olarak gözlemlemek ve gerekli düzenlemeleri yapmak önemlidir.

Robotik sağım sistemleri, hayvanların psikolojileri ve davranışları üzerinde önemli etkiler yaratmaktadır. Bu sistemlerin en önemli özelliği, hayvanların kendi tercih ettikleri zamanlarda sağım işlemini gerçekleştirebilmeleridir. Bu durum, hayvan refahını artırarak stres düzeyini minimize etmektedir.

Robotik sağım, geleneksel sağım yöntemlerine göre daha az insan müdahalesi gerektirdiği için hayvanların stres seviyeleri daha azdır. Özellikle insan teması konusunda hassas olan inekler için daha rahat bir ortam sunar. Robotik sağım sistemine geçişte ilk dönemlerde hayvanlar sistemi öğrenirken kısa süreli stres yaşayabilirler. Her hayvanın robotik sağım sistemine uyum süresi farklıdır. Daha yaşlı ya da daha utangaç hayvanlar, adaptasyon sürecinde zorluk yaşayabilir. Hayvanlarda, robotların mekanik parçalarına karşı başlangıçta korku veya çekingenlik gözlemlenebilir. Bu durum, sistemin tasarımı ve yönetimiyle minimize edilebilir. Bütün bu adaptasyon süreci tamamlandıktan sonra hayvanlar genellikle rahatlarlar, daha sakin ve uyumlu davranışlar sergilerler (Türkyılmaz, 2005).

Robotik sağım sistemleri sürü içi sosyal hiyerarşiyi de etkileyebilmektedir. Hayvanlar arasındaki sosyal hiyerarşi ve sürü davranışları, robotik sağım sisteminde daha doğal bir şekilde gözlemlenebilir. Bazı hayvanlar, özellikle hiyerarşide alt sıralarda yer alan bireyler, robotlara erişimde zorluk yaşayabilir. Bu tür durumların önüne geçmek için sistem tasarımının dikkatli bir şekilde planlanması gerekmektedir. Örneğin, hayvanların rahat hareket edebileceği ve kolay erişim sağlayabileceği bir alan oluşturulması önemlidir.

Robotik sağım uygulanan işletmelerde yem tüketme davranışları ile ilgili de önemli değişiklikler gözlenmiştir. İnekler her iki sağım sisteminde de akşam ve sabah erken saatlerde geviş getirmeyi daha çok tercih ederler ve yem yeme isteği genellikle sağım sonrası gerçekleşmektedir. Yapılan bir çok çalışmada, ineklerin robotla sağım işlemi için sabah, dinlenme ve geviş getirme için akşam saatlerini tercih ettikleri bildirilmiştir (MacKinnon & Peters, 1989; Stefanowska & ark., 2000; Wagner-Storch & Palmer 2003).

5. Robotik Sağım Sistemlerinin Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri

Süt sığırıcılığı işletmelerinde uygulanan sağım sistemi inek davranışları, süt verimi ve kalitesi ile birlikte inek sağlığı üzerinde

de etkili olmaktadır. Süt sığırlarında, mastitis gibi hastalıkların teşhisi noktasında yeni teknolojilerin kullanılması, özellikle sağım süresince yapılan gözlemlere bir alternatif oluşturmaktadır (Alıç & Yener, 2006).

Geleneksel sağım sistemlerinde mastitisi teşhis etmek için, enfekte olan meme başları çoğunlukla tam olarak belirlenememektedir. Ancak robotik sağım sistemlerinin kullanan işletmelerde hayvan sağlığı ve süt kalitesi için sistemdeki bilgisayar tarafından yapılan rutin kontroller ile meme sağlığı daha kolay ve daha güvenilir olarak kontrol edilebilmektedir (Koehler & ark., 2002).

Robotik sağımın hayvanların genel sağlığı ve süt verimliliği üzerinde dolaylı yünden önemli etkileri olabilmektedir. Daha düşük stres seviyesi, meme sağlığını koruyabilir ve süt üretimini optimize edebilir. Robotik sağım ile mastitis arasındaki ilişki hem olumlu hem de olumsuz etkiler içerebilir. Bu ilişki, sistemin tasarımı, yönetimi, hijyen standartları ve hayvanların bu sisteme adaptasyonu gibi faktörlere bağlıdır. Robotik sağım sistemleri doğru şekilde yönetildiğinde, mastitis riski kontrol altında tutulabilir. Ancak sistemin etkinliği, düzenli bakım ve hijyen standartlarının uygulanmasına bağlıdır (Hogenboom & ve ark., 2019; Kim & Cho, 2018; van der Wal & ark., 2020).

Robotik sağım sistemi sayesinde düzenli ve sık sağım, meme basıncını azaltarak mastitis riskini en aza indirmekle birlikte bu gibi sorunların erken teşhisine olanak tanır ve gerekli müdahalelerin hızla yapılmasını sağlar (Kim & Cho, 2018; Van der Wal & ark., 2020). Robotik sağım, insan müdahalesini minimize ederek sağım sırasında yapılan hataları da azaltabilir. Geleneksel sağımda oluşabilecek meme dokusunun zedelenmesi veya hijyen standartlarının ihlali gibi sorunlar robotik sistemlerle daha iyi yönetilebilir (Kim & Cho, 2018).

Sütte bulunan somatik hücre sayısı, meme hastalıklarının teşhisi ve meme sağlığının korunması noktasında üzerinde durulması gereken önemli parametrelerden biridir. İşletmelerde

genellikle, somatik hücre sayısı aylık olarak yapılan süt kontrollerinde tespit edilmektedir (Barth, 2001). Bununla birlikte robotik sağıım sistemi, istenildiği zaman her ineğin bireysel somatik hücre sayısı tespitine imkan sağlamaktadır. Somatik hücre sayısı bakımından yapılan kontrollerde 300.000 hücre/ml'nin üzerindeki değerler mastitis riskini göstermektedir (Pallas & Wendt, 2001). Yapılan araştırmalarda somatik hücre sayısının robotik sağıım sistemleri için bir sorun oluşturmadığı bildirilmiştir. Robotik sağıım sistemi kullanmayan bir çok işletmede sütteki somatik hücre sayısı yüksek düzeyde bulunmuş, ancak robotik sağıım sistemine geçildikten sonra sayının azaldığı tespit edilmiştir (Alıç & Yener, 2006).

Robotik sağıım sistemlerinin yukarıda sayılan olumlu yönleri yanında bir takım olumsuz yönleri de gözlenebilir. Meme kaplarının yetersiz temizlenmesi veya sağıım alanındaki hijyen eksiklikleri, bakteriyel enfeksiyon riskini artırabilir. Özellikle robotik sistemlerin bakımının ihmal edilmesi, sistemin enfeksiyon kaynağı haline gelmesine neden olabilir (Van der Wal & ark., 2020). İneklerin robotik sağıım sistemlerine adaptasyon sürecinde sağıım düzeninde aksaklıklar meydana gelebilir. Bazı güçsüz inekler, robotlara erişimde sosyal hiyerarşi nedeniyle engellenebilir. Bu da sağıım sıklığının azalmasına, sağıım sonrası memede süt kalmasına ve dolayısıyla mastitis gibi meme sağlığı sorunlarına yol açabilir (Kim & Cho, 2018; Van der Wal & ark., 2020).

6. Robotik Sağıım Sistemlerinin İşgücü Üzerine Etkileri

Robotik sağıım sisteminin, süt sığırcılığı işletmecileri tarafından neden talep edildiğini araştıran çalışmalarda finansal olmayan nedenler ön planda yer almaktadır. İşletmeler çoğunlukla işgücü ve miktarını azaltması yönüyle robotik sağıım sistemlerini tercih etmektedirler (Graves, 2002; Van der Vorst & ark., 2003).

Robotik sağıım sistemleri ile geleneksel sağıım sistemleri kıyaslandığında işgücünden %30-40 oranında tasarruf sağlandığı bildirilmiştir (Sonck, 1995). Yapılan bir diğer çalışmada ise robotik sağıımın sağladığı işgücü tasarrufunun %10-15 düzeyini geçmediği

sonucuna varılmıştır (Dijkhuizen & ark., 1997). Sonuç itibariyle robotik sağım az veya çok değişen oranlarda işgücünden tasarruf sağlamaktadır. Bu durumun önemi de özellikle iş gücü maliyetleri yüksek olan bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, manuel sağımda görülen tekrarlayan fiziksel uygulamalar, robotik sağım ile büyük ölçüde ortadan kalkar ve çalışanlar için daha az yorucu bir ortam sağlanmış olur. Robotik sağım sistemleri, 24 saat çalışabildiği için işletmelere zaman yönetiminde büyük esneklik sağlar. Çalışanlar, sabit sağım saatlerine bağlı kalmadan görevlerini daha esnek bir şekilde planlayabilirler. Zamanlarını daha karmaşık görevlere, örneğin sürü yönetimi veya robotların bakımı gibi alanlara ayırabilirler. Bu durum da işletmenin genel verimliliğini artırır. Daha az fiziksel çaba gerektiren ve daha teknolojik bir çalışma ortamı sağlayan bu sistemler, genç ve teknolojiyle daha uyumlu çalışanlar için cazip bir ortam yaratmaktadır.

7. Robotik Sağım Sistemlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Robotik sağım sistemlerinin avantajları ve dezavantajları hem işletme yönetimi hem de hayvan refahı açısından dikkate alınması gereken önemli unsurlardır. Robotik sağım sistemleri, uygun şekilde uygulandığında işletmelere büyük avantajlar sağlayabilir. Ancak, başlangıç yatırımı, bakım gereksinimleri ve adaptasyon süreci gibi faktörler dikkatle değerlendirilmelidir.

7.1. Avantajları

- Bu sistemi kullanan işletmelerde çalışan işçi başına daha fazla zaman kalmaktadır ve işgücü yoğunluğu azaltılmış olmaktadır (Armstrong & Daugherty, 1997). Aynı zamanda çalışanlar için esnek bir iş planı sunar ve çalışanların zamanını farklı görevlere yönlendirmesine olanak tanır.
- Robotik sağım, süt sığırcılığı yapan gençler için sağım gibi sıkıcı ve yorucu bir işi daha cazip hale getirebilmektedir (Demir & Öztürk, 2010).
- Sağım için sisteme gelen inekler, hızlı giriş-çıkış ünitesi sayesinde, düz bir hat üzerinde dönüş yapmadan robotik sağım ünitesine giriş-çıkış yapabilmektedirler. Bu durum da hem

sistemin işlem hacmini artırır hem de ineğin sisteme adapte olma sürecini kısaltır (Mundan & ark., 2014).

- İnekler, sağım için gönüllü olarak robot ünitesine girmekte ve bu durum hayvan refahını arttırmaktadır. Ayrıca hayvanların stres düzeylerinin azalmasıyla birlikte mastitis vb meme problemleri riski de azalmaktadır (Armstrong & Daugherty, 1997; Haan, 2012).
- Robotik sağımda gönüllü sağım olduğu için sağım sayısı artar. Sağım sayısının artmasıyla birlikte süt veriminde %5-12 artış sağlanabilir. Bu artış, özellikle yüksek verimli ineklerde daha belirgindir (Armstrong & Daugherty, 1997).
- Robotik sistem, daha hijyenik koşullarda sağım yapar ve süt kalitesini artırır. Sağım süresi, sütün debisi ve sütteki somatik hücre sayısı gibi veriler otomatik olarak hesaplanmakta ve memelerin sağlık durumları ile sütün kalitesi sağım sırasında analiz edilebilmektedir (Melin & ark., 2004).
- Geleneksel sağım sisteminde tedavi gören hayvanlar ve mastitisli inekler ayrı ayrı sağılmaktadır. Robotik sağım sisteminde ise ayrı ayrı sağıma bağlı zaman kaybına ve yoğun işçiliğe gerek duyulmadan sağım yapılabilmektedir.
- Robotik sağım sisteminde hastalıklar erken teşhis edilebildiği gibi hormon seviyeleri kontrolü ile hayvanlarda kızgınlık tespiti veya gebelik tespiti de yapılabilmektedir.

7.2. Dezavantajları

- Robotik sistemlerin başlangıç maliyeti oldukça yüksektir. Küçük işletmeler için bu maliyet büyük bir engel oluşturabilir. Ayrıca, robotik sistemde, geleneksel sağım sistemlerine göre günlük sağılan hayvan sayısı sınırlıdır (60-75 baş). Özellikle hayvan sayısı çok fazla olan işletmelerde robotik sağım ünitesi ihtiyacı buna paralel olarak artacaktır. Bu da işletme yatırım giderlerini arttıracaktır. Bu nedenle kurulum aşamasında iyi bir fizibilitenin yapılması gerekmektedir.
- Sistemlerin düzenli bakıma ihtiyacı vardır ve teknik sorunlar oluştuğunda profesyonel destek gerekebilir. Bu durum işletme

yönetiminde ek maliyetlere yol açabilir (Armstrong & Daugherty, 1997).

- Bazen hayvanların robotik sistemlere alışması zaman alabilir. İlk dönemlerde sağım sıklığında düşüş ve hayvan refahında geçici sorunlar görülebilir. Büyük işletmelerde, sağmal ineklerin yaklaşık üçte birini ilk laktasyona giren inekler oluşturmaktadır. Bu nedenle inekler, başlangıçta sisteme adapte olamayabilir. İşletmelerde gerek ineklerde görülen bu adaptasyon başarısızlıkları, gerekse de meme başlarının robotik sağıma uygun olmaması nedeniyle ineklerin %5-15'i sürüden çıkartılmaktadır. Bu reforme edilme uygulaması özellikle geleneksel sağım siteminden robotik sağıma geçen işletmelerde sık karşılaşılan bir durumdur. Robotik sağım sistemine adapte olamayan ineklerin sürüden çıkarılması da işletme ekonomisi açısından olumsuz bir durumdur (Baines, 2002).
- Sosyal hiyerarşide alt sıralarda yer alan güçsüz inekler sağım robotlarına erişimde zorluk yaşayabilir. Bu durum da sağım düzenini ve verimliliği olumsuz etkileyebilmektedir (Van der Wal & ark.,2020).
- Meme başlarının konumunu belirleyen sensörlerin kirlenmesi ve temizliğine dikkat edilmemesi durumunda meme başlıklarının takılmasında bir takım sorunlar yaşanabilir (Türkyılmaz, 2005).
- İnsan emeği ihtiyacı azalmasına rağmen, sağımda robotların performansını ve hayvan davranışlarını sürekli kontrol etmek ve izlemek gerekir. Bu durum da sağım işleminin tamamen bağımsız hale gelemeyeceği anlamına gelir (Coşkun & ark., 2023).

8. Sonuç

Robotik sağım sistemleri, modern işletmelerde verimliliği artırmak, işgücünden yüksek oranda tasarruf sağlamak ve hayvan refahı düzeyini iyileştirmek bakımından önemli bir yenilik sunmaktadır. Böylelikle bu sistemler, sağım sürecini

otomatikleştirerek süt verimini ve sütün kalitesini arttırmaktadır. Ayrıca meme sağlığını olumlu yönde etkileyerek mastitis oranlarını düşürebilmektedir. Ayrıca, hayvanların kendi sağım zamanlarını belirleyebilmesi, refah düzeylerini artıran önemli bir avantajdır.

Bununla birlikte, robotik sağım sistemlerinin yüksek kurulum maliyeti, düzenli bakım ve teknik destek gereksinimleri, enerji ve su tüketimi ve sigorta giderleri gibi önemli dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle küçük ölçekli işletmeler için bu sistemlerin uygulanabilirliği, maliyet ve işletme yapısına bağlı olarak sınırlı kalabilir. Ayrıca, hayvanların sisteme adaptasyonu ve sürüdeki sosyal hiyerarşı nedeniyle ortaya çıkabilecek aksaklıklar, işletme yönetimi için dikkatlice ele alınmalıdır. Fakat robotik sağım sisteminin süt verimine olumlu yönlerdeki etkileriyle sistemin kendi maliyeti kısa sürede telafi edilebilir. İşletmenin net gelirine çok fazla fayda sağlayamasa da dünyada gün geçtikçe süt sağım robotlarını kullanan işletme sayısı artmaktadır. Buna etki eden en önemli sebeplerin başında ise süt sağım robotlarının sosyal etkileri gelmektedir. Bu etkileri; sosyal faaliyetler için boş zaman yaratmak, yaşlı veya sağlık problemi olan çiftçilerin fiziksel olarak daha az yorulması ve böylece işletmecinin yaşam kalitesini yükseltmek, yeni bir personel almadan sürüyü büyütme yani mevcut işgücünün daha etkin kullanım olanağı, işletmedeki diğer işlerin sistemli bir şekilde yürütülmesine olanak sağlaması olarak sıralamak mümkündür.

Sonuç olarak, robotik sağım sistemleri, teknolojik yeniliklerin hayvancılık sektörüne entegrasyonunda önemli adımlardandır. Başarı, sistemlerin etkili kullanımı, uygun bakım ve işletme özelinde optimize edilmiş bir yönetim stratejisi ile mümkündür. Bu sistemlerin avantajlarını en üst düzeye çıkarmak ve dezavantajlarını minimize etmek için işletmelerin özellikle kurulum aşamasında dikkatli bir fizibilite çalışması yapması önerilebilir.

Kaynakça

Akman, N., Tuncel, S., Yener, S. M., Kumlu, S., Özkütük, K., Tüzemen, N., ... & Kaya, Ç. Y. (2005). Türkiye’de sığır yetiştiriciliği. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre* (ss. 687-706). TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası.

Alıç, D., & Yener, S. M. (2006). Süt sığırıcılığı işletmelerinde robotlu sağım sistemi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(4), 369-380.

Armstrong, D. V., & Daugherty, L. S. (1997). Milking robots in large dairy farms. *Computers and Electronics in Agriculture*, 17(2), 123–128.

Baines, J. (2002). Managing the change to a robotic milking system. In *First North American Conference on Robotic Milking* (pp. 20-22). Toronto, Canada: Wageningen Pers.

Baines, J. (2004). Managing the change to a robotic milking system. Retrieved from <http://www.milkproduction.com/article.asp?NSI0208>

Barth, K. (2001). Evaluation of somatic cell count under automatic milking conditions. In *Physiological and Technical Aspects of Machine Milking. ICAR Technical Series*, 7, 165-169.

Bilgen, H. (1991). Sağım makinası ve mastitis. *E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları*, 28(1).

Coşkun, G., Şahin, Ö., & Aytekin, İ. (2023). Robotik sağımda sürü yönetimi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 10(3), 361-371. <https://doi.org/10.19159/tutad.1339586>

Çıkırcı, C. A. (2019). Türkiye’de robotik sağım sistemiyle çalışan işletmelerin sürü yönetim performans değerlerinin belirlenmesi (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).

De Koning, C. J. A. M., Vestappen-Boerekamp, J., & Schuiling, E. (2002). Milk cooling systems for automatic milking. In *Proc. First North American Conference on Robotic Milking* (pp. 25-V35). Toronto, Canada.

De Koning, K., Vorst, V., & Meijering, A. (2001). Automatic milking experience and development in Europe. Retrieved from <http://www.milkproduction.com>

Demir, B., & Öztürk, İ. (2010). Robotlu sağım sistemleri. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 19(2), 21-27.

Dick, G. (2002). Free access robotic milking. In *Proceeding of the British Mastitis Conference* (pp. 63-67). Brockworth: Institute for Animal Health/Milk Development Council.

Dijkhusen, A., Hurine, R., Harsh, S., & Gardner, R. (1997). Economics of robot application. *Computers and Electronics in Agriculture*, 17, 111-121.

Erdman, R. A., & Varner, M. (1995). Fixed yield responses to increased milking frequency. *Journal of Dairy Science*, 78(6), 1199-1203.

Graves, R. E. (2002). A primer on robotic milking systems. College of Agricultural Sciences, G105.

Halachmi, I., Adan, I. J. B. F., Van Der Wal, J., Van Beek, P., & Heesterbeek, J. A. P. (2003). Designing the optimal robotic

milking barn by applying a queuing network approach. *Agricultural Systems*, 76, 681-696.

Haan, M., Stuart, D., & Schewe, B. (2012). Challenges and benefits of adopting robotic milking on Michigan dairy farms. *Michigan Dairy Review*.

Helgren, J. M., & Reinemann, D. J. (2003). Survey of milk quality on United States dairy farms utilizing automatic milking systems. *ASAE Annual International Meeting Technical Paper*, No. 033016. Nevada, USA.

Hogenboom, J., de Lange, A., & Lammers, A. (2019). The impact of robotic milking systems on animal behavior and welfare. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 8755-8764. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16742>

Hogeveen, H., Ouweltjes, W., De Koning, C. J. A. M., & Stelwagen, K. (2000). Relationships between milk interval, milk yield and machine-on time. In *51st Annual Meeting of the European Association for Animal Production*.

Ipema, A. H., & Schuiling, E. (1992). Free fatty acids, influence of milking frequency. In *Prospects for Automatic Milking. EAAP publication*, 65, 491-496.

Kim, H., & Cho, Y. (2018). Robotic milking systems: Effects on milk quality, mastitis, and animal health. *Livestock Science*, 218, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.013>

Klei, L. R., Lynch, J. M., Barbano, D. M., Oltenacu, P. A., Lednor, A. J., & Bandler, D. K. (1997). Influence of milking three times a day on milk quality. *Journal of Dairy Science*, 80, 427-436.

Kruip, T. A. M., Morice, H., Robert, M., & Ouweltjes, W. (2002). Robotic milking and its effect on fertility and cell count. *Journal of Dairy Science*, 85, 2576-2581.

Madsen, J., Weisbjerg, M. R., & Hvelplund, T. (2010). Concentrate composition for automatic milking systems- Effect on milking frequency. *Livestock Science*, 127, 45-50.

MacKinnon, J. C., & Peters, R. D. (1989). A basic automated system for milk recording and parlour feeding. *Computers and Electronics in Agriculture*, 4(1), 73-80.

Melin, M., Wiktorsson, H., & Christianson, A. (2004). Teat cleaning efficiency before milking in DeLaval VMS versus conventional manual cleaning. In *Automatic Milking- A Better Understanding* (p. 117). Wageningen, Netherlands: Wageningen Academic Publishers.

Mundan, D., Selçuk, H., Orçin, K., Karakafa, E., & Akdağ, F. (2014). Modern süt sığırcı işletmelerinde robotlu sağım sistemlerinin ekonomik açıdan değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3(1), 42-48.

Ordolff, D. (2001). Introduction of electronics into milking technology. *Computers and Electronics in Agriculture*, 30, 125-149.

Pallas, S., & Wendt, K. (2001). The development of udder health of a dairy cow herd in an automated milking system. In *Physiological and Technical Aspects of Machine Milking. ICAR Technical Series*, 7, 175-179.

Reinemann, D. J. (2002). Application of cleaning and cooling principles to robotic milking. *DeLaval Inaugural Symposium*. Kansas City, MO.

Rossing, W., Ipema, A. H., & Veltman, P. F. (1997). The feasibility of milking in a feeding box. *IMAG Research Report*, 85(2). Wageningen, Netherlands

Schillingmann, D., & Mottram, T. T. (1993). Automatic milking: Development of a robot system and ultrasonic teat location. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 55, 69-78.

Sonck, B. R. (1995). Labour research on automatic milking with a human-controlled cow traffic. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 43(3), 261-285.

Stefanowska, J., Plavsic, M., Ipema, A. H., & Hendriks, M. M. W. B. (2000). The effect of omitted milking on the behaviour of cows in the context of cluster attachment failure during automatic milking. *Applied Animal Behaviour Science*, 67(4), 277-291.

Türkyılmaz, M. K. (2005). Süt sığırcılık işletmelerinde sağım robotu kullanımı. *Erciyes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2(1), 61-64.

Ünal, H., & Kuraloğlu, H. (2016). Robotik sağım sistemlerinde optimum hayvan kapasitesinin belirlenmesi. *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi*, 12(2), 149-156.

Van der Vorst, Y., Bos, K., Ouweltjes, W., & Poelarends, J. (2003). Milk quality on farms with an automatic milking system. In *Farm and Management Factors Affecting Milk Quality*. Report D9

of the EU Project Implications of the Introduction of Automatic Milking on Dairy Farms (QLK5-2000-31006).

Van der Wal, P., Dijkstra, J., & Gieling, T. (2020). Robotic milking in dairy farms: Benefits and challenges in terms of hygiene and animal behavior. *Veterinary Record*, 186(4), 129-136. <https://doi.org/10.1136/vr.105850>

Wagner-Storch, A. M., & Palmer, R. W. (2003). Feeding behavior, milking behavior, and milk yields of cows milked in a parlor versus an automatic milking system. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1494-1502.

BÖLÜM V

Sperm Kriyoprezervasyonu Ve Bu Aşamada Oluşan Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri Ve Antioksidan Kullanımı

**Ramazan ÖRDEK⁸
Firdevs YILMAZ DAYANÇ⁹
Cengiz YILDIZ¹⁰**

1. Giriş

Hayvanlarda fertilité, yetiştirilme sürecini etkileyen en önemli kriterlerden biridir. Gamet gelişimi, fertilizasyon ve implantasyon süreçlerinde apoptotik mekanizma çok önemli rol oynar. Günümüzde, klonlama teknolojisi ve IVF teknolojisiyle üretilen memeli embriyosu transferlerinde ciddi oranda (% 55-60) kayıplar olduğu bilinmektedir. Bu süreci etkileyen faktörlerin

⁸ PhD. Ramazan ÖRDEK, Mustafa Kemal Üniversitesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, Veteriner Fakültesi, Hatay/Türkiye, Orcid: 0000-0001-9741-2383, ramazanordek074@gmail.com.

⁹ PhD. Firdevs YILMAZ DAYANÇ, Mustafa Kemal Üniversitesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, Veteriner Fakültesi, Hatay/Türkiye, Orcid: 0000-0003-0526-389X, fiirdevsyyilmaz@gmail.com

¹⁰ Prof. Dr. Cengiz YILDIZ, Yalova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Yalova/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9166-8836, cyildiz1@hotmail.com

aydınlatılarak bu yöndeki çalışmaların reproduktif alandaki biyoteknolojik faaliyetlere çok önemli katkı sağlayacak olması tartışılmaz bir gerçektir.

Spermatogenezis sürecini etkileyerek sperma kalitesini ve üretimini azaltan birçok etken bulunmaktadır. Spermatozoon anomalilerine neden olan en önemli etkenlerden biri de şüphesiz antioksidan seviyesindeki yetersizliktir (Khaki & ark., 2009). Aşırı düzeydeki oksidan maddeler, spermatozoonlarda yapısal sorunlar oluşturur ve hücre içi ATP mekanizmasını bozarak hücrenin ölümüne sebep olurlar (Zhong & Zhou, 2013). Açığa çıkan serbest oksijen radikalleri (ROS) antioksidanların savunma kapasitesini aşarsa oksidatif stres (OS) ortaya çıkar (Aitken, 2020). Oksidatif stres durumunda spermatozoada meydana gelen hücre hasarı, kromozom, gen ve DNA hasarları ve apoptozis gibi değişikliklere bağlı olarak fertilite sorunları oluşabilir (Walczak–Jedrzejowska, Wolski & Slowikowska–Hilczer, 2013).

2. Kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu

Memeli sperm hücresinin hiperaktivasyon sonucu dışı genital kanalda seminal plazma sıvılarından kurtularak fertilizasyon kapasitesi kazandıran fizyolojik değişiklikler sperm kapasitasyonu olarak bilinir. Moleküler düzeyde kapasitasyon, cAMP'ye bağlı fosforilasyon yollarının aktivasyonu, kolesterolün uzaklaştırılması, sperm plazma membranının hiperpolarizasyonu ve iyon geçirgenliğindeki değişiklikleri içeren bir dizi sinyal iletim olayını içerir. Kapasitasyon sürecinin tam olarak nerede başladığı bilinmese de uterusu hız kazandığı daha sonra ise tuba uterinada tamamlandığı bilinmektedir. Kapasitasyonun ilk aşamasında epididimis ve seminal plazma kökenli proteinler sperm plazmasından uzaklaştırılır. Kapasitasyonunu tamamlamış spermatozoona yeniden seminal plazma sıvısı eklenirse kazanılan kapasitasyon kabiliyeti kaybedilir.

Kapasitasyon döneminin bilinen aktiviteleri şunlardır:

- ❖ Kapasitasyon olayının sonunda spermatozoidlerde kolesterol ve fosfolipid miktarı düşer.

- ❖ Metabolizma, cAMP ve iyon içeriği değişir.
- ❖ Motilite kapasitasyon sonunda en dūřuk dūzeyde gōrūlūr.
- ❖ Kalmodūline baęlı protein fosforilasyonu yavařlar.
- ❖ Adenil siklaz ve fosfodiesteraz enzim aktiviteleri cAMP dūzeyini artırıcı yōnde deęiřir.

Akrozom, spermatozoonun bař kısmının ōn bōlgesinde, plazma membranının hemen altında ve çekirdeęin ūzerinde yer alan, lizozoma benzeyen ve spermatidlerde Golgi'nin bir ūrūnū olarak gōrūlen būyūk bir salgı vezikūlūdūr. Memelilerde normal kořullarda in vivo bařarılı bir fertilizasyon elde etmek iēin, spermatozoa ōnce kapasitasyondan ve ardından hūcrelerin zona pellucida'ya nūfuz ederek oosit plazma zarıyla kaynařmasını saęlayan akrozom reaksiyonundan geēmelidir (Wassarman, 2013). Memelilerde dōllenme sırasında, kapasitasyona uęramıř spermatozoon oositin kūmūlūs ooforuna nūfuz ederek plazma membranı saęlam bir řekilde zona pellucidaya (ZP) baęlanır. Oosit ZP'sine baęlandıktan sonra spermatozoon akrozom reaksiyonu (AR) olarak bilinen Ca^{2+} baęımlı bir ekzositotik iřlemden geēer (Yanagimachi, 1994).

Akrozom reaksiyonu ilk olarak Dan (1952) tarafından deniz keşanesi ve denizyıldızında tanımlanmıştır. Kapasitasyon, ēok sayıda fizyolojik ve biyokimyasal modifikasyonu iēerir (Yanagimachi, 1994). Kapasitasyon sūreciyle ilişkili biyokimyasal değişiklikler arasında; plazma membranından kolesterolūn dışarı atılması, bunun sonucunda membran akışkanlığında ve bikarbonat ve kalsiyum iyonlarına geēirgenlięinde artış, plazma membranının hiperpolarizasyonu (Hernandez-Gonzalez & ark., 2006), protein fosforilasyonunda ve protein kinaz aktivitesinde değişiklikler (Visconti, 2009) ve bikarbonat (HCO_3^-) konsantrasyonunda ve hūcre iēi pH, Ca^{2+} ve siklik adenosin monofosfat (cAMP) seviyelerinde artış meydana gelir.

Akrozom reaksiyonu sırasında, spermin plazma zarı ile sperm başının ōn bōlgesindeki dış akrozomal zar arasında birden fazla fūzyon meydana gelmesi sonucunda ZP, iē akrozomal zara ve iēerięine maruz kalır. Sperm proteinleri ile akrozom reaksiyonunu

başlatan doğal agonist olan ZP3 arasındaki etkileşimler Ca^{2+} bağımlı reaksiyonu tetikler. ZP3 uyarımı, spermin T tipi kanallarının açılmasına ve iç depolardan Ca^{2+} 'nin sürekli salınmasına neden olur. ZP3 ile uyarılan sperm, Ca^{2+} /kalmodulin bağımlı adenil siklazları, protein fosfatazları ve kinazları, tirozin kinazları ve fosfolipazları aktive edebilen geçici olarak yükselmiş bir pH sergiler. Spermin ZP3 ile uyarılması, sperm başındaki proteinlerin agregasyonu yoluyla oluşabilen G proteinlerini de aktive etmektedir (Wassarman, 2013). Memelilerde, döllenmeye hazır tam olgunlaşmış oositlerin her biri, zona pellucida ile ve zona pellucida ise kümülüs-oosit kompleksi ile çevrilidir. Spermatozoa aktif kamçı itme hareketi yardımıyla zona pellucidaya girdiğinde AR başlar (Dan, 1952). Döllenme için gerekli olan bu olay spermatozoonun ZP'den geçerek oosit oolemasıyla kaynaşmasını sağlar.

3. Kriyoprezervasyon

Spermanın dondurularak saklanması, fertilité programları için güçlü bir tekniktir. Farklı canlı türlerinde spermatozoonun dondurularak saklanması etkinliğini arttırmak için çeşitli teknik girişimlerde bulunulmuştur. Bununla birlikte, memeli spermatozoasının, kriyoprezervasyon işlemlerinin neden olduğu kriyo-hasara karşı hassas olduğu iyi bilinmektedir. Kriyoprezervasyonun neden olduğu moleküler değişikliklerin araştırılmasına, çeşitli dondurulabilirlik belirteçlerinin ve spermin kriyo-hayatta kalmasını iyileştirmek için kriyoprezervasyondan önce sperma seyrelticilerine eklenebilecek spesifik proteinlerin tanımlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle kriyo-yaralanma mekanizmasının iyice anlaşılması mevcut spermatozoa kriyoprezervasyon işlemlerinin optimizasyonu için gereklidir. Son zamanlarda, kriyoprezervasyonun sperm üzerindeki etkilerini incelemek için sperm kriyobiolojisinde yeni ortaya çıkan çeşitli OMICS teknolojileri, özellikle proteomik ve transkriptomik teknoloji alanında çalışmalar yürütülmektedir (Khan & ark., 2021).

Spermanın dondurularak saklanmasına ilişkin ilk çalışma, Lazaro Spallanzani (1776)'nin spermatozoayı karda soğutarak

korumaya çalışmasına dayanmaktadır (Royere & ark., 1996). Polge'nin gliserolün kriyoprotektan özelliklerini bulmasıyla bu alanda önemli ölçüde bilimsel ilerleme sağlanmış (Polge, Smith & Parkes, 1949) ve bu gelişme fertilitenin korunması alanında bir dönüm noktası olmuştur. Bu gelişmeden sonra farklı türlerdeki spermanın dondurularak saklanmasına yönelik tekniklerde de ilerlemeler kaydedilmiştir. Dondurularak saklanan spermlerden üretilen en erken yavrular 1951 (inek), 1953 (insan), 1957 (domuz, at) ve 1967 (koyun) yıllarında rapor edilmiştir (Curry, 2000). Sperm kriyobankaları 1960'lı yıllarda sığırlar için, 1970'li yıllarda ise insanlar için geliştirilmiştir (Sanger, Olson & Sherman, 1992). Spermatozoanın dondurularak saklanması, fertilitenin korunmasına yönelik bir yol olarak 1960'larda tanıtıldı. Bu alanda kaydedilen kapsamlı ilerlemeye rağmen, kriyoprezervasyonda yer alan biyolojik ve biyokimyasal mekanizmalar bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır. Dondurma işlemi sırasında çeşitli faktörler, ani ısı değişiklikleri, buz kristali oluşumu ve ozmotik stres gibi faktörler dondurma çözülme sonrası sperm kalitesinin düşük olmasının nedenleri arasında sayılabilir. Günümüzde hayvanların suni tohumlamasında ve insan destekli üreme teknolojisinde rutin olarak dondurularak saklanan spermatozoa kullanılmaktadır (Kopeika, Thornhill & Khalaf, 2015). Hayvanlarda suni tohumlama, istenen genetik kaliteye sahip bir erkekten elde edilen dondurulmuş-zlmş sperma kullanarak selektif dişileri dölleme sonucunda genetik iyileşme oranını yönetmek veya hızlandırmak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Comizzoli, 2015). Bununla birlikte, sperm kriyobiyoolojisindeki sayısız başarıya rağmen, kriyoprezervasyondan sonra canlı spermatozoayı en iyi şekilde geri kazanabilecek yöntemlerin araştırılması devam etmektedir.

Spermanın kriyoprezervasyonu, genetik olarak üstün özelliğe sahip olan hayvanların, ilgili transgenik soyların ve nesli tükenme tehlikesi bulunan memeli türlerinin uzun süreli sperm korunması için popüler bir uygulamadır (Bailey, Morrier & Cormier, 2003). Ayrıca, kriyoprezervasyon tekniği genetik çeşitliliğin geniş bir alana yayılmasına yardımcı olmakta ve suni tohumlama ve tüp

bebek gibi üreme teknolojilerinin dünya çapına yayılmasında büyük katkı sağlamaktadır (Kumar & ark., 2019). Kriyoprezervasyon, donma-çözülme kalite parametrelerini etkileyerek spermin normal fizyolojisi üzerinde zararlı bir etki yaparak spermin hasara uğrayıp ölümüne yol açan değişikliklere neden olabilir (Bailey, Bilodeau & Cormier, 2000). Canlı türleri arasında spermin boyutu, şekli ve lipit-protein içeriği konusundaki farklılıklar, kriyoprezervasyon yöntemlerinin tüm türlerde yeterince etkili olmadığını göstermektedir (Lv & ark., 2018). Araştırmalar sonucunda boğa, koç ve yaban domuzu gibi hayvanların insan, tavşan, kedi ve köpeğe kıyasla kriyo-duyarlı sperma ürettiği belirlenmiştir (Grötter & ark., 2019). Türler arası değişkenlik, donma-çözülme oranları, sperm sulandırıcıların veya kriyo-koruyucuların çeşidi, spermatozoanın kökeni (epididimal veya ejakülat), mevsimsel dalgalanmalar ve bireyler arası farklılıklar gibi kriyoprezervasyon yönteminin başarısını etkileyen birçok değişken vardır (Lemma, 2011).

1937 yılında gliserol, soğutma (-21°C) aşamasında boğa, koç, aygır, domuz ve tavşan spermaları için dondurma ortamı olarak kullanılmış ve iyi bir kriyo-koruyucu etki, 0,5-2M arasındaki gliserol konsantrasyonlarından elde edilmiştir (Isachenko & ark., 2003). Yaklaşık 10 yıl sonra yapılan araştırmalar sonucunda gliserolün dondurulmuş kümes hayvanı sperması üzerindeki olumlu etkileri daha da doğrulanmıştır (Polge, Smith & Parkes, 1949). Ancak gliserol, protein denatürasyonu, aktin etkileşimiyle değişim ve kriyoprezervasyon sırasında plazma membran kırılabilirliğinin indüklenmesiyle spermde toksisiteye neden olmaktadır (Polge, Smith & Parkes, 1949, Watson, 1995). 1950'lerde, spermin -196°C'de sınırsız ve canlı olarak muhafaza edilebilmesi amacıyla dondurucu ortam olarak kuru buzun yerini sıvı nitrojen almıştır. Kuru buz, sperm hücrelerinin metabolik aktivitelerini tamamen durduramazken (Foote, 2002) sıvı nitrojenle saklama ise donmuş sperm hücrelerine zarar vermeden uzun bir saklama ortamı sunar (Benson & ark., 2012, Li & ark., 2018).

İnsan ve hayvan spermlerinin dondurularak saklanması için birçok teknik mevcuttur. Son yıllarda sperm dondurma teknolojisine çeşitli prosedürler eklenmiştir (Sharma & ark., 2015).

3.1. Geleneksel kriyoprezervasyon yöntemi

Yavaş dondurma, hızlı dondurma ve vitrifikasyon olarak 3 şekilde uygulanabilmektedir.

Yavaş dondurma, hızlı dondurma ve ultra hızlı dondurma (yani kinetik vitrifikasyon) geleneksel kriyoprezervasyon yöntemleridir. Yavaş dondurma, sperm hücrelerinin programlanabilir bir makine kullanılarak manuel veya otomatik olarak iki veya üç adımda 2-4 saatlik bir süre boyunca aşamalı olarak soğutulduğu bir yöntemdir (Di Santo & ark., 2012).

Hızlı dondurma tekniğinde, spermatozoa bir kriyoprotektan ile karıştırılır ve süspansiyon bir pipet içerisine yüklenir ve daha sonra sıvı nitrojene daldırılmadan önce en az 10 dakika boyunca sıvı nitrojen buharına maruz bırakılır (Di Santo & ark., 2012). Çeşitli çalışmalarda, yavaş ve hızlı dondurma yöntemleri karşılaştırılmıştır (Vutyavanich, Piromlertamorn & Nunta, 2010). Hızlı dondurmada yavaş dondurmaya göre önemli ölçüde daha yüksek oranda kromatin bozulması rapor edilmiştir (Hammadeh & ark., 2001).

Vitrifikasyon, geçirgen kriyoprotektanlar kullanılmadan insan spermatozoasının saklanması için kullanılan alternatif bir yöntemdir. Bu yöntemde, sperm süspansiyonu doğrudan sıvı nitrojene daldırılır ve sperm hücreleri, kinetik vitrifikasyon olarak bilinen ultra hızlı bir şekilde soğutulur (Isachenko & ark., 2003).

3.2. Kriyoprezervasyonun dondurulmuş çözdürülmüş sperma üzerindeki etkisi

Spermatozoanın kriyo-hayatta kalmasını arttırmak için kriyoprezervasyon sırasında belirli proteinlerin, antioksidanların ve kriyo-koruyucu ajanların dondurma ortamına entegre edilmesiyle modern kriyoprezervasyon teknikleri geliştirilmiştir (Hezavehei & ark., 2018). Spermatozoanın donma-çözülme direnci, boyutu, şekli

ve lipid içeriği gibi fiziksel özelliklerine göre değişim göstermektedir. Bu sebeple farklı hayvan türlerinde standart bir dondurma tekniği oluşturmak oldukça zordur (Khan & ark., 2021).

Kriyoprezervasyon tekniği spermde; ultrastrüktürel yapı hasarı, oksidatif ve ozmotik stres, lipid ve protein konfigürasyonu, motilite ve canlılıkta azalma, mitokondri ve spermatozoa kuyruğunda hasar, DNA kondensasyonu gibi çeşitli şekillerde hasarlara sebep olur (Bailey, Bilodeau & Cormier, 2000). Spermatozoon yapısında bulunan plazma membranı, mitokondriyal membran ve akrozomal membran özellikle kriyoprezervasyon sonrasında spermin canlılığını sağlamak için sağlam kalması gereken fizyolojik bariyerler olarak görev yaparlar (Benson & ark., 2012). Kriyoprezervasyon, mitokondride bir takım yapısal hasar oluşturarak, ATP üretimindeki biyokimyasal süreçleri değiştirerek spermatozoanın dondurma-çözülme sonrası canlılığı ve motilitesinde azalmaya neden olmaktadır (Khan & ark., 2021).

3.3. Dondurularak çözündürülmüş spermatozoanın yapısal ve moleküler bütünlüğü

Spermatozoanın plazma membranı, sperm-oosit füzyonundan sorumlu reseptörleri bulundurduğundan erkek ve dişi germ hücreleri için hayati bir rol oynamakta olup iç ve dış ortam arasındaki orta çizgi konumundadır (Graham & Moce, 2005). Dişi genital kanalda spermatozoanın hayatta kalabilmesi için sağlam membran bütünlüğüne sahip olması gerekmektedir. Membran yapısındaki değişiklikler, lipidlerin düzensizliğiyle ilgili olabilir ve bu durum da oksidatif strese neden olabilir (Karunakaran & Devanathan, 2017). Plazma zarında doymamış yağ asidi oranının yüksek olması, spermatozoayı kriyoprezervasyona bağlı hasara ve peroksidasyona karşı daha duyarlı hale getirir (Halliwell & Gutteridge, 1984). Donma-çözülme sırasında plazma zarı ve akrozom zarları kriyo-ortama daha fazla maruz kaldıklarından ultrastrüktürel olarak biyokimyasal ve fonksiyonel değişimlere uğrarlar. Bu değişiklikler dişi üreme kanalında spermatozoanın

motilitesini engelleyerek hayvan türlerinde fertilitiyi azaltır (Maxwell, 2000).

Kriyoprezervasyon, akrozomal membranı etkileyerek akrozomunun yapısal ve işlevsel bütünlüğüne zarar verme sonucu spermatozoanın canlılığını ve kalitesini etkileyebilir ve zona pellusidaya nüfuz etme yeteneğini azaltabilir (Wassarman, 1999). Spermin dondurulup çözülmesi, memeli spermatozoasında kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi değişikliklerin aniden oluşmasına sebep olur (Bailey, Bilodeau & Cormier, 2000, Bailey, Morrier & Cormier, 2003). Akrozomal reaksiyon spermin fertilizasyona ulaşması için gereklidir. Dolayısıyla sperm hücresi kapasitasyon, akrozomal reaksiyon, düzenli fertilizasyon ve erken embriyonik gelişime göre değerlendirilir (Maduro & ark., 2003).

Spermatozoa DNA bütünlüğü, genetik materyali koruduğu ve babalık özelliklerini yavrulara aktardığından çok önemlidir. Hasarlı DNA'nın memelilerde döllenme, embriyogenez ve sağlıklı canlı doğum oranına zarar verebileceği belirtilmiştir (Ron-El & ark., 1991). Spermatozoa DNA parçalanması, DNA sarma sırasında ya da sonrasında oluşan tek ve çift sarmallı DNA kırılmaları ile karakterize edilir; bu kırılmalar DNA tamir mekanizmasından kaçarak olgun spermatozoaya aktarılabilir. Anormal spermatozoa kromatin paketlenmesi, oksidatif stres ve abortif apoptoz, DNA iplikçiklerinin kırılmasına yol açan etiyolojik faktörlerdir (Tarlatis & Goulis, 2010, Shamsi, Imam & Dada, 2011). Kriyoprezervasyon olayı spermatozoa DNA bütünlüğüne zarar verebilir, sperm fonksiyonel potansiyelini ve fetal gelişimin başarısını etkileyebilir (Silva & Gadella, 2006, Khan & ark., 2021).

3.4. Kriyoprezervasyon yönteminde spermatozoa kriyohasasının mekanizması

Spermatozoa kriyoprezervasyon işlemi sırasında; buz oluşumu, kimyasal toksisite ve oksidatif stresin neden olduğu çeşitli değişimlere dayanmalıdır; bu etkenler esas olarak sitoplazma membranına zarar verir ve sonuç olarak çözülme sonrası kalite ve fertilitenin düşmesine neden olmaktadır (Watson, 1995). Memeli

hücrelerindeki kriyo-hasarları temelde buz kristali oluşumu ve kimyasal toksisiteden kaynaklanmaktadır. Ancak spermatozoa hücreleri diğer somatik hücrelerden daha düşük su içeriği ve daha yüksek protein konsantrasyonuna sahiptirler. Spermatozoadaki su içeriği yaklaşık %60'tır ve tipik somatik hücrelerinkinden (>%80) düşüktür (Kleinhans & ark., 1992).

4. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Serbest radikaller olarak bilinen ROS, oksijen metabolizmasının bir yan ürünü olarak oluşmaktadır. Bunların etkisi katalaz yada glutatyon peroksidaz gibi enzimler veya albümin, glutatyon ve hipotaurin gibi enzimatik olmayan antioksidanların yanı sıra C ve E vitaminleri tarafından yok edilebilirler. Kritik sperm fonksiyonlarının başlatılması için az miktarlarda ROS gereklidir. Razavi ve ark. (2019) ılımlı düzeylerdeki ROS'ların spermatozoonların kapasitasyonu, akrozomal reaksiyonları gibi hücrelerin fizyolojik işlevleri için gerekli olduğunu tespit etmişlerdir. Sperm bu maddeleri çok az miktarda üretir ve sperm kapasitesinin başlatılması, sperm olgunlaşmasının düzenlenmesi ve hücresel sinyal yollarının güçlendirilmesi gibi bir takım yararlı işlevsel etkileri bulunmaktadır (Ford & ark., 1959). Ayrıca, ROS sperm kromatininin yoğunlaşmasında rol oynar, apoptozu veya spermatogonya proliferasyonunu indükleyerek germ hücrelerinin sayısını düzenler (Aitken, 1999). Öte yandan, yüksek ROS seviyesi, oksidatif stres olarak bilinen ve biyokimyasal veya fizyolojik anormalliklere ve ardından hücresel fonksiyon bozukluğuna veya hücre ölümüne sebep olabilir. İnfertil erkeklerin %25'inin sperminde önemli düzeyde ROS saptanabilirken, fertil erkeklerde saptanabilir düzeyde ROS bulunmamaktadır (Aitken, Irvine & Wu, 1991).

Yüksek ROS seviyeleri DNA hasarının başlatılması, lipid peroksidasyonu, membran bütünlüğünün kaybı, artan membran geçirgenliği, hücresel enzimlerin inaktivasyonu ve hücre apoptozu yoluyla sperm fonksiyonu üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir (Henkel & Schill, 1998, Schuppe & ark., 2008) ve neticesinde

infertiliteye yol açabilir (Hull & ark., 1985). Oksidasyondan kaynaklanan DNA hasarı kromozom kırılması ile mutasyonlara sebep olur (Poulsen, Prieme & Loft, 1998). Tek zincirli lezyonlar ve özellikle DNA çift zincirli kırıkları en genotoksik ve onarılamaz lezyonlardır (Brochier & Langley, 2013). Sperm DNA bütünlüğünün osmotik strese karşı artan duyarlılığa yanıt olarak geriye döndürülemez şekilde tehlikeye girebileceği ifade edilmiştir (Simoes & ark., 2013).

4.1. ROS kaynakları

Sperm hücrelerinde ROS oluşumunun iki önemli yeri mitokondri ve sperm plazma membranıdır (Marchetti & ark., 2002). Sperm hücrelerinin orta kısmında, hareketlilikleri için enerji sağlayan çok sayıda mitokondri bulunur. Mitokondriyal işlev bozukluğu ROS üretimiyle ilişkilidir ve ROS, spermatozoadaki mitokondriyal bütünlüğü etkileyebilir, bu karşılıklı bir döngüdür; ROS, mitokondriyal zar da hasara ve hasarlı mitokondriyal zar da ROS üretiminde artışa neden olur (Sanocka-Maciejewska & Kurpisz, 2004).

Seminal lökositler ve immature özelliğe sahip olan anormal spermatozoa ROS oluşumunun ana kaynağıdır (Aitken & Baker, 1995). Farklı sperm anomalileri arasında, olgunlaşmamış ve işlevsel olarak geri olan (Dooher, 1981) sitoplazmik damlacıklı spermatozoa ROS üretiminde en önemlisidir (Zini & ark., 2000).

4.2. ROS türleri

ROS, oksijen radikalleri [hidroksil radikali (OH), hiperoksil radikali (HOO), nitrik oksit radikali ve süperoksit anyon radikali (O_2^-)] ve radikal olmayan türevler [hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksinitrit anyon ve hipokloröz asit (HOCl)] olarak ikiye ayrılır (Darley-Usmar, Wiseman & Halliwell, 1995).

4.3. ROS'un erkek üreme sistemindeki fizyolojik rolü

Spermatozoanın oositleri dölleme yeteneği kazanması (Agarwal, Saleh & Bedaiwy, 2003), kapasitasyon, hiperaktivasyon,

hareketlilik, akrozom reaksiyonu ve dölleme faaliyetleri için az miktarda ROS'a ihtiyaç duyduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (De Lamirande & Gagnon, 1993). Ek olarak, ROS, spermatozoadaki birkaç faktörle birlikte daha sonra protein Kinaz A'yı aktive eden ve sperm hareketliliğinde artışa veya hiperaktivasyona yol açan cAMP düzeylerinde artışa neden olur. Ayrıca, kapasitasyonun bir sonucu olarak akrozom membranı kararsız hale gelir, daha sonra akrozomal reaksiyon sırasında akrosin gibi çeşitli hidrolitik enzimler salınır ve spermin oosite bağlanmasına izin verir (Visconti & ark., 1995). ROS'un spermatozoadaki nükleer olgunlaşmanın düzenlenmesinde de rol aldığı ifade edilmiştir (Aitken & Vernet, 1997). Buna göre;

- Sperm ve spermiyogenezin kritik fazları, aşağıda sunulduğu şekilde çeşitli nedenlerle ROS kaynaklı hasarlara karşı özellikle hassastır;
- Sperm kromatin yoğunlaşma dönemi çok hassastır,
- Sperm hücrelerinin DNA onarım mekanizmaları yoktur,
- Sperm plazma zarı yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri içerir,
- Spermiler, özellikle epididimisten geçiş sırasında ROS üretir,
- Spermiler düşük düzeyde sitoplazmik antioksidan enzimlere sahiptir (antioksidan enzimlerin çoğu spermiyogeneze kaybolur)
- Spermiler, hem erkek hem de dişi genital kanalda izole hücre olarak uzun süre geçirirler (Lewis & Aitken, 2005).

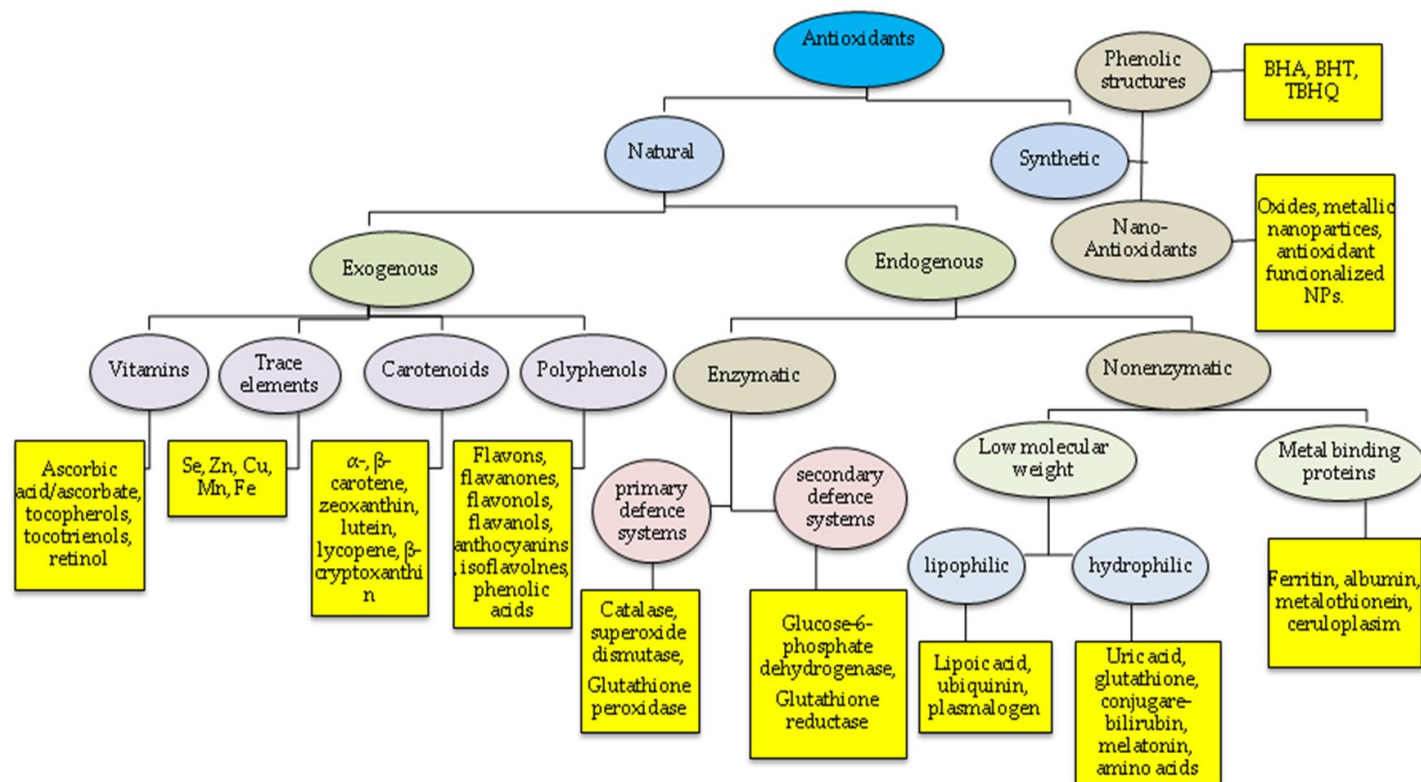
4.4. ROS tespiti

Spermde ROS, spermin redoksa duyarlı, ışık yayan bir proba (örn. luminol) inkübasyonu ve ışık emisyonunun bir ışık ölçer (luminometre) ile zaman içindeki ölçümüyle yapılır (Marchetti & ark., 2002). ROS'u ölçmek için kullanılan 3 yöntem vardır (Sikka, Rajasekaran & Hellstrom, 2008):

1. Nitroblue Tetrazolyum (NBT) veya Sitokrom C-Fe₃ komplekslerini içeren ve hücre zarı yüzeyinde ROS'u ölçen reaksiyonlar
2. Luminol kaynaklı kemilüminesans kullanarak ROS (intraselüler veya ekstraselüler) ölçümü
3. Hücre içinde üretilen ROS türünü belirleyebilen ve daha hassas olan elektron spin rezonans yöntemi

5. Antioksidanlar

Antioksidan maddeler hücrelerin fizyolojik işleyişinin doğal bir yan ürünü olarak ortaya çıkan reaktif oksijen türlerini (ROS) onararak ya da nötralize ederek, onların hücrelerde lipid, protein ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı oluşturmalarını önlerler (Rizzo & ark., 2012). Antioksidanlar; doğal ve sentetik antioksidan sistemleri olarak ikiye ayrılır (**Şekil 1**) (Flieger & ark., 2021). Glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz doğal olarak sperm veya seminal plazmada bulunur ve prostattan geldiği düşünülmektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlar vücuda gıda ile (diyet takviyeleri dahil) verilen birçok bileşikten oluşur. Antioksidan maddeler vücutta endojen olarak veya dışarıdan eksojen yolla temin edilirler. Glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidanlar endojen olarak sentezlenebilirken (Mironczuk-Chodakowska, Witkowska & Zujko, 2018) karotenoidler, E vitamini, C vitamini, bakır, demir, mangan, çinko ve selenyum gibi eksojen antioksidanlar ise sentetik olarak ya da diyetlerle dışarıdan alınmalıdır (Sen & Chakraborty, 2011).



Şekil 1. Antioksidanların sınıflandırılması (Flieger & ark., 2021).

Erkek üreme sisteminde ROS üretimi ile antioksidan aktivitesi arasında bir denge bulunmaktadır. ROS'un aşırı üretimi sperm veya seminal plazmanın antioksidan savunma mekanizmalarını etkileyerek oksidatif strese neden olabilir (Agarwal, Saleh & Bedaiwy, 2003). Vücut, kendini oksidatif hasardan korumak için oksijen kaynaklı radikalleri temizleyen ve üretimini en aza indiren kendi antioksidan savunma sistemini geliştirmiştir (Halliwell, 1994). Aslında, serbest radikallerin seviyesi patolojik olarak arttığında, antioksidan aktivite ROS kaynaklı oksidatif hasarı önlemek için aktive olur (Dröge, 2002).

Seminal plazmanın başlıca antioksidan rolü vardır. Seminal plazma, spermatozoayı oksidatif hasardan korumak için endojen antioksidana sahiptir (Fraga & ark., 1991). Seminal plazma ayrıca spermatozoayı, spermada bulunan enzimatik olmayan antioksidanlar aracılığıyla olgunlaşmamış sperm hücreleri ve lökositler tarafından üretilen ROS'tan korur (Lanzafame & ark., 2009). Ancak spermatozoa minimum antioksidan enzimlere sahiptir. Ayrıca spermdeki antioksidan enzimler kuyruk ve akrozom membranlarının lipid peroksidasyonundan korunmasını sağlayamazlar bu sebeple sperm hücrelerinin ekstra antioksidan savunma sistemine ihtiyacı bulunmaktadır (Saraswat, Kharche & Jindal, 2014). Bununla birlikte, seminal ROS seviyesi, β -merkaptotanol, protein, E vitamini, C vitamini, sisteamin, sistein, taurin ve hipotaurin gibi seminal antioksidanlar tarafından sınırlandırılır (Chen, Foote & Brockett, 1993).

Birçok sentetik antioksidan bileşik toksik ve mutajenik etkiler gösterdiklerinden dolayı bitkisel (doğal) antioksidanlar büyük öneme sahiptir. Bitkisel kaynaklı antioksidanların oksidan maddelerin reproduktif organlar üzerindeki negatif etkilerini azaltarak reproduktif parametrelerde iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Zhong & Zhou, 2013). Birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda, antioksidan içerikli bitkilerin ratlarda spermatozoon yoğunluğu, motilite ve yaşam gücü parametreleri dahilinde spermatogenezis üzerine olumlu etkileri bulunduğu belirtilmiştir (Khaki & ark., 2009, Javadi & ark., 2011).

5.1. Enzimatik antioksidanlar

Epididimal kanalda bulunan spermatozoa, kaputtan kauda'ya doğru geerirken oldukça karmaşık olan bir olgunlaşma sürecinden geçerek akrozomal reaksiyona girer. Epididimal spermatozoalar, bu kompleks olgunlaşma sürecini bozabilecek etkenlere karşı uygun şekilde korunmalıdır (Nolan & Hammerstedt, 1997). Hem sperm hücrelerinde (Alvarez & Storey, 1989, Bauche, Fouchard & Je'gou, 1994) hem de epididimal sıvıda (Hinton & ark., 1995) koruyucu mekanizmalar bulunmaktadır. Epididimal spermatozoada, H_2O_2 ve diğerk tehlikeli ROS ürünlerine karşı koyabilen ve onları uzaklaştıran Glutasyon peroksidaz (GPx) (Alvarez & Storey, 1989, Bauche, Fouchard & Je'gou, 1994), glutasyon redüktaz (GR) (Bauche, Fouchard & Je'gou, 1994) ve süperoksit dismutaz (SOD) (Bauche, Fouchard & Je'gou, 1994, Alvarez & ark., 1987) gibi enzimleri içeren enzimatik mekanizmalar bulunmaktadır. ROS detoksifikasyonu alanında bir diğerk önemli enzim de, fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidazdır (PHGPx) (Godeas & ark., 1997).

Süperoksit anyonlarının dismutasyonu için katalizörler arasında **süperoksit dismutazlar** veya süperoksit oksidoredüktazlar bulunur. SOD, O_2 'yi kendiliğinden dismutasyona uğratarak O_2 ve H_2O_2 oluştururken, spermatozoayı kendiliğinden O_2 toksisitesine ve LPO (lipit peraoksidasyonu)'ya karşı korur. Bunların hücre içi ve hücre dışı oluşumlarının iki formu tanımlanmıştır. Hücre içi formlardan ikisi, esas olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezde bakır ve çinko elementleri (Cu, ZnSOD, SOD-1) içeren bakır-inko SOD ve esas olarak mitokondriyal matrikste bulunan ve aktif merkezde manganez bulunan (MnSOD, SOD-2) SOD manganezdir. Hücre dışı boşlukta bulunan SOD'nin hücre dışı formu (EC-SOD, SOD-3), yapısal olarak SOD-2'ye benzer, ancak manganez yerine aktif merkezinde çinko ve bakır bulunur (Fraczek & Kurpisz, 2005, Galecka & ark., 2008). SOD, semen plazmasında oldukça aktiftir, aktivitesinin %75'i SOD-1 aktivitesiyle ve kalan %25'i SOD-3 ile ilgilidir. Bu iki izoenzimin muhtemelen prostattan

kaynaklandığı ifade edilmiştir (Peeker, Abramsson & Marklund, 1997).

Katalaz (CT), hidrojen peroksitin (H_2O_2) moleküler oksijen (O_2) ve suya (H_2O) ayrışmasını katalize eder. CT için karakteristik olan, merkezi olarak yerleşmiş bir demir atomuna sahip hem sistemidir. Aktivitesini, çeşitli hücrelerde peroksizomlarda, mitokondrilerde, endoplazmik retikulumda ve sitozolde göstermektedir (Scibior & Czczot, 2006). Ejakülatta, insan ve kemirgen sperminde ve kaynağı prostat olan sperm plazmasında bulunur (Fraczek & Kurpisz, 2005). Katalaz, hidrojen peroksitin karmaşık bir mekanizması olan nitrik oksit tarafından indüklenen sperm kapasitasyonunun aktivasyonunda da rol oynamaktadır (De Lamirande, Leclerc & Gagnon, 1997).

SOD ve katalaz ayrıca nötrofillerde NADPH oksidaz tarafından üretilen O_2 'yi uzaklaştırır ve LPO'yu azaltmada ve genitoüriner inflamasyon sırasında spermatozoayı korumada önemli bir rol oynayabilir (Alvarez & ark., 1987).

Spermin antioksidan sisteminde fosfolipitlerin peroksitleri de dahil olmak üzere hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesini katalize eden enzim **glutasyon peroksidaz** (GPX) (Fraga & ark., 1991). Aktif yerinde selenosistein formunda selenyum içeren bir antioksidan enzimdir. Sperimde esas olarak mitokondriyal matrikste bulunur (Peeker, Abramsson & Marklund, 1997), ancak OS hasarına karşı sperm DNA'sı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olan ve kromatin kondensasyonu sürecinde aktif olarak yer alan nükleer bir formu da bulunmaktadır (Pfeifer & ark., 2001). GPX semen plazmasında da bulunmaktadır, bu durum kökeninin prostattan ve süperoksit dismutaz ile katalaz enzimlerinden kaynaklandığını düşündürmektedir (Yeung & ark., 1998). GSH peroksidaz, H_2O_2 dahil olmak üzere çeşitli peroksitlerden peroksil ($ROO\cdot$) radikallerini uzaklaştırır ve sperm hareketliliğini korumada önemli bir rol oynar (Calvin, Cooper & Wallace, 1981).

Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PHGPX) ve sperm kapsül selenoprotein glutasyon peroksidaz gibi 25'ten fazla

selenoprotein mevcuttur ve bunlar spermin yapısal bütünlüğünü korumaya yardımcı olurlar (Alvarez & Storey, 1989).

Sitoplazmanın bir kısmının eksikliği nedeniyle, memeli sperm hücrelerinin antioksidan savunma yetenekleri azalır ve bu da onları oksidatif hasara karşı daha az dirençli hale getirir (Layek & ark., 2016). Bu nedenle, spermin depolanması sırasında OS'nin olumsuz etkilerini önlemek için spermde antioksidan enzimlerin varlığı son derece önemlidir.

5.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar

Sperm hücrelerini oksidatif stres (OS)'den korumada önemli rol oynayan enzimatik olmayan antioksidanlar genellikle C vitamini, E vitamini, beta karotenler, karotenoidler, flavonoidler ve pro-oksidan geçiş metal iyonlarını inaktive ederek antioksidan görevi gören albumin, ferritin ve miyogloblin gibi metal bağlayıcı proteinler formunda bulunurlar (German & ark., 2001). Yapılmış birçok çalışma, antioksidan tedavisinin spermin temel biyolojik parametreleri, gelişmiş sperm fonksiyonu, yardımcı üreme tedavisinin sonuçları ve canlı doğum oranı üzerinde yararlı etkileri olduğunu bildirmektedir (Cooper & ark., 2010).

α -Tokoferol (E Vitamini)

α -Tokoferol, esas olarak hücre zarlarında bulunan yağda çözünen organik bir bileşiktir. Hidroksil serbest radikalleri ve süperoksit anyonlarını nötralize ederek, plazma zarları düzeyinde ROS tarafından başlatılan lipid peroksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe eder. Sperm plazmasındaki E vitamini seviyesi ile ejakülattaki hareketli sperm yüzdesi arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır (Thérond & ark., 1996).

Peroksidatif hasarı inhibe edebilen enzimatik olmayan aktivite alanında, E vitamini hidrofobik alanlarda birincil öneme sahiptir ve memelilerin infertilitesinde olası terapötik kullanımıyla ilgili bol miktarda referans vardır (Suleiman & ark., 1996). Sulandırıcıya E vitamini takviyesi dondurma-çözme prosedürleri sırasında sperm hasarını azaltır ve sperm motilitesini iyileştirir (Park

& ark., 2003). Başka bir çalışmada da, E vitamini takviye edilen sperm seçme Percoll ortamının, sperm DNA'sını oksidatif hasara karşı koruduğu bildirilmiştir (Hughes & ark., 1998). Ayrıca, E vitamininin β -karoten, C vitamini, GSH (Hargreave & ark., 1984) ve selenyum gibi antioksidanlarla birleştirilmesi, infertilite sorunu yaşayan canlılarda spermatolojik profilin iyileşmesini sağlamıştır. α -tokoferol ve selenyumun eş zamanlı uygulanmasının infertil erkeklerde sperm hareketliliğini artırmaktadır (Oda & El-Maddawy, 2012).

Alfa tokoferol, sperm zarındaki reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizleyicisi olarak görev yapan, lipid peroksidasyonunun inhibitörü olarak bilinen bir maddedir (Blaner, 2013). Antioksidan E vitamini, kriyoprezervasyon sırasında lipid peroksidasyon membran hasarı riskini azaltabilir (Montemani & ark., 2017). Oral E vitamini uygulamasıyla serumda yükselen alfa-tokoferol seviyelerinin zona bağlanma testinde spermatozoa performansını iyileştirdiği bildirilmiştir (Kessopoulou & ark., 1994). Ayrıca, 6 ay boyunca E vitamini tedavisi sonucunda, spermatozoanın lipid peroksidasyonunu azalttığı ve astenozoospermik vakalarda gebelik oranını artırdığı ifade edilmiştir (Greco & ark., 2005).

Koenzim Q10

Spermin mitokondrilerinde özellikle yüksek konsantrasyonlarda bulunan ve enerji üretiminde önemli bir rol oynayan koenzim Q10 (CoQ10) süperoksit oluşumunu engelleyerek OS kaynaklı sperm işlev bozukluğuna karşı koruma sağlar (Lewin & Lavon, 1997).

Askorbik asit (C vitamini)

Bu bileşiğin sperm plazmasındaki konsantrasyonu kan serumundakinden neredeyse on kat daha yüksektir (Majzoub & Agarwal, 2017). Hidroksil, süperoksit ve peroksit radikallerini nötralize ederek endojenik oksidatif hasara karşı hücrelerde koruma sağlar (Fraga & ark., 1991, Majzoub & Agarwal, 2017). 2000 mg/gün dozunda C vitamini uygulamasından sonra toplam sperm

sayısında, hareketliliğinde ve morfolojisinde iyileşme elde edildiği rapor edilmiştir (Akmal & ark., 2006).

Karnitinler [L-karnitin (LC) ve L-asetil karnitin (Lac)]

Karnitin, epididimisteki sperm olgunlaşma sürecinde rol oynar. Karnitin genellikle karaciğer ve böbreklerde, lizin ve metiyonin aminoasitlerinden sentezlenir. Canlı hücrelerde yağların sindirimi sırasında, enerji üretimi için yağ asitlerinin sitoplazmadan mitokondriye girmesini sağlar. Vücuda giren besinlerin enerjiye çevrilmesinde önemli rol oynayan karnitin ayrıca ileri yaşlarda beyin içindeki enerji metabolizmasına ve gelişmiş sinir sistemi fonksiyonlarına katkı sağlar. L-karnitin formunda aktiftir (Malaguarnera & ark., 2007). Epididim kuyruğundaki serbest L-karnitin konsantrasyonu, kan plazmasındakinden 2.000 kat daha yüksektir. Karnitin kandan alınır ve daha sonra androjenler tarafından uyarılan aktif epitel pompaları aracılığıyla epididimise aktarılır (Stradaoli & ark., 2004). Eksikliğinde, sperm hareketliliğinde azalma şekillenir (Stradaoli & ark., 2000). Yakın zamanda, yetişkin oligospermik ratlara L-karnitin uygulanmasının, sperm parametrelerini iyileştirerek, oksidatif stresi azalttığını ve hücresel enerjiyi koruyarak busulfanın sitotoksik etkisini zayıflattığı ifade edilmiştir (Abd-Elrazek & Ahmed-Farid, 2017). 1500 mg L-karnitin içeren antioksidan takviyesinin, hücre konsantrasyonunu ve genel hareketliliği iyileştirerek infertilite sorunu olan erkeklerde sperm kalitesini artırdığı kanıtlanmıştır (Nazari & ark., 2021). Birçok çalışma karnitin takviyesi sonrasında astenozoospermik ve oligospermik hastaların sperm sayısı ve hareketliliğinde iyileşme olduğunu göstermiştir (Dehghani & ark., 2013).

N-Asetilsistein (NAC)

Dokularda sisteine dönüştürülen bir amino asit, glutatyonun öncüsü, hipokloröz asit ve hidroksil radikallerini temizleyerek OS'yi doğrudan azaltabilen bir bileşiktir (Gressier & ark., 1994). Asetilsistein, aminoasit L-Sistein'in N-Asetil türevidir ve vücutta antioksidan olan glutatyonun sentezlenmesinde öncü bir maddedir.

Bu konuda yapılan çok sayıda çalışma (in vitro), ROS üretim seviyesinde önemli bir azalma olduğunu ve NAC varlığında inkübe edilen spermin hareketliliğinde bir iyileşmenin oluştuğunu göstermiştir (Oeda & ark., 1997). Buna karşılık, Jannatifar ve ark. (2019), NAC tedavisinin hareketli sperm sayısını ve yüzdesini artırırken, anormal morfolojiye ve hasarlı DNA'ya sahip sperm hücrelerinin sayısını azalttığını kanıtlamışlardır.

Karotenoidler

Karotenoidler, membran dokusunda lipid çözünen antioksidan maddelerdir. Hücre zarı bütünlüğünü korma, spermatogenezi ve epitel hücrelerinin çoğalarak prolifer olmalarını düzenlerler. Karotenoidler (beta-karoten) ve ubikinoller singlet oksijeni söndürmede ve sperm LPO'su üzerinde zararlı etkileri olan lipit kaynaklı serbest radikalleri azaltmada rol oynayabilir (Hogarth & Griswold, 2010).

Selenyum

Selenyum, henüz iyi anlaşılmamış bir mekanizmada sperm DNA'sını OS hasarına karşı koruma yeteneği gösterir. Selenyum selenoenzimlerin ana bileşeni olduğundan, antioksidan özelliklerinin glutatyonun işlevini artırma yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Selenyum eksikliği en sık morfolojik sperm orta parçası anormallikleri ve sperm hareketliliğinin bozulması ile ilişkilendirilmiştir (Ursini & ark., 1999).

Çinko

Çinko, RNA ve DNA metabolizmasında, sinyal iletiminde, gen ifadesinde ve apoptozis düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Majzoub & Agarwal, 2017). Çinkonun sperm yapısı üzerinde önemli bir koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Astenozoospermik hastalarda çinko kullanımı oksidatif stresi, apoptozu ve spermalarının DNA parçalanmasını azaltmaktadır (Zini & ark., 2004). Son çalışmalar, sperm ortamına çinko takviye edilmesinin boğa spermini ekzojen oksidatif strese karşı koruduğunu

ve embriyo gelişimini destekleme yeteneklerini geliştirdiğini göstermiştir (Barbato & ark., 2017). Araştırmacılar, kriyoprezervasyon ortamına çinko oksit nanopartiküllerinin takviyesinin spermatozoadaki dondurma-çözdürme kaynaklı hasarı en aza indirdiğini bildirmişlerdir (Isaac & ark., 2017).

Likopen

Likopen, meyve ve sebzelerde bulunan ve doğal olarak sentezlenen bir karotenoiddir. Güçlü ROS nötralizasyon yetenekleri onu insan redoks savunma sistemine önemli bir katkıda bulunur hale getirmiştir (Kelkel & ark., 2011, Majzoub & Agarwal, 2017). Tvrdá ve ark. (2016), likopenin oksidatif stresin neden olduğu sperm lezyonlarını önleyebilecek ve erkek üreme hücrelerinin işlevselliğini koruyabilecek önemli ROS temizleme ve antioksidan özellikler gösterdiğini ifade etmişlerdir.

Pentoksifilin

Pentoksifilin, okspentifilin olarak da bilinir, periferik arter hastalığı olan kişilerde kas ağrısını tedavi etmek için ilaç olarak kullanılan bir ksantin türevidir (Broderick & ark., 2020). Pentoksifilin (Ptx) 5'nükleotidaz enzimini inhibe ederek dokuda ATP kaybını azaltır, iskemi dönemi ve sonrasında ise doku enerji tüketimini minimumda tutarak hücre hasarını engellemektedir. Bir sperm hareketliliği uyarıcısı olan pentoksifilin, hem ROS'un bir baskılayıcısı hem de temizleyicisi olarak fonksiyon yapabilmektedir (Sikka, Hellstrom & Naz, 1993).

Antioksidanların erkek fertilitesi üzerine etkileri

Antioksidanların reproduktif sistem üzerine pozitif etkilerinin steroid üretimini artırmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. Testislerde spermatogenezis olayı sırasında spermatozoon proliferasyonu çok hızlı olduğundan, mitokondrial oksijen tüketiminin artması ROS üretimini ve antioksidan kullanımını artırmaktadır (Aitken & Roman, 2008).

Aşırı miktarda reaktif oksijen türü (ROS) üretildiğinde veya antioksidan aktivite başarısız olduğunda, oksidasyon ve redüksiyon arasındaki denge bozulur ve OS'ye neden olur. Sperm hücrelerinin optimum işleyişini sürdürebilmesi için, redoks potansiyelini dengelemek, yani antioksidanlarla ROS'u dengelemek gerekir (Aitken & ark., 1989). Seminal sıvı maddeler bakımından zengindir ve aynı zamanda sperm için besleyici ve koruyucu işlevler görür.

Spermatozoonların hücre zarları fazla miktarda doymamış yağ asidi içerir ve sitoplazmalarında ROS'u nötralize edebilen enzimlerin oranı çok düşüktür (Walczak–Jedrzejska, Wolski & Slowikowska–Hilczer, 2013). Bu nedenle spermatozoonlar ROS'ların oksidatif hasarına karşı savunmasızdır (Zhang & ark., 2020). Ayrıca erkek üreme sisteminde çok önemli görevleri olan Leydig hücreleri oksidan maddelere karşı oldukça hassastır. Antioksidan kullanımının Leydig hücrelerinin stereojenik aktivitelerini artırarak testosteron üretimini iyileştirdiği tespit edilmiştir (Aitken & Roman, 2008). Ayrıca antioksidan madde takviyesi spermatogenezisi stimüle etmektedir (Javadi & ark., 2011).

6. Sonuç

Normal koşullarda erkek üreme sistemi ROS üretimi ve antioksidan aktivite arasında bir dengeye sahiptir. Ancak, spermde ROS'un aşırı üretimi sperm veya seminal plazma antioksidan savunma mekanizmalarını etkileyerek oksidatif strese neden olabilir. Antioksidan tedavisinin oksidatif stresleri azaltarak sperm kalitesini ve erkek fertilitasını iyileştirebileceği genel olarak kabul edilmektedir. Antioksidan tedaviler, ROS dengesizliği riski taşıyan hastaların yönetiminde potansiyel bir önleyici ve tedavi edici alternatif bir yöntemdir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresin birçok üreme bozukluğunun oluşumuna neden olabileceğini ve doğrudan infertilite ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Antioksidan savunma sistemi spermde aktif olmasına rağmen, sperm sitoplazmasının düşük miktarı nedeniyle aktivitesi sınırlıdır; bu nedenle bilim insanları hala hücrelerin doğal antioksidan savunma

sistemini destekleyebilecek maddeleri aramak için çaba göstermektedir. ROS'un spermatolojik analizlerde ve sperm konsantrasyonunda anormalliklere neden olduğu belirtilmiş olup ROS erkeklerde infertiliteye neden olabilmektedir.

Spermin epigenetik ve proteomik modülasyonu ve sperm dondurmanın nesiller arası etkileri gibi sperm kriyobiyolojisinin yeni yönleri hakkında çok az şey bilinmektedir. Kriyoprezervasyon sırasında spermatozoanın moleküler ve hücresel modifikasyonlarına ilişkin gelişmeler gözden geçirilerek; spermin kriyo hasarına karşı korunması için geliştirilen güncel dondurma teknikleri ve yeni stratejilerin tartışılması, ayrıca sperm dondurmanın yavru sağlığı üzerindeki olası etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Spermin kriyoprezervasyonu, yardımcı üreme tekniklerinde fertilité yönetiminin önemli bir aşamasıdır. Hücresel bileşenlerin dondurulma sonucunda hasar görmesi, sperm disfonksiyonuna neden olabilir. Kriyoprezervasyon işleminde yer alan hücresel ve moleküler modifikasyonların anlaşılması, sperm dondurmanın optimizasyonu için faydalı olabilir. Tüm genom dizilimi ve proteomik, kriyo-yaralanma mekanizması hakkında aydınlatıcı tamamlayıcı bilgiler sağlayabilecek ve kriyo-korunmuş spermatozoanın ve ilgili ART prosedürlerinin etkinliğini artıracak güçlü teknolojik ilerlemelerdir. Proteinlerin ve RNA'nın çözülme sonrası üretimi, kriyoprezervasyondan sonra değişebileceğinden, bunların değerlendirilmesi gelecekte kriyostresi gösteren biyo-markerlar olarak yararlı olabilir. Dondurularak saklanan sperma, üremeye yardımcı olmak için yıllardır etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

7. Kaynaklar

Abd-Elrazek, A. M. & Ahmed-Farid, O. A. H. (2017) Protective effect of L-carnitine and L-arginine against busulfan-induced oligospermia in adult rat. *Andrologia*, 50(1):e12806.

Agarwal, A., Saleh, R. A. & Bedaiwy, M. A. (2003) Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79:829–843.

Aitken, R. J. & Baker, H. G. (1995) Andrology: Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good Samaritans? *Hum Reprod*, 10:1736–1739.

Aitken, R. J., Clarkson, J. S., Hargreave, T. B., Irvine, D. S. & Wu, F. C. (1989) Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. *J Androl*, 10:214–20.

Aitken, R. J., Irvine, D. S. & Wu, F. C. (1991) Prospective analysis of sperm-oocyte fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. *Am J Obstet Gynecol*, 164:542–51.

Aitken, R. J. & Vernet, P. (1997) Maturation of redox regulatory mechanisms in the epididymis. *J Reprod Fertil*, 53:109–118.

Aitken, R. J. (1999) The Amoroso Lecture. The human spermatozoon—a cell in crisis? *J Reprod Fertil*, 115:1–7.

Aitken, R. J. & Roman, S. D. (2008) Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Omcl*, 1, 15-24.

Aitken, R. J. (2020) Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*, 159, 189-201.

Akmal, M. & at al. (2006) Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C. *J Med Food*, 9(3):440–442.

Alvarez, J. G. & Storey, B. T. (1989) Role of glutathione peroxidase in protecting mammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipid peroxidation. *Gamete Res*, 23:77–90.

Alvarez, J. G., Touchstone, J. C., Blasco, L. & Storey, B. T. (1987) Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa: superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *JAndrol*, 8:338-348.

Bailey, J. L., Bilodeau, J. F. & Cormier, N. (2000) Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *J Androl*, 21:1–7.

Bailey, J., Morrier, A. & Cormier, N. (2003) Semen cryopreservation: successes and persistent problems in farm species. *Can J Anim Sci*, 83:393–401.

Barbato, V., Talevi, R., Braun, S., Merolla, A., Sudhakaran, S. & et al. (2017) Supplementation of sperm media with zinc, D-aspartate and co-enzyme Q10 protects bull sperm against exogenous oxidative stress and improves their ability to support embryo development. *Zygote; Cambridge*, 25(2):168–75.

Bauche`, F., Fouchard, M. H. & Je'gou, B. (1994) Antioxidant systems in rat testicular cells. *FEBS Lett*, 349:392–396.

Benson, J. D., Woods, E. J., Walters, E. M. & Critser, J. K. (2012) The cryobiology of spermatozoa. *Theriogenology*, 78:1682–99.

Blaner, W. S. (2013) Vitamin E. The Enigmatic one. *J Lipid Res*, 54:2293-4.

Brochier, C. & Langley, B. (2013) Chromatin modifications associated with DNA doublestrand breaks repair as potential targets for neurological diseases. *Neurotherapeutics*, 10(4):817–30.

Broderick, C., Forster, R., Abdel-Hadi, M. & Salhiyyah, K. (2020) "Pentoxifylline for intermittent claudication". *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 10: CD005262.

Calvin, H. I., Cooper, O. W. & Wallace, E. W. (1981) Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural proteins of the mitochondrial capsule. *Gamete Res*, 4: 139-145.

Chen, Y., Foote, R. & Brockett, C. (1993) Effect of sucrose, trehalose, hypotaurine, taurine, and blood serum on survival of frozen bull sperm. *Cryobiology*, 30:423–431.

Cooper, T. G., Noonan, E., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W., Behre, H. M. & et al. (2010) World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update*, 16:231–45.

Comizzoli, P. (2015) Biobanking efforts and new advances in male fertility preservation for rare and endangered species. *Asian J. Andro*, 17: 640–645.

Curry, M. R. (2000) Cryopreservation of semen from domestic livestock. *Rev. Reprod*, 5: 46-52.

Dan, J. C. (1952) Studies on the acrosome. I. Reaction to egg-water and other stimuli. *Biol Bull*, 103: 54–66.

Darley-Usmar, V., Wiseman, H. & Halliwell, B. (1995) Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett*, 369:131–135.

De Lamirande, E. & Gagnon, C. (1993) A positive role for the superoxide anion in triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa. *Int J Androl*, 16:21–25.

De Lamirande, E., Leclerc, P. & Gagnon, C. (1997) Capacitation as a regulatory event that primes spermatozoa for the acrosome reaction and fertilization. *Mol Hum Reprod*, 3:175–94.

Dehghani, F., Hassanpour, A., Poost-pasand, A., Noorafshan, A. & Karbalay-Doust, S. (2013) Protective effects of L-carnitine and homogenized testis tissue on the testis and sperm parameters of busulfan-induced infertile male rats. *Iran J Reprod Med*, 11:693–704.

Di Santo, M., Tarozzi, N., Nadaliniw, M. & Borini, A. (2012) Human sperm cryopreservation: Update on techniques, effect on DNA integrity, and implications for art. *Adv Urol*, 854837.

Dooher, G. B. (1981) Differences in the rate of redistribution of receptors for concanavalin A in vivo and in vitro on spermatozoa

from normal mice and from sterile mice carrying different T/t locus haplotypes. *Gamete Res*, 4:105–111.

Dröge, W. (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 82:47–95.

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J. & Maciejewski, R. (2021) Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles. *Materials*, 14(15), 4135.

Foote, R. H. (2002) The history of artificial insemination: selected notes and notables. *J Anim Sci*, 80:1–10.

Ford, C. E., Jones, K. W., Miller, O. J., Mittwoch, U., Penrose, L. S., Ridler, M. & et al. (1959) The chromosomes in a patient showing both mongolism-Mongolism and the Klinefelter syndrome. *Lancet*, 1:709–10.

Fraczek, M. & Kurpisz, M. (2005) The redox system in human semen and peroxidative damage of spermatozoa. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, 59:523–34.

Fraga, C. G., Motchnik, P. A., Shigenaga, M. K., Helbock, H. J., Jacob, R. A. & Ames, B. N. (1991) Ascorbic acid protects against endogenous oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Nat Acad Sci*, 88:11003–6.

Galecka, E., Jacewicz, R., Mrowicka, M., Florkowski, A. & Galecki, P. (2008) Antioxidative enzymes – structure, properties, functions. *Pol Merkur Lekarski*, 25:266–8.

German, J. B., Traber, M. G., Rucker, R. B., Suttie, J. W., McCormick, D. B. & Machlin, L. J. (2001) *Handbook of*

vitamins. 3rd Ed. New York: Marcel Dekker. Nutrients and oxidation: Actions, transport, and metabolism of dietary antioxidants.

Godeas, C., Tramer, F., Micali, F., Soranzo, M., Sandri, G. & Panfili, E. (1997) Distribution and possible novel role of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in rat epididymal spermatozoa. *Biol Reprod*, 57(6):1502-8. doi: 10.1095/biolreprod57.6.1502.

Graham, J. K. & Moce, E. (2005) Fertility evaluation of frozen/thawed semen. *Theriogenology*, 64:492–504.

Greco, E., Iacobelli, M., Rienzi, L., Ubaldi, F., Ferrero, S. & Tesarik, J. (2005) Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *J Androl*, 26:349–353.

Gressier, B., Cabanis, A., Lebegue, S., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M. & et al. (1994) Decrease of hypochlorous acid and hydroxyl radical generated by stimulated human neutrophils: comparison in vitro of some thiol-containing drugs. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 16:9–13.

Grötter, L. G., Cattaneo, L., Estela, P., Kjelland, M. E. & Ferré, L. B. (2019) Recent advances in bovine sperm cryopreservation techniques with a focus on sperm post—thaw quality optimization. *Reprod Domest Anim*, 4:655–65.

Halliwell, B. & Gutteridge, J. M. (1984) Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet*, 1:1396–7.

Halliwell, B. (1994) Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr Rev*, 52:253–265.

Hammadeh, M.E., Dehn, C., Hippach, M., Zeginiadou, T., Stieber, M., Georg, T., Rosenbaum, P. & Schmidt, W. (2001) Comparison between computerized slow-stage and static liquid nitrogen vapour freezing methods with respect to the deleterious effect on chromatin and morphology of spermatozoa from fertile and subfertile men. *Int. J. Androl*, 24: 66–72.

Hargreave, T., Kyle, K., Baxby, K. & et al. (1984) Randomised trial of mesterolone versus vitamin C for male infertility. *Br J Urol*, 56:740–4.

Henkel, R. & Schill, W. B. (1998) Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia*, 30(1):91–7.

Hernandez-Gonzalez, E. O., Sosnik, J., Edwards, J., Acevedo, J. J., Mendoza-Lujambio, I. & at al. (2006) Sodyum ve epitel sodyum kanalları, fare sperminde kapasitasyonla ilişkili hiperpolarizasyonun düzenlenmesine katılır. *J Biol Chem*, 281 :5623–33.

Hezavehei, M., Sharafi, M., Kouchesfahani, H. M., Henkel, R., Agarwal, A., Esmacili, V. & et al. (2018) Sperm cryopreservation: a review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reprod Biomed Online*, 37:327–39.

Hinton, B. T., Palladino, M. A., Rudolph, D. & Labus, J. C. (1995) The epididymis as protector of maturing spermatozoa. *Reprod Fertil Dev*, 7:731–745.

Hogarth, C. A. & Griswold, M. D. (2010) The key role of vitamin A in spermatogenesis. *J Clin Invest*, 120:956–62.

Hughes, C. M., Lewis, S. E., McKelvey-Martin, V. J. & Thompson, W. (1998) The effects of antioxidant supplementation during percoll preparation on human sperm DNA integrity. *Hum Reprod*, 13:1240–7.

Hull, M., Glazener, C., Kelley, N., Conway, D., Foster, P., Hunton, R., Coulson, C., Lambert, P., Watt, E. & Desai, K. (1985) Population study of causes, treatment and outcome of fertility. *Br Med J*, 291:1693–7.

Isaac, A. V., Kumari, S., Nair, R., Urs, D. R., Salian, S. R., Kalthur, G., Adiga, S. K., Manikkath, J., Mutalik, S., Sachdev, D. & Pasricha, R. (2017) Supplementing zinc oxide nanoparticles to cryopreservation medium minimizes the freeze-thaw-induced damage to spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun*, 494(3-4):656–62.

Isachenko, E., Isachenko, V., Katkov, II., Dessole, S. & Nawroth, F. (2003) Vitrification of mammalian spermatozoa in the absence of cryoprotectants: from past practical difficulties to present success. *Reprod Biomed Online*, 6:191–200.

Jannatifar, R., Parivar, K., Roodbari, N. H. & et al. (2019) Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men. *Reprod Biol Endocrinol*, 17:24.

Javadi, L., Farzadi, L., Fathiazad, F. & Nouri, M. (2011) Anti-oxidative effects of citro flavonoids on spermatogenesis in rat. *Afr J Pharm Pharmacol*, 5, 721-725.

Karunakaran, M. & Devanathan, T. G. (2017) Evaluation of bull semen for fertility associated protein, in vitro characters and fertility. *J Appl Anim Res*, 45:136–44.

Kelkel, M., Schumacher, M., Dicato, M. & Diederich, M. (2011) Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radic Res*, 45:925–940.

Kessopoulou, E., Barratt, C. L. R., Powers, H. J., Sharma, K. K., Pearson, M. J. & Cooke, I. D. (1994) *Rational treatment of reactive oxygen species associated male infertility with vitamin E: a double blind, randomized, placebo controlled.*

Khaki, A., Fathi, A. F., Ahmadi, A. H. R., Rastgar, H. & Rezazadeh, S. A. (2009) Effects of danae racemosa on spermatogenesis in Rat. *J Med Plants*, 3, 87- 92.

Khan, I. M., Cao, Z., Liu, H., Khan, A., Rahman, S. U., Khan, M. Z., Sathanawongs, A. & Zhang, Y. (2021) Impact of Cryopreservation on Spermatozoa Freeze-Thawed Traits and Relevance OMICS to Assess Sperm Cryo-Tolerance in Farm Animals. *Front. Vet. Sci*, 8:609180.

Kleinhans, F. W., Travis, V. S., Du, J., Villines, P. M., Colvin, K. E. & Critser, J. K. (1992) Measurement of human sperm intracellular water volume by electron spin resonance. *J Androl*, 13:498–506.

Kopeika, J., Thornhill, A. & Khalaf, Y. (2015) The effect of cryopreservation on the genome of gametes and embryos: Principles of cryobiology and critical appraisal of the evidence. *Hum. Reprod*, 21: 209–227.

Kumar, A., Prasad, J. K., Srivastava, N. & Ghosh, S. K. (2019) Strategies to minimize various stress-related freeze–thaw damages during conventional cryopreservation of mammalian spermatozoa. *Biopreserv Biobank*, 17:603–12.

Lanzafame, F. M., La Vignera, S., Vicari, E. & Calogero, A. E. (2009) Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reprod BioMed Online*, 19:638–659.

Layek, S. S., Mohanty, T. K., Kumaresan, A. & Parks, J. E. (2016) Cryopreservation of bull semen: Evolution from egg yolk based to soybean based extenders. *Anim Reprod Sci*, 172:1–9.

Lemma, A. (2011) *Effect of Cryopreservation on Sperm Quality and Fertility, Artificial Insemination in Farm Animals*. Milad Manafi: IntechOpen.

Lewin, A. & Lavon, H. (1997) The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Mol Asp Med*, 18(Suppl):S213–9.

Lewis, S. & Aitken, R. (2005) DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell Tissue Res*, 322:33–41.

Li, J., Parrilla, I., Ortega, M. D., Martinez, E. A., Rodriguez-Martinez, H. & Roca, J. (2018) Post-thaw boar sperm motility is affected by prolonged storage of sperm in liquid nitrogen. A retrospective study. *Cryobiology*, 80:119–25.

Lv, C., Wu, G., Hong, Q. & Quan, G. (2018) Spermatozoa cryopreservation: state of art and future in small ruminants. *Biopreserv Biobank*, 17:171–82.

Maduro, M. R., Lo, K. C., Chuang, W. W. & Lamb D. J. (2003) Genes and male infertility: what can go wrong? *J Androl*, 24:485–93.

Majzoub, A. & Agarwal, A. (2017) Systematic review of antioxidant types and doses in male infertility: Benefits on semen parameters, advanced sperm function, assisted reproduction and live-birth rate. *Arab J Urol*, 16:113–124.

Malaguarnera, M., Cammalleri, L., Gargante, M. P., Vacante, M., Colonna, V. & Motta, M. (2007) L-Carnitine treatment reduces severity of physical and mental fatigue and increases cognitive functions in centenarians: a randomized and controlled clinical trial. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86(6), 1738-1744.

Marchetti, C., Obert, G., Deffosez, A., Formstecher, P. & Marchetti P. (2002) Study of mitochondrial membrane potential, reactive oxygen species, DNA fragmentation and cell viability by flow cytometry in human sperm. *Hum Reprod*, 17:1257–1265.

Maxwell, S. S. W. (2000) Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci*, 62:77–111.

Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, AM. & Zujko, M. E. (2018) Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv med sci*, 63, 68-78.

Montemani, M., Chamani, M., Sharafi, M. & Masoudi, R. (2017) Alpha-tocopherol improves Frozen-thawed Sperm Quality by Reducing Hydrogen Peroxide during Cryopreservation of Bull Semen. *Span J Agric Res*, 15:1-7.

Nazari, L., Salehpour, S., Hosseini, S. & et al. (2021) Effect of antioxidant supplementation containing L-carnitine on semen parameters: a prospective interventional study. *JBRA Assist Reprod*, 25(1):76–80.

Nolan, J. P. & Hammerstedt, R. H. (1997) Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *FASEB J*, 11:670–682.

Oda, S. S. & El-Maddawy, Z. K. (2012) Protective effect of vitamin E and selenium combination on deltamethrin-induced reproductive toxicity in male rats. *Exp Toxicol Pathol*, 64:813–9.

Oeda, T., Henkel, R., Ohmori, H. & Schill, W. B. (1997) Scavenging effect of N-acetyl-l-cysteine against reactive oxygen species in human semen: a possible therapeutic modality for male factor infertility? *Andrologia*, 29:125–131.

Park, N. C., Park, H. J., Lee, K. M. & Shin, D. G. (2003) Free radical scavenger effect of rebamipide in sperm processing and cryopreservation. *Asian J Androl*, 5:195–202.

Pecker, R., Abramsson, L. & Marklund, S. L. (1997) Superoxide dismutase isoenzymes in human seminal plasma and spermatozoa. *Mol Hum Reprod*, 3:1061–6.

Pfeifer, H., Conrad, M., Roethlein, D., Kyriakopoulos, A., Brielmeier, M., Bronkamm, G. W. & et al. (2001) Identification of a

specific sperm nucleinucleus selenoenzyme necessary for protamine thiol cross-linking during sperm maturation. *FASEB J*, 15:1236–8.

Polge, C., Smith, A. U. & Parkes, A. S. (1949) Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature*, 164:666.

Poulsen, H. E., Prieme, H. & Loft, S. (1998) Role of oxidative DNA damagenin cancer initiation and promotion. *Eur J Cancer Prev*, 7(1):9–16.

Razavi, S. R., Khadivi, F., Hashemi, F. & Bakhtiari, A. (2019) Effect of zinc on spermatogenesis and sperm chromatin condensation in bleomycin, etoposide, cisplatin treated rats. *Cell Journal*, 20, 521-526.

Rizzo, A., Roscino, M. T., Binetti, F. & Sciorsci, R. L. (2012) Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reprod Domest Anim*, 47, 344- 352.

Ron-El, R., Nachum, H., Herman, A., Golan, A., Caspi, E. & Soffer, Y. (1991) Delayed fertilization and poor embryonic development associated with impaired semen quality. *Fertil Steril*, 55:338–44.

Royere, D., Barthelemy, C., Hamamah, S. & Lansac, J. (1996) Cryopreservation of spermatozoa: a 1996 review. *Hum Reprod Update*, 2(6):553-9. doi: 10.1093/humupd/2.6.553.

Sanger, W.G., Olson, J.H. & Sherman, J.K. (1992) Semen cryobanking for men with cancer—criteria change. *Fertil. Steril*, 58: 1024–1027.

Sanocka-Maciejewska, D. & Kurpisz, M. (2004) Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod Biol Endocrinol*, 2:1–7.

Saraswat, S., Kharche, S. & Jindal, S. (2014) Impact of Reactive Oxygen Species on Spermatozoa: A Balancing Act between Beneficial and Detrimental Effects. *Iran J Appl Anim Sci*, 4:247–255.

Schuppe, H. C., Meinhardt, A., Allam, J. P., Bergmann, M., Weidner, W. & Haidl, G. (2008) Chronic orchitis: a neglected cause of male infertility? *Andrologia*, 40:84–91.

Scibior, D. & Czczot, H. (2006) Catalase: structure, properties, functions. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 60:170–80.

Sen, S. & Chakraborty, R. (2011) The role of antioxidants in human health. Oxidative stress: diagnostics, prevention and therapy. *ACS Publications*, 1, 1-37.

Shamsi, M. B., Imam, S. N. & Dada, R. (2011) Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility. *J Assist Reprod Genet*, 28:1073–85.

Sharma, R., Kattoor, A. J., Ghulmiyyah, J. & Agarwal, A. (2015) Effect of sperm storage and selection techniques on sperm parameters. *Syst Biol Reprod Med*, 61(1):1-12. doi: 10.3109/19396368.2014.976720.

Sikka, S., Rajasekaran, M. & Hellstrom, W. (2008) Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Male Infertility. *Journal of Andrology*, 16, 464-8.

Sikka, S. C., Hellstrom, W. I. G. & Naz, R. K. (1993) Pentoxifylline: role in management of male infertility/mechanisms of action. *Mol Androl*. 5:220-231.

Silva, P. F. & Gadella, B. M. (2006) Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology*, 65:958–78.

Simoes, R., Feitosa, W. B., Siqueira, A. F. P., Nichi, M., Paula-Lopes, F. F., Marques, M. G. & Assumpcao, M. E. O. (2013) Influence of bovine sperm DNA fragmentation and oxidative stress on early embryo in vitro development outcome. *Reproduction*, 146(5):433–41.

Stradaoli, G., Sylla, L., Zelli, R., Verini, S. A., Chiodi, P., Arduini, A. & Monaci, M. (2000) Seminal carnitine and acetylcarnitine content and carnitine acetyltransferase activity in young Maremmano stallions. *Anim Reprod Sci*, 64:233–245.

Stradaoli, G., Sylla, L., Zelli, R., Chiodi, P. & Monaci, M. (2004) Effect of L-carnitine administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic stallions. *Theriogenology*, 62:761-77.

Suleiman, S. A., Ali, M. E., Zaki, Z. M., el-Malik, E. M. & Nasr, M. A. (1996) Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl*, 17:530–537.

Tarlatzis, B. C. & Goulis, D. G. (2010) Sperm DNA fragmentation assessment: is it really helpful? *Gynecol Endocrinol*, 26:315–6.

Thérond, P., Auger, J., Legrand, A. & Jouannet, P. (1996) Alpha-tocopherol in human spermatozoa and seminal plasma:

relationships with motility, antioxidant enzymes and leukocytes. *Mol Hum Reprod*, 2:739–744.

Tvrđá, E., Kováčík, A., Tušimová, E. & et al. (2016) Antioxidant efficiency of lycopene on oxidative stress - induced damage in bovine spermatozoa. *J Anim Sci Biotechnol*, 7:50.

Ursini, F., Heim, S., Kiess, M., Maiorino, M., Roveri, A., Wissing, J. & et al. (1999) Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science*, 285:1393–6.

Visconti, P. E., Moore, G. D., Bailey, J. L., Leclerc, P., Connors, S. A., Pan, D. & et al. (1995) Capacitation of mouse spermatozoa II Protein tyrosine phosphorylation and capacitation are regulated by a cAMP-dependent pathway. *Development*, 121:1139–1150.

Visconti, P. E. (2009) Kinaz tasarımı yoluyla sperm kapasitasyonunun moleküler temelini anlaşılmaları. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106 :667–8.

Vutyavanich, T., Piromlertamorn, W. & Nunta, S. (2010) Rapid freezing versus slow programmable freezing of human spermatozoa. *Fertil. Steril*, 93: 1921–1928.

Walczak–Jedrejowska, R., Wolski, J. K. & Slowikowska–Hilczek, J. (2013) The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol*, 66, 60-67.

Wassarman, P. M. (1999) Mammalian fertilization. *Physiol Reprod*, 96:175–83.

Wassarman, P. M. (2013) *Fertilization, Mammalian*. Brenner's Encyclopedia of Genetics (Second Edition), 36-38.

Watson, P. F. (1995) Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev*, 7:871–91.

Yanagimachi, R. (1994) Memeli döllennesi. E., Knobil & J. D. Neil (Ed.) Üreme Fizyolojisi New York; Raven Press; 189-317.

Yeung, C. H., Cooper, T. G., De Geyter, M., De Geyter, C., Rolf, C., Kamischke, A. & Nieschlag, E. (1998) Studies on the origin of redox enzymes in seminal plasma and their relationship with results of in-vitro fertilization. *Mol Hum Reprod*, 4:835–9.

Zhang, P., Li, T., Wu, X., Nice, E. C., Huang, C. & Zhang, Y. (2020) Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med*, 14(5):583-600. doi: 10.1007/s11684-019-0729-1.

Zhong, R. Z. & Zhou, D. W. (2013) Oxidative stress and role of natural plant derived antioxidants in animal reproduction. *J Integr Agric*, 12, 1826- 1838.

Zini, A., Defreitas, G., Freeman, M., Hechter, S. & Jarvi, K. (2000) Varicocele is associated with abnormal retention of cytoplasmic droplets by human spermatozoa. *Fertil Steril*, 74:461–464.

Zini, A., Fischer, M. A., Nam, R. K. & Jarvi, K. (2004) Use of alternative and hormonal therapies in male infertility. *Urology*, 63:141–3.

BÖLÜM VI

Üreme Biyoteknolojisinde Kök Hücre Ve Organ Kullanımı

Ramazan ÖRDEK¹¹
Cengiz YILDIZ¹²

1. Giriş

Zigotun oluşumundan başlayarak trilyonlarca hücreye ulaşması ve farklılaşarak yeni özellikler kazanan hücrelerin bölünmelerindeki programlanma bilim dünyasının dikkatini çekmektedir (Şahin, Saydam & Omay, 2005, Sağsöz & Ketani, 2008). Organizmada ömrünü tamamlayan ve ölen hücrelerin yerine yeni hücreler meydana gelmekte ve yabancı antijenlere karşı koymak için organizma özel immun hücreler üretmektedir. Embriyogenezis sırasında göz hücreleri görme, pankreas hücreleri

¹¹ PhD. Ramazan ÖRDEK, Mustafa Kemal Üniversitesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, Veteriner Fakültesi, Hatay/Türkiye, Orcid: 0000-0001-9741-2383, ramazanordek074@gmail.com

¹² Prof. Dr. Cengiz YILDIZ, Yalova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Yalova/Türkiye, Orcid: 0000-0002-9166-8836, cildiz1@hotmail.com

salgı, ve akciğer hücreleri ise solunum için farklılaşırlar. Canlıların vücudundaki tüm hücrelerin ilk ana hücresine “kök hücre” denir ve bu hücreler çok farklı hücre tiplerine dönüşebilme yeteneğine sahiptirler (Sağsöz & Ketani, 2008).

Hayvan fetal ve kordon kanı greftleriyle bir takım enfeksiyonların tedavisi üzerine çalışmalar yapan Süreyya Tahsin Aygün, insan yaşamını uzatma yolunun doğum sonrasında atılan plasenta ve kordon hücrelerinin tedavi amacıyla kullanılmasında olduğunu ifade etmiştir. Embriyonal karsinom hücresinin kültür ortamında üretilmesi, kök hücre alanındaki ilk önemli adımlardan biri olmuştur (Şahin, Saydam & Omay, 2005, Sağsöz & Ketani, 2008).

Bu çalışma, üreme biyoteknolojisinin ilgi alanına giren bazı kök hücre ve organ naklinin canlıların reproduktif yaşamları üzerindeki etkilerini anlamak amacıyla yapılmıştır.

2. Biyoteknoloji

Sözlükte canlı üretim bilimi anlamına gelen biyoteknoloji terimi, biyo-tekno ve loji sözcüklerinin birleşmesiyle oluşmuş, farklı nitelikteki ürünlerin, canlı materyallerden faydalanılarak üretilmesi anlamına gelmektedir. Fakat biyoteknoloji denince ilk olarak mikroorganizmalardan farklı ürünlerin eldesi akla gelse de, kaydedilen son gelişmelerle mikroorganizmalardan veya gelişmiş canlılardan elde edilen parçalarla ortaya konulan üretimler de biyoteknolojinin kapsamı alanına girmektedir (Şahin, 1987).

Sağlık alanındaki biyoteknolojik uygulamalar (kırmızı biyoteknoloji)

Sağlık alanındaki biyoteknolojik çalışmalar; gen terapisi, rekombinant aşılar, biyofarmasötikler ve insanın zarar görmüş veya işlevini kaybetmiş organ ve dokularının değiştirilmesi için yapay organ ve doku üretimini kapsar. Günümüzde biyoteknolojik çalışmalar özellikle kısa sürede ilaç üretiminde hızlı gelişmeler katedilmesine yardımcı olmaktadır. Artık bir çok alanda geleneksel ilaçlar yerine biyoteknolojik ilaçların kullanımı söz konusudur. Kanseri, kardiyovasküler sistem ve zihinsel bozukluklar gibi birçok hastalığın gelişmesinde genlerin rol oynadığı tanımlanmıştır. Hastalıkla ilgili bireysel genlerin ve onlardan türeyen proteinlerin belirlenmesi bu hastalıklarla mücadelede yüksek seçici ve etkin ilaçların geliştirilmesine olanak sağlar (Zand & Narasu, 2013).

Gen terapisi; vücut hücrelerindeki genetik mesaj ya da bilginin değiştirilmesiyle hastalıkların tedavisini içerir (King & ark., 2005). Gen terapisi; kusurlu genin normal genle değiştirilmesi, kusurlu genin inaktive edilmesi veya hastalıkla mücadelede vücuda yeni genin tanıtılması şeklindeki üç yaklaşımdan oluşur. Genetik hastalıkların tedavisinde gen terapisi yöntemi ile DNA'ya hücre içinde müdahale edilerek değiştirilebilir (Zand & Narasu, 2013). Gen terapisi vücuttaki somatik ve üreme hücrelerine uygulanabilir olmakla birlikte ancak üreme hücrelerine uygulandığında genetik bilgidaki değişiklik yavrulara aktarılabilmektedir. Günümüzde kanserle mücadelede gen terapisi yönteminin kullanılabilirliği ile ilgili araştırmalara yoğunluk verilmektedir.

Biyofarmasötikler; biyolojik kaynak kullanılarak teşhis veya tedavi amaçlı kullanılan proteinler ve nükleik asitleri ifade

eder. Penisilinin keşfi 20. yüzyılda gerçekleşen farmasötik anlamda en önemli biyoteknolojik gelişmedir. Biyosentetik insülin, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretilen ve pazara sunulan ilk biyofarmasötik materyaldir (Zand & Narasu, 2013). Günümüzde biyofarmasötik ürünler içerisindeki en önemli grubu rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretilen tedavi amacıyla kullanılan her türlü proteinleri kapsayan 'Terapötik Proteinler' oluşturur. Sadece memeli hayvan hücreleri kullanılarak üretilen monoklonal antikorlar önemli bir terapötik proteinlerdir. Monoklonal antikor üretiminde öncelikle antikorun hedefi olan antijen farelere verilir, sonra farenin lenfosit hücreleri hibridoma hücreleri haline getirilir ve böylece rekombinant DNA teknolojisi yardımıyla, fare antikorunu kodlayan genlerde bazı değişiklikler yapılır ve sentezlenen bu antikorun insaninkine benzer hale getirilmesi sağlanır (Gül, 2016).

Mevcut teknolojilerle üretilemeyen hepatit B aşılarının üretiminde modern biyoteknolojik yöntem olan **Rekombinant DNA Teknolojileri** kullanılmaktadır. Rekombinant DNA aşıları, sentetik peptid aşıları, mutant aşılar ve anti-idiotip aşılar biyoteknolojik yöntemlerle üretilen aşılardır. Rekombinant DNA aşılarının üretim teknolojisinde mikropların bağışıklıkta etkili olan proteinlerini kodlayan genler ayırt edilir ve bu genler bir taşıyıcı hücreye aktararak, bol miktarda sentezlenirler. Örneğin; Hepatit B virusunun yüzey antijenini (HBsAg) kodlayan gen bir maya hücresine aktarılarak burada çokça çoğaltılır ve ardından aşı olarak kullanılır (Rekombinant HBV aşısı) (Zand & Narasu, 2013; Gül, 2016).

3. Reprodüktif biyoteknoloji

Canlılarda reprodüksiyon ile alakalı genetik materyali korumak, gelişimini sağlamak, kalıtsal özellikleri diğer bireylere aktarmak amacıyla bazı biyolojik bilgi ve tekniklerin uygulanması işlemine reprodüktif biyoteknoloji denir (Çevik, 2020).

Veteriner hekimliği ve hayvan yetiştiriciliği bakımından öncelikli amaç, in vivo ve in vitro şartlarda gen kaynaklarının uzun vadeli korunması ve sayıca fazla miktarda yavru elde etmektir. Erkek ve dişi damızlıklardan sayıca fazla miktarda yavru elde edebilme, zorunlu kesime giden damızlık hayvanlardan kesimden sonra da yararlanabilme ve biyo-reaktör üretimi ve klonlama gibi biyoteknolojileri gen transferi ile uygulayabilme reprodüktif biyoteknolojiden elde edilmesi beklenen faydalardır. Reprodüktif biyoteknoloji konuları erkek ve dişi canlılar için ayrı ayrı değerlendirildiğinde bir takım farklılıklar gösterir. Bu bağlamda dişilerde uygulanabilecek biyoteknolojik çalışmalar embriyo ve hormonal kontrol ile alakalı konulardan; erkeklerde ise başlıca sperma ve suni tohumlama ile ilgili konulardan oluşur (Pabuccuoğlu, 2021).

4. Hücrenin keşfi ve kök hücrenin tarihsel gelişimi

Hücre, organizmanın yapısal ve işlevsel özellikler gösteren en küçük yapı birimidir. Robert Hooke, mikroskopik inceleme sonucu şişe mantar parçasının yan yana dizilmiş bitişik kısımlardan oluştuğunu gözlemlemiş, etrafı çevrili ve iç kısımları boş olan bu yapı odaklarına hücre (Cellula: latince küçük odacık) olarak adlandırmıştır. Bu isme 1665 yılında yayınladığı Micrographia adlı kitapta da yer vermiştir. 1839'da Matthias Jakob Schleiden ve

Theodor Schwann; “hücre teorisi”ni ortaya koymuşlardır. Bu teoriye göre:

1. Hücre, yaşamın en küçük işlevsel yapısıdır. Canlılar bir veya daha çok hücreden oluşur.
2. Oluşan yeni hücreler kendilerinden önceki hücrelerin bölünmesi sonucu oluşur.
3. Organizmanın bütün yaşam fonksiyonları kendi hücrelerinin içinde meydana gelir.
4. Tüm hücreler, kendi fonksiyonlarını regüle eden kalıtsal bilgiyi sonraki neslin hücrelerine aktarır (Ateş, 2016).

1878’de kök hücre kapsamında memeli ovumunun ilk kez canlı vücudu dışında döllenmesiyle başlamış olan in vitro çalışmalar günümüzde organizmanın klonlanması ve organ üretimi konusunda gelişme kaydetmiştir (Özen & Gül Sancak, 2014).

1900 yılı başlarında araştırmacılar kan hücrelerinin hepsinin tek hücreden köken aldığını fark etmişlerdir (Ateş, 2016).

1960: Farelerde teratokarsinomaların embriyonik germ hücrelerinden kökenlendiği ve embriyonik karsinom hücrelerinin bir anaç hücre olduğu bulunmuştur (Ateş, 2016).

1963: Ernest McCulloch ve James Till; farelerdeki kemik iliği hücrelerinin nakil sonrası kendilerini yenileme kapasitelerinin bulunduğunu ifade etmişlerdir (Ateş, 2016).

1968: İlk insan ovumu in vitro ortamda döllenmiştir (Ateş, 2016).

1976: Mezenkimal kök hücreleri Fridenstein tarafından ilk kez tanımlanmıştır (Friedenstein, 1976).

1978: İlk IVF bebeği (tüp bebek) İngiltere’de dünyaya gelmiştir (Ateş, 2016).

1981: Blastosistlerin iç hücre kitlesinden (ICM) fare embriyonal kök hücreleri (EKH) elde edilmiş. İn vitro ortamda pluripotent özellikteki fare EKH’lerini üretmek için, gerekli olan kültür şartları hazırlanmıştır (Evans & Kaufman, 1981).

1995-96: Rhesus maymunları ve marmosetlerden EKH’ler elde edilmiş ve elde edilen bu hücreler in vitro ortama yerleştirilmiştir (Thomson & ark., 1995).

1998: IVF laboratuvarında kriyoprezerve ya da taze 36 tane embriyodan beş tane insan EKH serisi üretildiği raporlanmıştır (Thomson & ark., 1998).

2000: İnsan embriyonik kök hücresinin pluripotent olduğu anlaşılmıştır (Sağsöz & Ketani, 2008).

2003: Science Dergisi kök hücre alanındaki gelişmeleri en önemli 10 tıp olayı arasında göstermiştir (Ateş, 2016).

2004: Güney Koreli bilim insanları 30 adet insan embriyosunu klonlayarak blastosist seviyesine getirmişler, ancak bu embriyoların yalnızca birinden kök hücre elde edebilmişlerdir (Sağsöz & Ketani, 2008).

2006: İndüklenebilir pluripotent kök hücreleri (iPSC)’nin viral veya viral olmayan vektörler kullanılarak, bazı maddelerin kültür ortamına ilave edilmesiyle genleri aktif hale getirilmiş ve

geriye farklanmaları sağlanmıştır (2012 Nobel Ödülü) (Takahashi & Yamanaka, 2006).

2010: Gazzon Muvdi ve Quinones, erişkin tip kök hücrelerin uygun ortamda farklılaşmadan veya özelleşmeden bulunduğunu ve sinyalleşmeler sonucu kök hücrelerin kendi aralarındaki ilişkiyi regüle ettiğini ispatlamışlardır (Gearhart & Addis, 2010).

5. Kök hücre

Değişik hücre tiplerine dönüşme kabiliyeti (differensiyasyon), kendi kendini yenileme gücü (self-renewal) ve canlı kaldıkça yaşamlarını sürdürebilme karakteristiğine sahip olan hücrelere kök hücre denir (TÜBA, 2009, Andrades & ark., 2011, Özen & Gül Sancak, 2014). Bu tip hücreler birçok dokuda bulunmakla birlikte bulundukları dokulardaki dejenere olan hücrelerin yenilenmesinden sorumludurlar (Schatten, 2007). Bu hücrelerin herhangi bir dokuya has özellikleri bulunmaz ve uygun bir sinyalle karşılaşmadıkça farklılaşmazlar. Kök hücrenin ne tür hücreye farklılaşacağını hücre çekirdeğindeki genler düzenler. Bu genlerden gelen uyarımlara göre farklı hücre tiplerine dönüşebilirler (Güneş, 2005, Cannazik & Polat, 2014).

Bir hücrenin kök hücre sınıfına girebilmesi için 5 kriter vardır:

Bölünebilme özelliği uzun sürmeli ve kendini yenileyebilme kapasitesine sahip olmalı,

Özelleşmemiş olmalı,

Özelleşen hücrelere dönüşebilmeli,

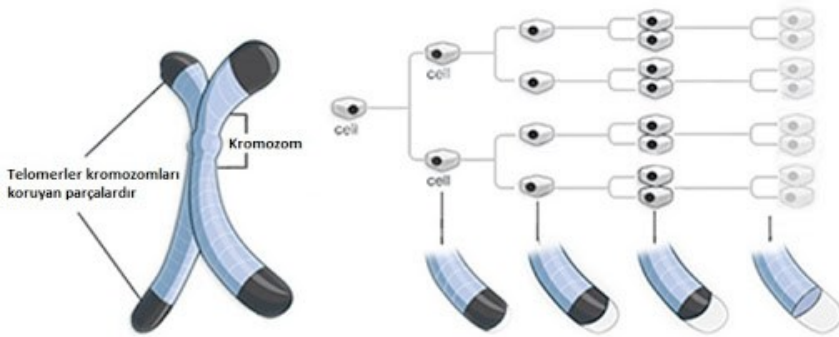
Hasarlı dokuya transplante edildiğinde kaynak dokuyu işlevsel açıdan tekrar çoğaltabilmeli,

In vivo ortamda doku hasarı olmadığı durumlarda da farklılaşan kuşaklara destek sağlamalıdır (Ural, 2006, Erol & Arıcan, 2008, Cannazik & Polat, 2014).

Kök hücrenin özellikleri

Bölünme ve kendini yenileme (self-renewal)

Kök hücreler, bulundukları dokularda onarım için yeni bir hücreye ihtiyaç oluncaya kadar özelleşmeden bölünebilme kabiliyetine sahiptirler (Erol & Arıcan, 2008, Cannazik & Polat, 2014). Hücrelerin bölünebilme yeteneklerini kromozomun uç kısımlarındaki telomer adındaki DNA zinciri belirler (Şekil 1). Telomerlerin uzunluğu ne kadar fazla ise hücreler o ölçüde fazlaca bölünebilirler. Telomeraz enzimi telomerlerin uzun kalmasının devamlılığını sağlar. Bu enzim hücrede ne kadar aktif rol oynar ise telomerlerin uzunluğu da o ölçüde korunabilir. Fazla yoğun telomeraz enzimi aktivasyonundan kaynaklı kök hücreler çok sayıda



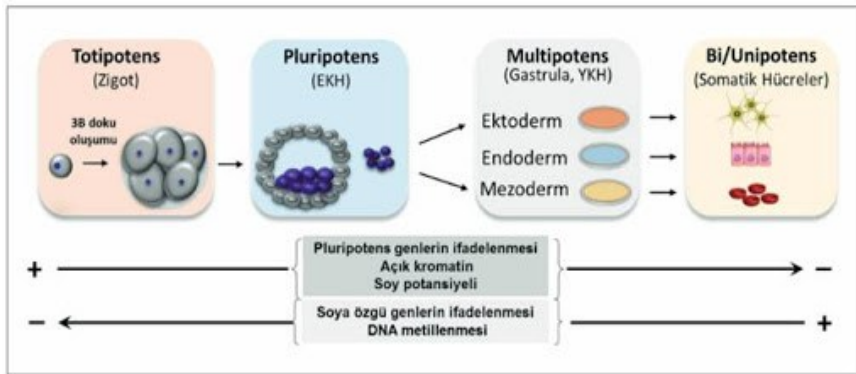
Kromozomlar zaman içinde bölündükçe telomerler giderek kısalır. Kritik bir kısalığa ulaştıklarında hücre bölünmesi durur.

bölünebilme özelliğine sahiptirler (Sağsöz & Ketani, 2008; Thore & ark., 2008).

Şekil 1: *Telomerin yapısı ve hücre bölünmesi (Telomer.com, 2022).*

Kök hücrelerin farklılaşması

Dokulardan elde edilen kök hücrelerin, uygun ortam koşulları ve sinyallerle değişik doku hücrelerine dönüşebilmesi olayına plastisite (transdiferansiyasyon) denir (İnan & Özbilgin, 2009). Kök hücreler farklılaşabilme potansiyeline göre; totipotent, pluripotent ve multipotent olmak üzere 3 kategoriye ayrılır (Şekil 2) (Koerner & ark., 2006, Cannazik & Polat, 2014).



Şekil 2: *Soy potansiyeli açısından kök hücre sınıfları arasındaki sıra düzeni (Lanza & ark., 2009).*

Totipotent kök hücreler

Totipotent özellik bir kök hücrenin sahip olabileceği en yüksek güç olarak tanımlanır. Spermatozoon ile yumurtanın fertilizasyonu (döllenme) sonucu oluşan zigot, farklılaşma kapasitesi en yüksek olan totipotent kök hücredir. Üç germ tabakasındaki hücrelerin tamamını oluşturma kabiliyetine sahip olmakla birlikte uygun koşullarda fonksiyonel bir organizmayı en baştan oluşturabilecek tüm hücelere dönüşebilme özelliği bulunan hücre

tipidir. Embriyonal gelişim aşamasındaki hücreler, zigot oluşumundan sonra, ilk birkaç bölünmede totipotent olma kabiliyetini muhafaza ederler.

Pluripotent kök hücreler

Bu hücreler fertilizasyondan sonra, embriyonal hücre bölünmesinin dördüncü gününden itibaren (döllenmeden 16 blastomerli döneme kadar) totipotent olma özelliklerini kaybederek, daha düşük farklılaşma gücüne sahip olan pluripotent hücre tipine dönüşürler (Lanza & ark., 2009, Morgani & ark., 2013, Çerçi & Erdost, 2019). Kısacası, preimplantasyon döneminin 4. gününde oluşan blastosist aşamasındaki embriyoda mevcut olan hücrelerdir. Embriyonal gelişimin dördüncü gününde, embriyo (blastosist aşamasında) üç temel katman meydana getirir. Blastosist; trofoblast hücreleri, blastosöl ve iç hücre kitlesi (Inner Cell Mass, ICM) olarak üç temel yapıdan oluşur. Trofoblast, gelişim sürecinde plasentayı oluşturur. ICM'nin, gelişim aşamasında vücuttaki tüm dokuları oluşturma özelliği bulunur (Elçin, 2009). Bu hücreler germ yapraklarına (endoderm, ektoderm, mezoderm) ait doku ve organları oluşturabilme kabiliyetine sahip olmaları bakımından totipotent kök hücrelerle benzerlik gösterirler (Tekeli & ark., 2016). Bu hücreler plasental yapıları oluşturamaz ve dolayısıyla yeni bir organizmayı meydana getiremezler. Hücreler, embriyonal gelişimin ileri dönemlerinde uterus duvarına implante oluncaya kadar pluripotenttirler.

Multipotent kök hücreler

Embriyonal gelişimin ileri aşamasına ait olan bu hücreler, implantasyondan sonra multipotent (üç germ yaprağına ait hücrelere

dönüşebilme) karakteristik kazanırlar. Bu hücrelerin, gelişim evresinde bölündükçe daha düşük kapasitede farklılaşma özelliği bulunur. Pluripotent özellikteki kök hücrelere göre kısmen farklılaşmış kök hücre özelliği gösterirler. Bu hücrelerin başlıcaları, hematopoietik kök hücreler (HKH) ve mezenkimal kök hücrelerdir (MKH). Bu hücreler erişkin bireylerin tek bir germ yaprağına ait ve birbirine yakın hücrelere farklılaşabilme özelliği bulunan hücrelerdir (Lynch, 2011).

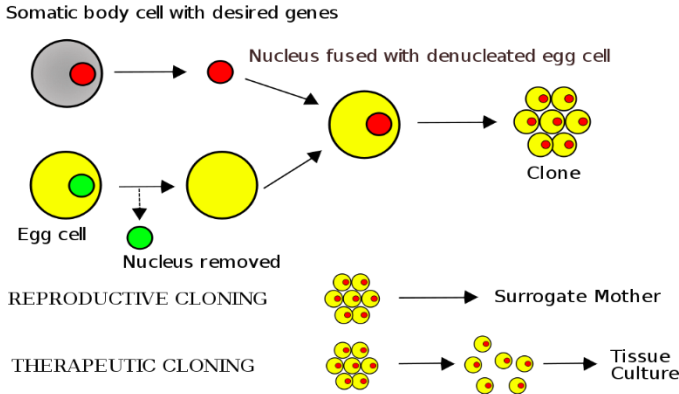
Kök hücreler elde edildikleri kaynaklara göre; embriyonik, fetal ve erişkin tip kök hücreler olarak üç grupta toplanırlar (Özer, 2018).

Embriyonik kök hücreler

Blastosist aşamasındaki bir embriyoda implantasyon sonrası plasenta yapısını oluşturacak olan trofoblast hücrelerinden (trofektoderm) oluşan dış kısım ve nodus embriyonalis denen ICM'den meydana gelen iç kısım olmak üzere iki farklı hücre tipi bulunur. Bu hücreler, erken embriyonik evrede ICM'den elde edilir ve in vitro olarak tüm somatik hücre tiplerine dönüşme kabiliyeti bulunur. Bu kök hücre tipi embriyonun gövdesine ait bütün hücre tabakaları (endoderm, ektoderm, mezoderm) ile onlardan köken alacak organ ve sistemleri oluşturma yetkinliğine sahip pluripotent özellikteki kök hücrelerdir (Özer, 2018). Telomerleri uzun olduğundan bu hücrelerin çoğalma kapasiteleri epey fazla olmakla birlikte uzun süre bölünmeye devam edebilme özellikleri bulunur. Uygun laboratuvar koşullarında 2 yıl kadar yaşayabilirler (Şenel, 2002, Güneş, 2005, Karaşahin, 2012).

Günümüzde embriyonal kök hücrelerle ilgili çalışmalar etik kısıtlamalardan dolayı sınırlıdır (Özen & Gül Sancak, 2014).

Somatik hücre çekirdek transferi yöntemi (üreme amaçlı kopyalama) ile hastalara özel embriyonik kök hücre üretme imkanı vardır (Şekil 3). Bu yöntemde; somatik bir hücre çekirdeği, çekirdeği çıkartılmış bir ovum hücresine aktarılır. Şekillenen bu yeni hücrenin blastosist aşamasına kadar ilerlemesi sağlanır. Daha sonrasında da ICM'nin hücresel tedavi amacıyla kullanılması sağlanır. Ayrıca oluşan bu blastosist aşamasındaki embriyonun uterusu transferi ile (klonlama) yeni bir canlının meydana gelmesi de sağlanabilir. Dolly adındaki koyunun üretilmesi üreme amaçlı kopyalama yöntemiyle başarıyla gerçekleştirilmiş ve bu yöntem daha sonra diğer canlılarda da uygulanmıştır. Bu yöntem, somatik bir hücrenin embriyonik olarak yeniden programlanabileceğini sunması yönüyle önem taşımaktadır (Özen & Gül Sancak, 2014).



Şekil 3: Klonlamanın şematize edilmesi (Wikipedia, 2022).

Fötal kök hücreler

Fötal kök hücre kaynağı, kendiliğinden veya çeşitli sakatlıklar nedeniyle abortusla sonlanan ya da sonlandırılan gebeliklerden elde edilen fötuslardır. Bu hücreler sınırsız sayıda bölünebilme ve kendilerini yenileme gücüne sahiptir. Pluripotent özelliğe sahip hücrelerdir. Farklılaşp kromozom sayılarını yarıya indirerek ovum ve spermatozoona dönüşebilirler. Ancak bir başlarına yeni bir canlı oluşturmazlar. Kültür ortamında her türlü hücreye dönüşebilmeleri sebebiyle embriyonik kök hücreye alternatifirler. 5-10 haftalık fötusun gonadal çatısında bulunan primordiyal germ hücrelerinden köken aldıkları gibi amniyon sıvısı ve plasentadan da elde edilebilirler (Özer, 2018).

Erişkin tip kök hücreler (ETKH)

Kemik iliğı, periferik kan, yağ doku, deri, kalp kası, nöron, amniyotik sıvı, göbek kordonu ve uterus gibi dokulardan köken alan kök hücrelerdir. Organizmanın çeşitli doku ve organlarında bulunan, gerektiğinde kendini çoğaltabilen, multipotent özellikteki farklılaşmamış kök hücrelerdir. Örneğın; beyin kök hücrelerinden kan ve kas hücreleri oluşturulabilir. İçinde bulundukları dokuları onararak dokunun devamlılığını sağlamak başlıca görevleridir. Bu tip hücreler özelleşmiş hücrelere dönüşmeden önce sınırlı çoğalma özelliğine sahip olan progenitör veya öncül hücrelere dönüşürler (Özer, 2018).

Günümüzde hücre tabanlı tedavilerde insan embriyonik kök hücreleri (hESCs) %13, fötal kök hücreler %2, göbek kordonu kök hücreleri %10 ve erişkin kök hücreleri %75 oranında kullanılmaktadır (George, 2011).

Kök hücrelerin işlevi

Hematopoietik kök hücre, karaciğer ve sinir kök hücrelerinde hasarlı yere nakledildiğinde kaynak dokuyu işlevsel bakımdan yeniden fonksiyonel duruma getirir. Örneğin; kemik iliği mezenkimal hücreleri kalp dokusuna aktarıldığında bu hücreler kardiyomiyositlere farklılaşarak hasarlı dokuyu işlevsel hale getirirler (Kruse, Danner & Rapoport, 2008).

Kök hücre transplantasyonu

Kök hücre tedavisinde sistemik uygulamalar kılcallarda emboli oluşumuna sebebiyet verebileceğinden lokal uygulamalar tercih edilir (Deak, Seifried & Henschler, 2010). Günümüzde kök hücreler standardize edilmiştir ve Uluslararası Kök Hücre Tedavisi Organizasyonu (ISCT) standartlarına tabidir (Dominici, Le Blanc & Mueller, 2006).

Transplantasyon işleminde kök hücre kaynağı olarak aynı canlı (*ototransplantasyon*), aynı tür (*allotransplantasyon*) veya farklı bir tür (*ksenotransplantasyon*) kullanılabilir (Gade & ark., 2012). Vetstem, Medistem ve Histostem gibi bazı şirketler, ortopedik ve diğer yaralanmalarda kullanılmak üzere otojenik, allojenik veya ksenojenik kök hücreler üretmektedir (Dalğın & Meral, 2017).

Kök hücre nakli; hücrel süspansiyon (spermatogonyal kök hücre) ve dokuların transplantasyonu (testis ve ovaryum) şeklinde iki farklı şekilde yapılabilir.

Hücresel süspansiyon transplantasyonu

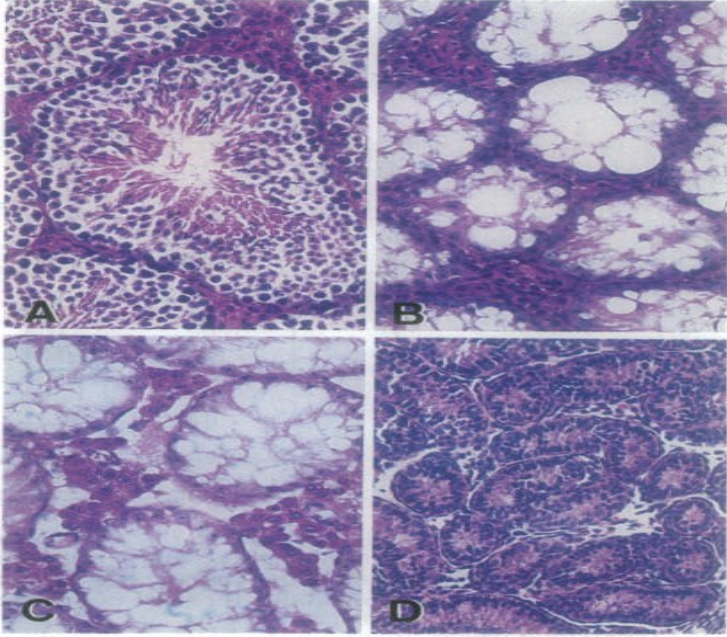
Fertil bir erkek farenin testis hücreleri (spermatogonyal kök hücre) doğrudan alıcı infertil bir erkeğin seminifer tübüllerinin lümenine mikroenjektör ile nakledilerek spermatogenez oluşturabilir ve donör haplotipini bir sonraki nesle aktaran spermatozoa üretilebilir. Fare ve ratlarla yapılan çalışmalarda süspansiyon halindeki donör kök hücrelerin testiküler kullanımı için 3 farklı **mikroenjeksiyon yöntemi** vardır. İlk yöntemde hücresel süspansiyon bir mikropipet yardımıyla seminifer tubullere verilerek hücrelerin rete testisten geçişi olur ve diğer tübüllere ulaşırlar. İkinci yöntemde hücresel süspansiyon mikropipet yardımıyla doğrudan rete testise aktarılır. Üçüncü yöntemde donör kök hücreleri direkt olarak rete testise giden efferent kanala verilir (Ogawa & ark., 1997, Brinster & Nagano, 1998). Kök hücrelerin testis içerisine verilmesinin başarılı olup olmadığını görebilmek amacıyla testislere triptan mavisi enjekte edilir. Transplantasyon sonrası testisteki donör kök hücrelerinin çoğalması histolojik olarak muayene edilir. Bilgisayar destekli görüntüleme yöntemleri de bu amaçla kullanılabilir (Dobrinski & ark., 1999). Dişi germ hattındaki kök hücrelerin çoğalması doğum öncesi sona erdiğinden yetişkinlerde bulunan tek germ hattı kök hücreleri spermatogonyal kök hücrelerdir (Zheng & ark., 2014, Akar & ark., 2019).

Hücresel transplantasyon ilk kez farelerde denenmiş, donör farenin testisinden alınan hücre süspansiyonu içerisindeki spermatogonyal kök hücre (SSC) infertil bir konak fareye verildiğinde spermatogenezin şekillendiği ve bu fareler çiftleştirilmesiyle donör farelerin kalıtsal özelliklerini taşıyan yavruların doğduğu ifade edilmiştir (Şekil 4). Bu çalışma sonrası

homolog türler arasında rat, keçi, domuz, köpek, koyun ve maymun gibi değişik canlılarda da bu transplantasyon işlemi başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Brinster & Zimmermann, 1994). Böylece farklı türler arasında da SSC nakillerinin (ksenotransplantasyon) yapılabileceği gösterilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada rattan alınan SSC fare seminifer tübüllerinde kolonize olmuş ve bu hücrelerin farklılaşması sonucu normal rat spermi üretilebilmiştir (Clouthier & ark., 1996).

Spermatogonyal kök hücreler (SSC)

SSC'ler, belli bir türün genomunu bir nesilden bir nesile aktarabilen ve aynı zamanda pluripotent kök hücrelere dönüşme kapasitesine sahip olan tek yetişkin kök hücreleridir (Guan & ark., 2006, Seandel & ark., 2007, Kanatsu-Shinohara, Takehashi & Shinohara, 2008, Aponte, 2015). Ayrıca, temel üç embriyonik katmandan hücreler oluşturabilirler.



Şekil 4: Donör farenin testisinden alınan hücre süspansiyonu içindeki spermatogonial kök hücrenin infertil konak fareye enjekte edilmesi sonucu kontrol ve alıcı testislerin mikroskopik görünümü. A) Kontrol 12 haftalık. Seminifer tubullerde aktif spermatogenezis vardır B) Mutant 10 haftalık. Spermatogenezis yoktur C) Busulfanla tedavi edilmiş 12 haftalık. Tedaviden 6 hafta sonra. Spermatogenezis yoktur D) Neonatal 2 günlük. Prenatal testis kök hücrelerini oluşturan gonositler yalnızca germ hücre aşamasındadırlar (Brinster & Zimmermann, 1994).

SSC, canlının hayatı boyunca kök hücre havuzunun devamlılığını sağlamak için kendini yeniler, üreme hücresine dönüşür ya da apoptoz sonucu ölür (Dym, 1994). Erişkin testisinde normal spermatogenez ve fertilitenin devamlılığı; SSC yenilenmesi ve farklılaşması arasında bulunan dengeye bağlıdır. Bu iki süreç; kök hücre gen ekspresyonuyla intrinsik olarak ve niş adı verilen mikroçevreden gelen uyarımlar sonucu ekstrinsik olarak regüle

edilir (Dadoune, 2007, Yanar & ark., 2017). Kök hücrelerin bölünme ve farklılaşmalarında önemli bir yeri olan; bu hücrelerin içinde olduğu ve onların geleceğini belirleyen *invivo* veya *invitro* mikroçevreye kök hücre yuvası (Stem Cell Niche) adı verilir. Kök hücre yuvası; sertoli hücresi, peritubuler miyoid hücre ve Leydig hücresini içerir (Chen & ark., 2005, Hess & ark., 2006, Chen & Liu, 2015, Heinrich & De Falco, 2019).

Sertoli hücreleri, SSC ve üreme hücrelerinin beslenmelerini sağlayarak spermatogenezisi destekleyen uyarımları yönetir. Bu hücreler, glial hücre hattı türevli nörotrofik faktörü (GDNF) ve bazik fibroblast büyüme faktörünü (bFGF) salmak suretiyle *in vitro* spermatogonyal kök hücre yenilenmesine destek olurlar. Peritubuler miyoid hücre ve Leydig hücresi; koloni-stimulan faktör1 (CSF1) üretimi sayesinde GDNF ile sinerjistik olarak etkilerini gösterirler. Leydig hücresi ise testosteron hormonu üretimi sayesinde gonadların gelişimi ve spermatogenezisin devamlılığını sağlar (Ateş, 2016).

Tip A ve tip B olmak üzere iki temel spermatogonyum hücre tipi vardır. Seminifer tübüllerde gerçekleşen spermatogenez sürecinde oluşan spermatogenik seri hücrelerinden A single (tek), A paired (çiftli) ve A aligned (sıralı) tipteki spermatogonyumlar farklanmamış spermatogonyumlar olup; A1, A2, A3, A4, intermediate ve tip B spermatogonyumlar farklanmış spermatogonyumlardır. As/Apr/Aal spermatogonyumlar seminifer tübüllerdeki intersitisyel alanda bulunan kan damarlarına yakın yerleşmiş olarak bulunurlar. Bu spermatogonyumlar A1 spermatogonyuma farklandıklarında buradan tübülün lümenine doğru göç ederler. Spermatogenez sürecinde önemli görevleri olan ve bu sürecin devamlılığını sağlayan spermatogonyal kök hücrelerin

hangileri olduğuna dair “A single modeli” ortaya atılmıştır (Huckins, 1971). Bu modele göre, A single spermatogonyumlar kök hücrelerdir ve sürekli olarak kendilerini yenileme yeteneğine sahiptirler. Bu sayede oluşturdukları kök hücre havuzu ile spermatogenezin devamlılığını sağlarlar. A single (As) dışındaki A paired (Apr) ve A aligned (Aal) gibi birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlantılı olan spermatogonyumlar ise kök hücre potansiyelini kaybeden ve farklanmaya yönelen hücrelerdir. Apr spermatogonyumda sitokinezis tamamlanmadığından hücre içi köprüyle bağlarını koparmazlar. Spermatogonyal farklılaşmanın görülebilen ilk işareti hücrelerarası köprünün oluşmasıdır (Aponte & ark., 2005). Apr spermatogonyal oluştuğunda bu hücreler haploid gametler olmak için kararlanırlar. Hücrelerin kendini yenilemesi ve farklılaşması arasındaki oran her zaman 1:1 olmalıdır. Bu oran sağlanamadığında üreme hücresi tümörleri veya spermatogonyal kök hücrelerde azalma/yetersizlik meydana gelir (Meng & ark., 2000; Düzağaç & ark., 2013).

Farklanmamış olan As, Apr, Aal spermatogonyumlar tüm testiküler hücrelerin %1'inden az kısmını oluşturur ve kök hücre fonksiyonu gösterirler (Ohbo & ark., 2003).

Spermatogonyal kök hücrelerin kendi kendini yenileme ve farklılaşması somatik hücrelerde çevresel kaynaklı dış (ektrinsik) etkenler ve germ hücrelerindeki iç (intrinsik) kalıtsal programlarla düzenlenir (Düzağaç & ark., 2013).

Testisteki seminifer epitelin germ kök hücreleri olan SSC'ler spermatogenezisin kurucu hücreleridir. Günümüze kadar spermatogonyal kök hücre nakli; fare, rat, koyun, domuz, köpek ve

maymun gibi değişik canlı türlerinde başarılı olarak uygulanmıştır (Ogawa & ark., 2000; Kanatsu-Shinohara & ark., 2003). Çeşitli hayvan çalışmaları, değişik yaştaki donörlerden alınan SSC'lerin kriyoprezervasyon yöntemiyle başarılı bir şekilde saklanarak çözdüme ve nakil işlemi sonrasında spermatojenik potansiyellerini koruyarak yeniden spermatogenez geçirerek fonksiyonel yapıli işlevsel spermatozoonlar üretebileceğini göstermektedir (Dobrinski, Avarbock & Brinster, 2000). Kemoterapiye maruz bırakılan maymunlar üzerinde yapılan çalışmada; dondurma sonrası nakledilen SSC'lerde, GnRH antagonisti hormonla yapılan supresyon sonucu spermatogenezisin arttığı bildirilmiştir (Shetty & ark., 2013). Kaydedilen bu gelişmeler insanların infertilite problemlerinin tedavisinde olmak için umut kaynağı olmaktadır.

SSC transplantasyonu insanda ilk kez lenfoma hastası erkeklerde denenmiş ve bu hastaların fertilite durumlarını belirten bir rapor yayınlanmıştır (Radford, Shalet & Lieberman, 1999). Yapılan bir başka çalışmada fare testislerine insan SSC transplantasyonu uygulaması sonrasında farklılaşmamış kök hücrelerin çoğalarak bir ay sonra spermatogonyumlara dönüştüğü ancak mayoz bölünme geçiremeden apoptoza uğradığı ve altı ay boyunca canlı kaldığı bildirilmiştir (Nagano, Patrizio & Brinster, 2002).

Dokuların transplantasyonu

Testiküler doku parçacıklarının transplantasyonu

Testis transplantasyonun klinik uygulaması, genetik olarak değerli bir prepubertal erkek hayvanın üreme potansiyelini korumak için çok önem arz etmektedir (Pukazhenthı & ark., 2006). Testis

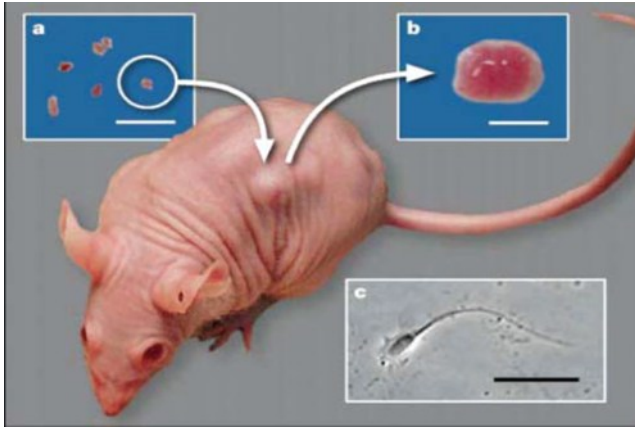
dokusu ksenotransplantasyon tekniği ile yabancı türlerde ektopikal bölgelere greftlenen (nakledilen) testis eksplantlarında sperm üretimi gerçekleşmiştir. Testis doku parçacıklarının immün yetmezliği olan çıplak konakçı farelere (nude mice) allogreftlenmesi (aynı türler arası nakil) veya ksenogreftlenmesi (farklı türler arası nakil), çiftlik hayvanı üretiminde ve prepubertal erkek onkoloji hastalarında germ hattının korunması için yeni bir araçtır. Testis hücrelerinin, transgenik (insan alfa-1 antitripsin ekspresyon yapısındaki) donör keçilerden prepubertal vahşi tip alıcı keçilerin testislerine nakledildiği çalışmada, puberta sonrasında, beş alıcıdan ikisinin ejakülatlarında donör kaynaklı transgeni taşıyan sperm tespit edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca bir alıcının çiftleştirilmesi sonucu, biri donörden türetilen 15 transgenik yavru elde edilmiştir (Honaramooz & ark., 2003). Bu veriler, kemirgen olmayan türlerde germ hücre transplantasyonundan sonra donör hücre kaynaklı sperm üretimi ve genetiğin (donör haplotipinin) bir sonraki nesle aktarılmasına ilişkin ilk rapor olma özelliğine sahiptir.

Yapılan bir başka çalışmada, neonatal fare, domuz ve tekelerden alınan testis fragmanları, immün yetmezliği olan çıplak konakçı farelerin (nude mice) sırt derisinin altına transplantasyonu; bu küçük testis parçalarının, orijinal lokal yerleri dışında büyüyerek farklılaştığı rapor edilmiştir (Şekil 5). Ayrıca bu çalışmada yeni doğan fare, domuz veya keçilerden alınan testis dokusunun fare konakçılarına greftlenmesiyle morfolojik olarak tam spermatogenez gösterdiği ve sperm hücresi elde edildiğini bildirmişlerdir.

Alıcı fareler yüksek seviyelerde folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) sağlamak için kısırlaştırılmış

ve konakçı farelerin endokrin sisteminin, farklı hayvan türlerinden ksenotransplante edilmiş testis dokularının gelişimini desteklediği, testis parçacıklarının boyutunda bir artış olduğu ve sperm hücresinin elde edildiği bildirilmiştir (Honaramooz & ark., 2002, Dobrinski & Rathi, 2008, Yılmaz & Gökdağ, 2010).

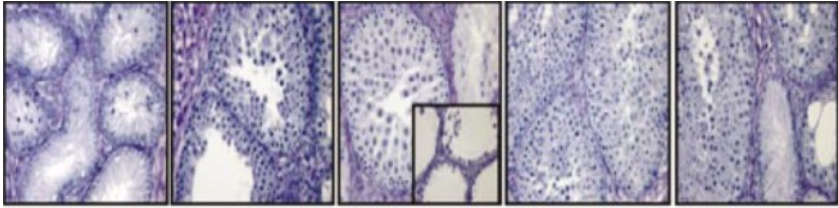
Testis dokusu ksenogreft uygulamasının, konağın endokrin sisteminin donör testis greft gelişimini desteklediği ve pubertayı hızlandırdığı araştırmalar sonucunda açıkça bildirilmiştir (Honaramooz & ark., 2002). Normal testis dokularında seminifer tübül sıvısı (STF) rete testiste yeniden emilirken greftlerde rete dokusunun olmaması STF'nin emilimini bozar ve tübüllerde birikerek tübüler şişkinliğe neden olur. Transplantasyon döneminde,



Şekil 5: Çıplak farelerin derisinin altına yeni doğan domuz yavrularından testis dokusunun greftlenmesi. Transplantasyon sırasında domuz testis greftlerinin boyutu yaklaşık 0,5-1 mm çapında. a: aşılamadan 10 hafta sonra 4-8 mm'ye genişlemiş b: Ölçek çubukları, 5 mm. Daha sonraki zamanlarda alınan greftlerin çoğu sperm içermiştir c: 27 haftalık greftten alınan bir sperma alımı (Honaramooz & ark., 2002).

özellikle türler arası uygulamada, ksenograftların seminifer tübüllerinde rete testislerinin olmamasından kaynaklanan bir lümen dilatasyonu şekillenir (Şekil 6) (Honaramooz & ark., 2007).

Testis dokusu ksenogreft uygulamasının, konağın endokrin sisteminin donör testis greft gelişimini desteklediği ve pubertayı hızlandırdığı araştırmalar sonucunda açıkça bildirilmiştir (Honaramooz & ark., 2002). Normal testis dokularında seminifer tübül sıvısı (STF) rete testiste yeniden emilirken greftlerde rete dokusunun olmaması STF'nin emilimini bozar ve tübüllerde birikerek tübüler şişkinliğe neden olur. Transplantasyon döneminde, özellikle türler arası uygulamada, ksenograftların seminifer tübüllerinde rete testislerinin olmamasından kaynaklanan bir lümen dilatasyonu şekillenir (Şekil 6) (Honaramooz & ark., 2007).



Şekil 6: *İmmun sistemi baskılanmış çıplak farelerin arka derisinin altına allogreftlenmiş neonatal fare testis dokusunun gelişim potansiyelinin histolojik değerlendirmesi (Nishi & ark., 1999).*

Ovaryum doku parçacıklarının transplantasyonu

Ovaryum doğal olarak neovaskülarizasyon sürecini destekleyen bol miktarda anjiyojenik faktör içermesi nedeniyle transplantasyon için oldukça uygun bir yerdir. Ovaryum doku transplantasyonunun temel amacı, özellikle kanser tedavisi (kemo/radyoterapi) gören genç ve yetişkinlerde ovaryum endokrin fonksiyonunun ve fertilitenin yeniden sağlanmasıdır (Donnez & ark., [2013](#)). Özellikle çocuk veya genç hastalarda fertilitiyi korumak için; çok sayıda primordial ve

primer folikülün depolanmasına izin veren ovaryum dokusunun dondurularak saklanması en iyi seçenektir. Primordial foliküller, hormonal tedaviye ihtiyaç duymadan dışı üreme yaşamının herhangi bir aşamasında dondurularak saklanabilir (Donfack & ark., 2017).

Ovaryum naklinin uygunluğu, doku kalınlığının doğru hazırlanmasını ve en uygun nakil bölgesinin bulunmasını gerektirir. Ovaryumun doğal plastisitesi, yeniden damarlanabileceği ve normal fizyolojisini hızla restore edebileceği farklı bölgelere greftlemeyi kolaylaştırır. Ovaryum dokusu **ortotopik olarak** pelvis boşluğuna veya **heterotopik olarak** deri altı bölgelere, rektus kası ve subperitoneal dokunun (Donfack & ark., 2017) yanı sıra böbrek kapsülüne veya yağ yatağına nakledilebilir. Böbrek kapsülüne transplantasyon, greft sağkalımını artıracak mükemmel kan temini nedeniyle daha çok tercih edilir (Youn & ark., [2015](#)).

Ortotopik transplantasyonunun en temel avantajı, yardımcı üreme tekniklerine gerek duyulmaksızın doğal gebelik oluşabilmesidir. Dezavantajı ise, ovaryum boyutu nedeniyle sınırlı sayıda fragman nakledilebilir. Ayrıca ciddi pelvik yapışmalara neden olabilen invaziv bir işlemdir (Demeestere & ark., [2009](#)).

Fareler üzerinde yürütülen bir çalışma, kriyoprezervasyon ile ovaryumun bir bütün olarak ortotopik transplantasyon sonrasında ilk doğumu tanımlamıştır (Parrot, [1960](#)). Yapılan bir çalışmada, insanlarda da ovaryum dokusu kriyoprezervasyonu ve greftleme kullanılarak elde edilen ilk doğum rapor edilmiştir (Donnez & ark., [2004](#)). Bu durum insan üreme tıbbında bir dönüm noktası olmuştur. Bu çalışmadan sonra kriyoprezerve ovaryum dokusunun transplantasyonu sonrasında 70 adet sağlıklı bebeğin doğumu rapor edilmiştir (Silber, [2016](#)). Koyunlarda, yavaş dondurma ile dondurularak saklanan ovaryum dokusunun ortotopik ototransplantasyonundan sonra siklik aktivitenin, hamileliğin ve canlı doğumun meydana geldiği rapor edilmiştir (Gosden & ark. [1994](#)). İki taraflı ovarektomize keçilerde küçük ovaryum parçalarının ortotopik ototransplantasyonu ve kriyoprezervasyonundan sonra hormon uygulamaksızın endokrin

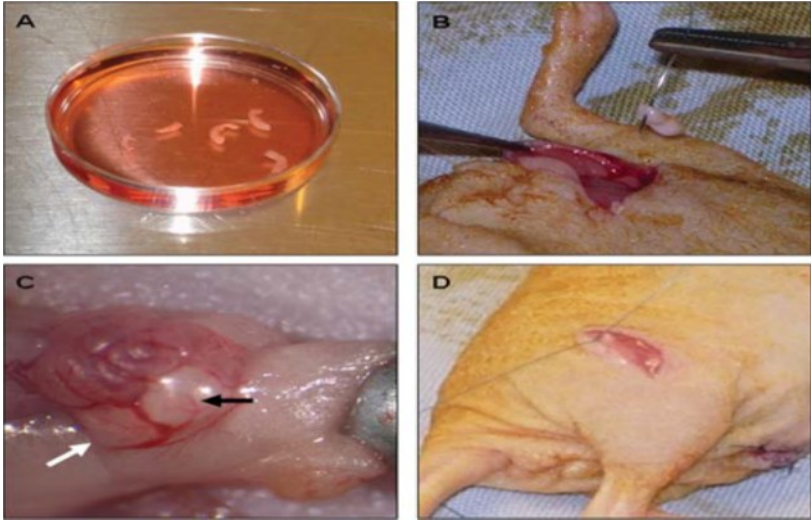
fonksiyonunun geri kazanıldığı ve tam foliküler gelişim gösterdiği bildirilmiştir (Santos & ark., 2009).

Heterotopik nakil işleminin avantajları; invaziv prosedürlerden kaçınma, greftin kolay erişilebilirliği, kortikal dilimler için artan kapasite, şiddetli pelvik yapışıklıklar ortotopik transplantasyonu engellese bile greftleme için uygunluk sağlar (Kim, 2012). Ayrıca genel anestezi kullanımı gerekli değildir ve nakledilen parçaların çıkarılması kolaydır (Filatov & ark., 2016). Heterotopik transplantasyondan sonra doğal gebelik beklenemez ve bu yüzden gebelik için *in vitro* fertilizasyon (IVF) gereklidir.

İnsan ovaryum dokusunun bağışıklığı yetersiz çıplak farelere (nude mice) ksenograftlanması, ovaryum fonksiyonunu ve folikül gelişimini *in vivo* değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır (Van Eyck & ark., 2009). Çıplak farelerde timus olmadığından olgun T lenfositleri üretemezler ve bu yüzden immün yanıtın birçok tipine karşı tepki oluşturmazlar. Böylece çıplak fareler allogreftleri hatta ksenogreftleri bile reddetmezler (Fransolet ve ark., 2015). Hayvan deneylerinde donmuş-çözdürülmüş ovaryum dokusunun transplantasyonu sonucunda antral folikül gelişimi ve canlı doğum meydana gelmiştir (Schubert & ark., 2008, Donfack & ark., 2017).

İnsan ovaryum dokusunun çıplak farelere ksenotransplantasyonunu intraperitoneal (IP), deri altı (SC), ovarian bursa (OB) boşluğu ve kas içi (IM) olmak üzere dört farklı bölgeye greftlenerek karşılaştırıldığı çalışmada, greftlemeden bir hafta sonra, dört bölgede de büyüyen foliküllerin görüldüğü ve birkaç sekonder folikülün tespit edildiği rapor edilmiştir (Şekil 7). Ayrıca; IP, SC, OB ve IM greftlemeden sonra foliküler aktivasyon gözlemlenmesine rağmen, hareketsiz primordial folikül havuzunun, greftleme

bölgesinden bağımsız olarak, greftlemeden 3 hafta sonra tükenmediği bildirilmiştir. Böylece, dört aşılama bölgesinin de, donmuş çözündürülmüş insan ovaryum dokusunun transplantasyondan kısa süre sonra erken foliküler büyümeyi eşit olarak desteklediği ifade edilmiştir (Dath & ark., 2010).



Şekil 7: İnsan yumurtalık dokusunun çıplak farelere ksenotransplantasyonu: dört aşılama bölgesi arasında karşılaştırma. (A) Dondurulmuş çözölmüş insan yumurtalık kortikal şeritleri. (B) İntraperitoneal (IP) ve deri altı (SC) aşılama için orta hat laparotomi. (C) Parçacık (siyah ok) ovarian bursa (OB) boşluğu (beyaz ok), mikroskop ile görüntülendi. (D) Kas içine bir şerit yerleştirmek için sağ uylukta kesi (Dath & ark., 2010).

6. Sonuç

Birçok hastalık mekanizmasının açıklanamadığı günümüzde; doğru tedavi yöntemlerinin uygulanabilmesi için bu hastalık mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik çok sayıda çalışma yürütülürken; diğer yandan kök hücrelerin bu hastalıklarda nasıl ve hangi yolla etki edeceği üzerine de bir takım çalışmalar yürütülmektedir. Böylece kök hücrenin elde edilmesi, nakli ve tedavi amacıyla kullanımı günümüzde en güncel konulardan biri olarak gelişip yoluna devam etmektedir. . Yapılan ve devam eden çalışmalar kök hücrelerin kullanımının oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Yakın bir gelecekte, hastalıkların tedavisinde kök hücre, doku ve organ naklinin çok daha önemli, vazgeçilmez bir uygulama alanına sahip olacağı beklenmektedir.

Kaynaklar

Akar, M., Genç, M. D., Kaya, C. & Çevik, M. (2019). Spermatogonial Kök Hücre ve Transplantasyonu/ *International Black Sea Coastline Countries Symposium-2*.

Andrades, J. A., Claros, S., Palomo, P. J., Lopez-Puerta, J. M., Zamora-Navas, P. & at al. (2011). Skeletal Regeneration by Mesenchymal Stem Cells: What Else? Regenerative Medicine and Tissue Engineering - *Cells and Biomaterials*, 5:107-144.

Aponte, P. M. (2015). Spermatogonial stem cells: Current biotechnological advances in reproduction and regenerative medicine. *World J Stem Cells*, 26; 7(4): 669-680.

Aponte, P. M., Van Bragt, M. P., De Rooij, D. G. & Van Pelt, A. M. (2005). Spermatogonial stem cells: characteristics and experimental possibilities. *Apmis*, 113: 727–742.

Ateş, U. (2016). Kök hücreyi tanıyalım. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*. 1(1): 19-28.

Brinster, R. L. & Zimmermann, J. W. (1994). Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91:11298–302.

Brinster, R. L. & Nagano, M. (1998). Spermatogonial stem cell transplantation, cryopreservation and culture. *Seminars In Cell & Developmental Biology*, 9, 401-409.

Bulut, O. & Belge, A. (2020). Kök Hücreler ve Veteriner Hekimlikte Kullanım Alanları. *Harran Univ Vet Fak Derg*, 9(1): 86-89.

Cannazik, O. & Polat, B. (2014). Kök Hücre ve veteriner hekimlikte uygulama alanları. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, 9(3):198-205.

Chen, C., Ouyang, W., Grigura, V., Zhou, Q., Carnes, K. & at al. (2005). ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. *Nature* 436: 1030-1034.

Chen, S. R. & Liu, Y. X. (2015). Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal and spermatocyte meiosis by Sertoli cell signaling. *Reproduction*, 149:159–67.

Clouthier, D. E., Avarbock, M. R., Maika, S. D., Hammer, R. E. & Brinster, R. L. (1996). Rat spermatogenesis in mouse testis. *Nature*. 381: 418–421.

Çerçi, E. & Erdost, H. (2019). Kök Hücre. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*, 14(2): 221-228.

Çevik, M. (2020). *Reprodüktif biyoteknoloji değerlendirme*. Erişim: avys.omu.edu.tr > storage > app > public > mfindik. Erişim tarihi: 20.04.2021

Dadoune, J. P. (2007). New insights into male gametogenesis: what about the spermatogonial stem cell niche? *Folia Histochem. Cytobiol*, 45: 141–147.

Dalğın, D. & Meral, Y. (2017). Stem Cell Therapy As A Regenerative Approach In Veterinary Medicine. *Van Vet J*, 28(2): 117-121.

Dath, C., Van Eyck, A. S., Dolmans, M. M., Romeu, L., Delle Vigne, L., Donnez, J. & Van Langendonck, A. (2010). Xenotransplantation of human ovarian tissue to nude mice:

comparison between four grafting sites. *Human Reproduction*, 25(7):1734–1743.

Demeestere, I., Simon, P., Emiliani, S., Delbaere, A. & Englert, Y. (2009). Orthotopic and heterotopic ovarian tissue transplantation. *Hum. Reprod. Update*, 15, 649–65.

Deak, E., Seifried, E. & Henschler, R. (2010). Homing pathways of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their role in clinical applications. *International Reviews of Immunology*, 29(5): 514–529.

Dobrinski, I., Ogawa, T., Avarbock, M. R. & Brinster, R. L. (1999). Computer assisted image analysis to assess colonization of recipient seminiferous tubules by spermatogonial stem cells from transgenic donor mice. *Mol Reprod Dev*, 53: 142-148.

Dobrinski, I., Avarbock, M. R. & Brinster, R. L. (2000). Germ cell transplantation from large domestic animals into mouse testes. *Mol Reprod Dev*, 57: 270–379.

Dobrinski, I. & Rath, R. (2008). Ectopic grafting of mammalian testis tissue into mouse hosts. *Meth Mol Biol*, 450: 139-148.

Dominici, M., Le Blanc, K. & Mueller, I. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4): 315-317.

Donfack, N. J., Alves, K. A., Araújo, V. R., Córdova, A., Figueiredo, J. R. & et al. (2017). Expectations and limitations of ovarian tissue transplantation. *Zigot*, 25: 391 - 403.

Donnez, J., Dolmans, M.M., Demylle, D., Jadoul, P., Pirard, C. & at al. (2004). Live birth after orthotopic transplantation of cryopreserved ovarian tissue. *Lancet*, 364: 1405–10.

Donnez, J., Dolmans, M.M., Pellicer, A., Diazgarcia, C., Serrano, M. S. & at al. (2013). Restoration of ovarian activity and pregnancy after transplantation of cryopreserved ovarian tissue: a review of 60 cases of reimplantation. *Fertil. Steril*, 99: 1503–13.

Düzağaç, F., Güven, Ü., Açıkgöz, E. & Öktem, G. (2013). Spermatogonial Kök Hücrelerde Kendini Yenileme ve Farklılaşma Sürecinde Etkili Moleküller (*Derleme*). 15(55): 256-260.

Dym, M. (1994). Spermatogonial stem cells of the testis. *Proc Natl Acad Sci*, 91:11287–9.

Elçin, Y. M. (2009). “Embriyonik kök hücreler” Kök Hücre Biyolojisi ve Klinik Uygulamalar, *TÜBA Raporları*, 20: 23-28.

Erol, H. & Arıcan, M. (2008). Atlarda tendinitisin kök hücre ile sağaltımı I: Kök hücre nedir? Veteriner hekimliğinde kullanım alanları nedir? *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 14, 26-31.

Evans, M. J. & Kaufman, M. H. (1981). Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*, 292:154-6.

Filatov, M.A., Khramova, Y.V., Kiseleva, M.V., Malinova, I. V., Komarova, E. V. & Semenova, M. L. (2016). Female fertility preservation strategies: cryopreservation and ovarian tissue in vitro culture, current state of the art and future perspectives. *Zygote*, 24: 635–53.

Fortier, L. A. & Travis, A. J. (2011). Stem cells in veterinary medicine. *Stem Cell Research Therapy*, 1:2-9.

Fransolet, M., Henry, L., Labied, S., Masereel, M.C., Blacher, S. & at al. (2015). Influence of mouse strain on ovarian tissue recovery after engraftment with angiogenic factor. *J. Ova. Res*, 15: 142–146.

Friedenstein, A. J., Gorskaja, U. & Kalugina, N. M. (1976). Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*, 4: 267-274.

Gade, N. E., Pratheesh, M. D., Nath, A., Dubey, P. K., Amarpal, G. & Sharma, T. (2012). Therapeutic potential of stem cells in veterinary practice. *Vet World*, 5(8): 499-507.

Gearhart, J. D. & Addis, R. C. (2010). The use of Animals in Human Stem Cells Research: Past, Present and Future, *ILAR Journal*, 51: 1-2.

George, B. (2011). Regulations and guidelines governing stem cell based products: Clinical considerations. *Perspect Clin Res*, 2:94-96.

Gosden, R. G., Baird, D. T., Wade, J. C. & Webb, R. (1994). Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196°C . *Hum. Reprod*, 9: 597–603.

Guan, K., Nayernia, K., Maier, L. S., Wagner, S., Dressel, R. & at al. (2006). Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis. *Nature*, 440: 1199-1203.

Gül, Ü. (2016). Sağlık Alanında Biyoteknolojik Uygulamalar: Kırmızı Biyoteknoloji. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1): 66-70.

Güneş, A. M. (2005). Kök hücre plastisitesi ve tıptaki kullanım alanları. *Güncel Pediatri*, 36- 42.

Heinrich, A. & De Falco, T. (2019). Essential roles of interstitial cells in testicular development and function. *Andrology*. Published online August 24. Doi: <https://doi.org/10.1111/andr.12703>

Hess, R. A., Cooke, P. S., Hofmann, M. C. & Murphy, K. M. (2006). Mechanistic insights into the regulation of the spermatogonial stem cell niche. *Cell Cycle*, 5: 1164–1170.

Honaramooz, A., Snedaker, A., Boiani, M., Scholer, H., Dobrinski, I. & Schlatt, S. (2002). Sperm from neonatal mammalian testes grafted in mice. *Nature*, 15: 778–781.

Honaramooz, A., Behboodi, E., Megee, S. O. & et al. (2003). Fertility and germline transmission of donor haplotype following germ cell transplantation in immunocompetent goats. *Biol Reprod*, 69: 1260–4.

Honaramooz, A., Megee, S. O., Rathi, R. & Dobrinski, I. (2007). Building a testis: Formation of functional testis tissue after transplantation of isolated porcine (*Sus scrofa*) testis cells. *Biol Reprod*, 76: 43-47.

Hovatta, O., Foudila, T., Sieberg, R., Johansson, K., Von Smitten, K. & Reima I. (1996). Pregnancy resulting from

intracytoplasmic injection of spermatozoa from a frozen-thawed testicular biopsy specimen. *Hum Reprod*, 11: 2472–2476.

Huckins, C. (1971). *The Spermatogonial Stem Cell Population In Adult Rats. Cell Proliferation*, 4:335–349. doi: 10.1111/j.1365-2184.1971.tb01544.x.

İnan, S. & Özbilgin, K. (2009). Kök hücre biyolojisi. *Sağlıkta Birikim Dergisi*, 1: 11-23.

Kanatsu-Shinohara, M., Ogonuki, N., Inoue, K. & et al. (2003). Restoration of fertility in infertile mice by transplantation of cryopreserved male germline stemcells. *Hum Reprod*, 18: 2660-2667.

Kanatsu-Shinohara, M., Takehashi, M. & Shinohara, T. (2008). Brief history, pitfalls, and prospects of mammalian spermatogonial stem cell research. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*; 73: 17-23.

Karaşahin, T. (2012). Embriyonik Kök Hücreler. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.*, 9(1):65-71.

Kim, J. Y. (2012). Control of ovarian primordial follicle activation. *Clin. Exp. Reprod. Med*, 39: 10–14.

King, G. D., Curtin, J. F., Candolfi, M., Kroeger, K., Lowenstein, P. R. & Castro, M. G. (2005). “Gene therapy and targeted toxins for glioma”, *Curr. Gene Ther.*, 5(6): 535-57.

Koerner, J., Nesic, D., Romero, J. D., Brehm, W., Mainil-Varlet, P. & Grogan, S. P. (2006). Equine peripheral blood-derived progenitors in comparison to bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 24: 1613-1619.

Kruse, C., Danner, S. & Rapoport, D. H. (2008). Current stem cell technology: limitations and realistic expectations. *Engineering in Life Sciences*, 8: 13-18.

Lanza, R., Gearhart, J., Hogan, B. & et al. (2009). “*Essentials of Stem Cell Biology II nd Ed.*” Academic Press, ISBN 978-0-12-374729-7.

Lynch, J. (2011). “*What are stem cells? Definitions at the intersection of science and politics*” Tuscaloosa, AL: University of Alabama Press.

Meng, X., Lindahl, M., Hyvönen, M. E., Parvinen, M., De Rooij, D. G., Hess, M. W., Raatikainen-Ahokas, A., Sainio, K., Rauvala, H., Lakso, M., Pichel, J. G., Westphal, H., Saarma, M. & Sariola, H. (2000). Regulation of cell fate decision of undifferentiated spermatogonia by GDNF. *Science*, 287(5457):1489-93.

Morgani, S. M., Canham, M. A., Nichols, J., Sharov, A. A., Migueles, R. P., Ko, M. S., Brickman, J. M. (2013). Totipotent embryonic stem cells arise in ground –state culture conditions. *Cell Rep*, 3: 1945-1957.

Nagano, M., Patrizio, P. & Brinster, R. L. (2002). Long-term survival of human spermatogonial stem cells in mouse testes. *Fertil Steril*, 78: 1225-33.

Nishi, A., Snyder, G. L., Nairn, A. C. & Greengard, P. (1999). Role of calcineurin and protein phosphatase-2A in the regulation of DARPP-32 dephosphorylation in neostriatal neurons. *J. Neurochem*, 72: 2015–2021.

Ogawa, T., Arechaga, J. M., Avarbock, M. R. & Brinster, R. L. (1997). Transplantation of testis germinal cells into mouse seminiferous tubules. *Int J Dev Biol*, 41: 111–122.

Ogawa, T., Dobrinski, I., Avarbock, M. R. & Brinster, R. L. (2000). Transplantation of male germ line stem cells restores fertility in infertile mice. *Nat Med*, 6: 29–34.

Ohbo, K., Yoshida, S., Ohmura, M., Ohneda, O., Ogawa, T., Tsuchiya, H., Kuwana, T., Kehler, J., Abe, K., Schöler, H. R. & Suda, T. (2003). Identification and characterization of stem cells in prepubertal spermatogenesis in mice small star, filled. *Dev Biol*, 1;258(1):209-25.

Özen, A. & Gül Sancak, İ. (2014). Mesenchymal stem cells (Msc) and stem cell applications in veterinary medicine. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 61(1): 79-84.

Özer, A. (Ed.) (2018). *Temel Histoloji*. Bursa: Dora.

Pabuccuoğlu, S. (2021). *Biyoteknoloji Ders Notu*. Erişim tarihi: 20.04.2021

Parrot, D. M. V. (1960). The fertility of mice with orthotopic ovarian grafts derived from frozen tissue. *J. Reprod. Fertil*, 1: 230–41.

Pukazhenth, B., Comizzoli, P., Travis, A. J. & Wildt, D. E. (2006). Applications of emerging technologies to the study and conservation of threatened and endangered species. *Reprod Fertil Dev*, 18(1-2), 77-90.

Radford, J., Shalet, S. & Lieberman, B. (1999). Fertility after treatment for cancer. *BMJ*. 319: 935–936.

Sağsöz, H. & Ketani, M. A. (2008). Kök hücreler. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*: 1(2): 29-33.

Santos, R. R, Knijn, H. M., Vos, P. L. A. M., Oei, C. H. Y., Loon, T. V., Colenbrander, B. & at al. (2009). Complete follicular development and recovery of ovarian function of frozen-thawed, autotransplanted caprine ovarian cortex. *Fertil. Steril*, 91: 1455–8.

Schatten, H. (2007). *Introduction histology, cellular and molecular biology*. In: *Comparative Reproductive Biology*. Ed.: Schatten H, Constantinescu GM, 64-65.

Schubert, B., Canis, M., Darcha, C., Artonne, C., Smits, J. & at al. (2008). Follicular growth and estradiol follow-up after subcutaneous xenografting of fresh and cryopreserved human ovarian tissue. *Fertil. Steril*. 89: 1787–1794.

Seandel, M., James, D., Shmelkov, S. V., Falciatori, I., Kim, J. & at al. (2007). Generation of functional multipotent adult stem cells from GPR125+ germline progenitors. *Nature*; 449: 346-350.

Shetty, G., Uthamanthil, R. K., Zhou, W. & et al. (2013). Hormone suppression with GnRH antagonist promotes spermatogenic recovery from transplanted spermatogonial stem cells in irradiated cynomolgus monkeys. *Andrology*, 1: 886–898.

Silber, S. J. (2016). Ovarian tissue cryopreservation and transplantation: scientific implications. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 33: 1595–1603.

Şahin, İ. (1987). Biyoteknoloji ve Tarım. *Dergipark: Cilt 12*, Sayı 5.

Şahin, F., Saydam, G. & Omay, S.B. (2005). Kök hücre plastisitesi ve klinik pratikte kök hücre tedavisi. *The Turkish Journal of Hematology and Oncology*, 15: 48-57.

Şenel, F. (2002). Kök hücreler. *Bilim ve Teknik Dergisi Şubat (eki)*, 1-15.

Takahashi, K. & Yamanaka, S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult fibroblast Cultures by Defined Factors. *J Cell*, 126: 663- 676.

Tekeli, S., Arısu Naghavi, E., Gökçe, B., Sır, G., Yiğittürk, G., Çavuşoğlu, T. & Uyanıkgil, Y. (2016). Kök hücreler; mezenkimal kök hücreler ve güncel klinik uygulamaları. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*, 1(2): 72-83.

Telomer.com (2022). Telomerin yapısı ve hücre bölünmesi. (12.03.2022 tarihinde <http://www.telomer.com.tr/telomer-nedir/> adresinden ulaşılmıştır.)

Thomson, J. A., Kalishman, J., Golos, T. G., Durning, M., Harris, C. P., Becker, R. A. & et al. (1995). Isolation of a primate embryonic stem cell line. *Proc Natl Acad Sci*; 92: 7844-8.

Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S. & et al. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*; 282: 1145-7.

Thore, C. B., Sudheer, S., Janke, D., Jagodzinska, J., Jung, M. & Adjaye, J. (2008). The origins of human embryonic stem cells: A biological conundrum. *Cells Tissues Organs*. 188: 9–22.

TÜBA Kök Hücre Çalışma Grubu. (2009). Kök hücre biyolojisi ve klinik uygulamalar. *Türkiye Bilimler Akademisi Raporları. Sayı:20*.

Ural, A. U. (2006). Kök hücre. *Türk Ortopedi ve Travmatoloji Birliği Derneği Dergisi*, 5: 3-4.

Van Eyck, A. S., Jordan, B. F., Gallez, B., Heilier, J. F., Van Langendonck, A. & Donnez, J. (2009). Electron paramagnetic resonance as a tool to evaluate human ovarian tissue reoxygenation after xenografting. *Fertil. Steril*, 92: 374–81.

Wikipedia (2022). *Klonlamanın şematize edilmesi*. (10.01.2022 tarihinde <https://tr.wikipedia.org/wiki/Klonlama> adresinden ulaşılmıştır.)

Yanar, S., Açıkgöz, Ş., Şahin, E. & Sarıkaya, A. (2017). Spermatogonial kök hücre / Spermatogonial stem cell. *MMJ*. 4(1): 37-44.

Yılmaz, A. & Gökdağ, Ö. (2010). Allografting and Xenografting of Testis Tissue and Using Possibilities in the Future. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6): 1073-1077. Doi: 10.9775/kvfd.2010.2144

Youm, H. W., Lee, J. R., Lee, J., Jee, B. C., Suh, C. S. & Kim, S. H. (2015). Transplantation of mouse ovarian tissue: comparison of the transplantation sites. *Theriogenology*, 83: 854–61.

Zand, M. & Narasu, M. (2013). “A review article Biotechnology Applications in Medicine”, *Intl. Res. J. Appl. Basic. Sci.*, 4 (9): 2557-2563.

Zheng, Y., Thomas, A., Schmidt, C. M. & Dann, C. T. (2014). Quantitative detection of human spermatogonia for optimization of spermatogonial stem cell culture. *Human Reproduction*, 29(11): 2497-2511.

BÖLÜM VII

Evcil Hayvan Olarak Guinea Pig Besleme

Cahit ÖZCAN¹³

Rahmi DOĞAN¹⁴

İbrahim Halil KESKİN¹⁵

Giriş:

Evcil kobay, dünyanın farklı bölgelerinde çok farklı amaçlarla yetiştirilir. Dünyanın her yerinde popüler evcil hayvan olan, bilimsel araştırmalarda laboratuvar hayvanı olarak kullanılan ve özellikle And Dağları ve Asya ülkelerindeki kırsal nüfus için et kaynağı sağlayan birkaç türden biridir. Ayrıca, And Dağları Bölgesi'nin dağınık kesimlerinde ve Nijerya gibi Afrika ülkelerinde

¹³ Doç. Dr., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıklar ABD, Siirt/Türkiye, Orcid: 0000-0002-1047-5347, cahitozcan@siirt.edu.tr

¹⁴ PhD., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıklar ABD, Siirt/Türkiye, Orcid: 0009-0003-6711-9612, rahmidogan@siirt.edu.tr

¹⁵ Araş. Gör., Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıklar ABD, Siirt/Türkiye, Orcid: 0009-0002-4402-1973, ihalil.keskin@siirt.edu.tr

ata ruhlarıyla ilgili ritüellerde kullanıldığı bildirilmiştir (Onuorah ve Ayo,2003). Kobaylar üç ila altı bin yıl önce, günümüzde Peru olarak bilinen bölgede And Dağları yerlileri tarafından evcilleştirildi ve Güney Amerika'nın her yerinde bir besin kaynağı olarak kullanılmaya devam ediyor. Taksonomik olarak kirpi ve şinşilla ile akrabadırlar. Deneysel olarak ilk kaydedilen deney hayvanı 1777 yılında oksijen tüketimini ve ısı üretimini ölçmek için denek olarak kullanıldı. O zamandan beri, milyonlarca deney hayvanı tıp bilimini geliştirmek ve insanlığa fayda sağlamak için denek olarak kullanıldı (Fawcett ve ark.,2011).

Kobaylar tarih boyunca bilimsel araştırmalar için kullanılmış ve bakım ve beslemesi ile ilgili bilgiler deneysel çalışmalarda kullanılan laboratuvar koşullarına bağlıdır (Ulusal Araştırma Konseyi (NRC,1995). Kobaylar laboratuvar hayvanı olarak kullanılmalarının yanı sıra Gelişmekte olan ülkeler için hayvansal protein kaynağı ve gelişmiş ülkelerde ise hobi hayvanı olarak beslenmektedir(Ngoula ve ark.,2017) Laboratuvar şartlarındaki bakım ve besleme uygulamaları direkt olarak evcil veya üretim çiftliklerine aktarılmamalıdır. Çünkü ilk olarak evcil hayvanlar için bakım uygulamaları laboratuvar koşullarından çok farklıdır ve ikincisi sıcaklık, nem, havalandırma ve patojen maruziyeti açısından evcil kobayların sağlık kontrolleri belli aralıklarla tekrarlanmalıdır(Ngoula ve ark.,2017).

Beslenme gereksinimleri ayrıca cins, yaş, cinsiyet, mevsim ve bakım yönlerine göre de değişiklik gösterir. Son zamanlarda evcil tavşan bakımı ve beslenmesi konusundaki bilgilerimizde önemli derecede artış olsa da, evcil kobay beslenme

gereksinimleri ve ilişkili refah ihtiyaçları hakkındaki kaynaklar ve bilgi birikimi daha sınırlıdır(Meredith 2015; Wills, 2020).

Yabani hayatta kobaylar çoğunlukla ot yerler ve düşük enerjili, yüksek lifli yiyecekleri büyük miktarlarda tüketirler (Reiter, 2008). Kobaylar, tavşanlara benzer şekilde, sürekli uzayan aradiküler elodont dişlerine sahiptir ve diş ve gastrointestinal sağlık için yüksek lifli bir diyetle ihtiyaç duyarlar (Reiter, 2008 ; Meredith, 2015). Diş aşınması, çiğneme sırasında yutulan gıda materyali ile diş oklüzal yüzeyleri arasındaki etkileşime bağlı olarak ortaya çıkar. Yüksek yem fitoliti/silika içeriğine sahip diyetler daha aşındırıcıdır ve mine yüzeyinin aşınmasını artırır (Winkler ve ark., 2019).Kobaylar diğer bir herbivor olan tavşana kıyasla lifli gıdaları daha çok tüketirler ve bu tükettikleri lifli gıdaları daha iyi sindirebilir.Kobaylar için doğada beslenme saatleri öğleden sonra geç saatler ve akşam saatleridir(Franz ve ark., 2011).

Guinea Pig (Kobay) İle İlgili Bazı Anatomik Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler

Kobaylar kısa uzuvlara sahiptir ve geniş gövdeleri vardır. Caviidae familyasındaki türlerin ayırt edici bir anatomik özelliği, ön ve arka ayaklardaki parmak sayısıdır (4 parmak ön ayaklar ve 3 parmak arka ayaklar). Kuyruklar genellikle çok kısadır veya yoktur. Gine domuzunun kısa, düz bir burnu, yanal olarak yerleştirilmiş gözleri ve tüysüz dış kulak kepçesi vardır. Yetişkin kobaylar genellikle 700 ila 1200 g ağırlığındadır ve erkekler dişilerden biraz daha büyüktür. Evcil kobayın ortalama ömrü yaklaşık 5 ila 7 yıldır (Thrall ve ark, 2004).

Küçük hayvanlarda genellikle yüzeysel kan damarları yoktur ve daha derin damarlar genellikle yağlar tarafından engellenir. Lateral safen ven ve sefalik ven gibi çeşitli periferik damarlar, bu türde küçük kan örnekleri için kullanılabilir. Hacimsel olarak daha fazla kana ihtiyaç olduğunda Vena jugularis, vena cava cranialis, vena femoralis bu türde kan örnekleri için kullanılabilir, ancak kobayın kısa [boyunu](#) ve hastanın kısıtlama durumunda strese girmesi, kan toplama için bu noktaların kullanılabilirliğini sınırlar. Bu yan etkilerin önüne geçmek için sedasyon veya anestezi gerekli olabilir. Genellikle tıraş etmek periferik bölgeyi görmeye yardımcı olur. Daha sonraki aşamada alkol kullanmak damarları daha belirgin hale getirir (Dyer ve Cervasio, 2008).

Gine domuzları genellikle uysaldır. Buna rağmen anestezi olmadan, kobaylardan kan ve idrar örnekleri almak zordur. Çünkü güvenli bir şekilde tutulmaya direnç gösterirler ve kısa bacakları periferik damarlara erişimi zorlaştırır(Hrapkiewicz ve Medina, 2007).

Yetişkin kobayın kan hacmi vücut ağırlığının kilogramı başına yaklaşık 69 ila 75 ml'dir ve kan hacminin yaklaşık %8 ila %10'u tek bir uygulamada güvenli bir şekilde alınabilir. Kobayların diğer kemirgenlere kıyasla daha büyük eritrositleri vardır ve polikromazi ve makrositoz rejeneratif anemiler karakteristiktir(Hrapkiewicz ve Medina, 2007).

BARINMA KOŞULLARI

Evde Bakım ve Barındırma Koşulları

Kobaylar hobi amaçlı veya bazı hastalıklara sahip insanlara refakatçi olarak ev ortamında yetiştirilir. Kobaylar sosyal canlılar

oldukları için evde bakımı kolaydır. Kobayların pet hayvanı olarak yetiştiriciliği daha çok ekonomik olarak refaha ulaşmış Avrupa ülkelerinde görülür. Birleşik Krallık'ta popüler evcil hayvan olarak bakılan kobayların sayısı son nüfus tahminlerine göre 400.000 ila 1 milyon arasındadır (toplam evcil hayvan nüfusunun yaklaşık %1,3 ila %2'si) (UK Pet Food 2023).

Deney hayvanlarının normal davranışları arasında yürüme, koşma, tünel kazma, esneme, bir barınağa çekilme, yiyecek arama, kemirme ve sıçrama bulunur (Johnson 2006).

Kobayların kalacağı kafes veya bölmelerde yatak malzemeleri, iyi kaliteli yumuşak beyaz odun talaşı veya yumuşak çayır otu gibi emici yapıya sahip bir malzeme katmanından oluşmalıdır. Talaş yerine parçalanmış kağıt veya sentetik polar kumaş da kullanılabilir. Kenevir bazlı diğer ürünler de mevcuttur. Seçilen yatak, solunum problemlerini önlemek için tozdan arındırılmış olmalıdır. Yatak malzemesinin hayvanın yemesini önlemek için kullanılan kimyasallarla işlenmemiş olmasına dikkat edilmelidir, çünkü bunlar bir kobay için zararlı olabilir. Duvarlara yakın kalma eğilimi olan tigmotaksis sergilerler. Bu nedenle geniş, açık alanlar bu türde kaygıya neden olabilir. Hayvanlar tel kafeslerde besleniyorsa sağlam zemine sahip olmalıdır, çünkü tel zemin atıkların düşmesini sağlarken deney hayvanlarını uzuv kırıklarına, bası yaralarına ve pododermatitise yatkın hale getirir. Ahşabın temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi zordur. Dayanıklı, toksik olmayan plastik zemin idealdir. 450 g'ın üzerindeki deney hayvanları için zemin alanı en az 2500 cm² olmalı ve 700 g'ın üzerindeki her bir deney hayvanı için ek 900 cm² olmalıdır (Johnson 2006).

Gebe dişi kobaylarda, gebelik toksemisi riskini azaltmak ve egzersiz yapmaları sağlamak için bolca alan verilmelidir. Muhafazalar en az 25 ila 30 cm yüksekliğinde olmalıdır. Ek olarak, kobaylar kapalı, tehlikesiz bir egzersiz alanında gözetimli olarak bakılabilir. Dış ortamlarda yetiştirilen kobayların muhafazaları köpeklerin, kedilerin, tilkilerin ve diğer yırtıcıların dışarıda tutacak kadar güçlü olmalıdır. Kobaylara iyi havalandırılan bir kafes içi barınak sağlanmalıdır (Johnson, 2006).

Kulübeler ve kafesler haftada birkaç kez temizlenmelidir. Gine domuzları çok dağınıktır, genellikle yiyecek ve suluklar da dahil olmak üzere barındıkları yerlerin her yerine ayırım gözetmeksizin tuvaletlerini yaparlar. Diğer kemirgenlerin aksine, odun talaşı gibi iyi bir altlık tabakası fazla miktarda sağlandığı sürece yuvalama malzemesi gerekmez. Kobaylara saklanmak ve üzerine basmak için ek saman da sağlanmalıdır. Fakat saman, hızla nemlendiği ve ayrıca göz ve erkek genital bölgesinde yaralanmalara neden olduğu için ideal bir yataklık malzemesi değildir (Johnson, 2006).

Kobaylar aşırı sıcaklıklardan korunmalıdır. Gine domuzları, fazla ısı ve soğuğa karşı oldukça hassastır. 25 °C'nin üzerindeki veya 17 °C'nin altındaki sıcaklıklara uzun süre maruz kalmaları, dişi domuzlarda düşükle sonuçlanabilir. İdeal ortam sıcaklığı 16 ila 24 °C'dir ve optimum nem %40 ila %60 aralığında olmalıdır. Gine domuzları, sahiplerinin çıkardığı seslere, buzdolapları ve makinelerin ürettiği sesler de dahil olmak üzere çevreden gelen seslere karşı çok duyarlıdır(Fawcett ve ark., 2011).

Kobaylar tek başlarına barındırılmamalıdır, sürü hayvanlarıdır ve izole edildiklerinde strese girerler. Kafeste barındırılan daha düşük sosyal rütbedeki kobaylar baskın kafes arkadaşları tarafından şiddete maruz kalabilir ve bu durum deride alopesia lekelerine yol açabilir. Serbestçe saman sağlamanın bazı vakaları azalttığı, hatta ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir (Fawcett ve ark., 2011).

Genellikle saldırgan değildir (bazıları meraktan hafifçe ısırır), onları ideal evcil hayvanlar yapan mükemmel bir mizaca sahiptirler. Deney domuzu veya kobay (*Cavia porcellus*) popüler bir evcil hayvan olmaya devam etmektedir, ancak küçük hayvan muayenehanelerinde nispeten nadiren görüldüğü için genellikle egzotik bir tür olarak kabul edilir (Fawcett ve ark., 2011).

Muayene sırasında hayvanı zapt etmek için resim 1’de görüldüğü gibi genellikle hayvanın sırtına bir el koymak, muayene masasında tutmak için yeterlidir. Taşımamız gereken durumlarda ise, bir elinizle göğüs ve karın altına koyarak vücudunu desteklemek ve diğer elinizi de hastanın düşmesini veya zıplamasını önlemek için sırtına koymak yeterli olacaktır (O'Rourke, 2009).



Resim 1: Kobay muayene yöntemi (Mitchell ve Tully, 2008).

Çiftlik Şartlarında Gineu Pig Bakımı

Kobay beslemek mikro hayvancılığın bir türüdür. Küçük çiftçilerin besleme koşullarına uyan çok sayıda faydaya sahip küçük hayvan türleridir(NRC 1991; Desiere ve ark., 2015). Gelişmekte olan ülkelerde kobay yetiştiriciliğine olan ilgi katlanarak artmaktadır. Çünkü kobay, iç tüketim için düzenli yüksek kaliteli hayvansal protein kaynağı sağlamakta, gıda güvenliğine katkıda bulunmakta ve nüfus için küçük ama önemli bir ekonomik gelir sağlamaktadır(Ngoula ve ark., 2017). Her yerde bulunmaları ve yakalanmalarının kolay olması nedeniyle kemirgenler, özellikle yiyecek kıtlığı zamanlarında, çağlar boyunca insanlık için yiyecek olarak hizmet etmiştir(Fiedler, 1990). Kobaylar, en az 3000 yıldır And Dağları'ndaki insanların bir kısmı için temel besin kaynağıdır(Kyle, 1994). Kobay birçok ülke ve kültürde evcil hayvan olarak kabul edilmesinin yanında, And ülkelerinde üretilen kobayların çoğu et kaynağı olarak tüketilmekte ve diğer komşu ülkelere ihraç edilmektedir. Bununla birlikte, kobay eti tüketimi tavuk, domuz veya sığır eti gibi diğer geleneksel et türleriyle

karşılaştırıldığında farklı bir besin kaynağıdır. Deney hayvanının kör bağırsağının, sığır gastrointestinal sistemindekilere benzer kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonları içerdiği gösterilmiştir (Henning ve Hird, 1970).

Deney hayvanları, onları çekici bir protein kaynağına dönüştüren çeşitli özelliklere sahiptir. Yoğun yem takviyesine ihtiyaç duymayan otçullardır. Bu türün hacimli bir kör bağırsağı ve kolonu vardır, bu anatomik özellik lifli gıdalardan faydalanmayı en üst sınırlara çıkarır (Sánchez-Macías ve ark., 2018).

Besleme

Yabani hayatta kobaylar çoğunlukla ot yerler ve düşük enerjili, yüksek lifli yiyecekleri büyük miktarlarda tüketirler(Reiter, 2008). Kobaylar, tavşanlara benzer şekilde, sürekli uzayan aradiküler elodont dişlerine sahiptir, bu özellik onların sert gıdaları kemirebilmesini sağlar. Diş ve gastrointestinal sağlık için yüksek lifli bir diyetle ihtiyaç duyarlar (Reiter 2008; Meredith, 2015). Diş aşınması, çiğneme sırasında yutulan gıda materyali ile diş oklüzal yüzeyleri arasındaki etkileşime bağlı olarak ortaya çıkar. Yüksek yem fitoliti/silika içeriğine sahip diyetler daha aşındırıcıdır ve mine yüzeyinin aşınmasını artırır(Winkler ve ark., 2019). Kobaylar diğer bir herbivor olan tavşana kıyasla lifli gıdaları daha çok tüketirler ve tükettikleri lifli gıdaları daha iyi sindirirler. Kobaylar için doğada beslenme saatleri öğleden sonra geç saatler ve akşam saatleridir(Franz ve ark., 2011).

Evcil kobaylar genellikle iyi kalitede saman, yeşil sebzeler, taze otlar, kök sebzeler ve konsantrelerle beslenir(Fawcett,2011). Kesici diş aşınmasını teşvik etmek için bu lifli gıdaları tüketmeleri

gerekir. Yiyecek arama davranışını teşvik etmek ve çevresel zenginleştirme sağlamak için yiyecekler dağıtılabilir (Rspca, 2011). İyi kaliteli çayır otu ad libitum, dağınık olarak hayvanlara sunulabilir(Fawcett,2011).

Taze su her gün bir kaseden veya şişeden sunulmalıdır. Diyetin kuru maddesi arttıkça tüketilen su miktarı da artar. Tavşanlarda, su bir kaseden sunulduğunda su alımı artar (Tschudin ve ark., [2011](#)). Yukarıda ortaya konulan araştırmadan farklı olarak su tüketiminin artmasını sağlamak için meme ucu suluklarının yani su şişelerinin kullanılmasının daha etkili olduğunu savunan araştırmalarda vardır(Balsiger ve ark., [2017](#)).

Yavru Guinea Piglerin Beslenmesi

Kobay yavruları diğer rodentlerden farklı olarak vücutları gelişmiş olarak dünyaya gelirler. Fizyolojik olarak enerji depolarından mahrum doğdukları için, doğum sonrası yavrular hipotermiye açıktır. Bundan dolayı vücut ısılarını regüle etmek için annelerinin sütünden aldıkları enerji hayati rol oynar. Gözleri açık tüyleri çıkmış olan yavrular aktif şekilde hareket ederek annelerinden süt emmeye başlar annelerinin hareketlerini takip ederek çevrelerini tanırlar. Anne sütü, yavruların ilk haftalarda ihtiyaç duydukları tüm besinleri sağlar. Guinea pig yavruları sağlıklı bir beden ve zihin sağlığı için oyun oynamaya ihtiyaç duyar, insanlarla iletişim kurarak sosyal becerilerini artırır. Dişleri oluşmuş olarak dünyaya gelen yavrular genellikle 4 veya 5 günlük yaşta katı yiyecekler yemeye başlarlar. Yavrular, doğumdan yaklaşık 3 hafta sonra tamamen katı gıdalara geçiş yapabilir. Erkekler ortalama olarak yaklaşık 4 hafta sonra ergenliğe ulaşırlar(Campos ve ark.,2012).



Resim 2 : Yavru Kobayların Beslenmesi(Fawcett, 2011).

Gebe Guinea Pig Beslenmesi

Kobaylarda uterus kassel yapıya sahiptir. Uterus anatomik olarak önden ovidukt arkadan vagina dorsalden kolon ile sınırlandırılmış olup, büyük kısmı karın boşluğunda küçük bir kısmı pelvis boşluğunda bulunur. Uterus ligamentum latum uteri ile sublumbal bölgeye bağlıdır. Yumurtalıktan serbest kalan ovum uterusun endometriumuna implante olur (Bahadır ve Yıldız, 2008; Dursun, 2008).

Dişiler 6 haftalıkken cinsel olgunluğa ulaşırlar. [Gebelik süresi](#), diğer kemirgenlerle karşılaştırıldığında uzun olup 68 gündür. [Bu uzun gebelik süresinin](#) bir sonucu olarak, yavrular gelişmiş olarak dünyaya gelir. Genç domuzlar genellikle 4 veya 5 günlük yaşta katı yiyecekler yerler. Yavru sayıları 1 ila 6 arasında değişir ve ortalama 3 ila 4 yavru doğurur. Bir diş kobay, ilk yavrularını 6 aylık olmadan doğurmalıdır. 6 aylıktan önce doğum gerçekleşmemişse, [pubis simfizi](#) mineralize olur ve gelecekteki

gebelikler dişi domuzun yavruları doğal olarak doğuramamasına neden olur. 6 aylıktan sonra hamile kalan dişi kobayların kaçınılmaz olarak [sezaryen](#) doğum yapması gerekir (Riggs, 2009).

Laboratuvar koşulları altında, evcil kobaylar tüm yıl boyunca ürerler. Üreme performansında mevsimsel farklılıklar görülebilir (Rood ve ark., 1970).

Gebe kobayların beslenmesi ilerde doğacak yavruların canlı ağırlığı üzerine etkilidir. Yavru için gerekli besinler uterus-plesenta kan dolaşımı ile anneden yavrulara geçer. Kobaylarda gebelik ilerledikęe yavruların besin ihtiyaçı da artar. Fetal büyüme gebeliğin 45-68. Günlerinde en üst seviyeye çıkar. Gebeliğin bu döneminde kobayların beslenmesine ayrı özen gösterilmelidir. Fötal dönemdeki besleme; yavruların canlı doğum ağırlığı, hayatta kalma oranı ve doğum sonrası canlı ağırlık artışı üzerine etkilidir. Kobayların enerji gereksinimleri gebelikte %16 iken emzirme döneminde ise hayvanın gebe olmadığı döneme göre %92 daha fazladır (Campos ve ark.,2012).

Kobaylarda vagina açıklığı diğer memeli hayvanlardan farklı olarak dairesel değil U şeklinde dir (AlSaffar ve Al-Ebbadi, 2020).

Dişi kobaylarda serviks iki internal servikal açıklık, bir eksternal açıklıkla son bulur. İntestinal ve üriner kanallar fossa anovaginoüethralis denen bir oluğa açılır. Vaginanın alt son kısmı epitelyal membran ile sarılı olup, östrusta ve doğum sırasında periyodik olarak açılır (Hafez, 1987).

Guinea Pig Beslemede Kullanılan Ham Maddeler ve Kullanımında Dikkat Edilecek Noktalar

- Yeşil sebzeler (günde yaklaşık bir çay fincanı) lahana, kara lahana, hindiba, tere, roka, bahar yeşillikleri, çin lahanası, pazı, kereviz yaprakları ve havuç uçları
- Karahindiba yaprakları, yer elması, inek maydanozu, fesleğen, adaçayı, nane ve kişniş gibi taze otlar ve yabani bitkiler
- Kurutulmuş otlar
- Pellet konsantreler (günde bir yemek kaşığı)
- Bazen ödül olarak tüketilen yiyecekler – brokoli, karnabahar, ıspanak, kereviz, taze fasulye, kök sebzeler (havuç, pancar)
- Her gün şişe ve kaptan sunulan temiz içme suyu verilmeli
- Kobaylar değişikliği sevmediklerinden, diyet değişiklikleri kademeli olarak yapılmalıdır
- Kesici dişlerin aşınmasını teşvik etmek için her zaman kemirebileceği nesneler sağlanmalıdır. Yem arama davranışını teşvik etmek için yemler dağıtılmalıdır (Keeble ve Meredith, 2009 ; Witkowska ve ark.,[2017](#)).

Kobaylar L- gulonlaktonu L-askorbik aside dönüştürmek için gerekli olan L-gulonolakton oksidaz enziminden mahrumdurlar. Bundan dolayı C vitaminini vücutlarında sentezleyemezler.C vitaminini ekzojen olarak diyetle karşılamak zorundadır (10 mg/kg/gün). Bu ihtiyaç C vitamini bakımından zengin yeşil yemler veya hazır konsantre yemler sunularak ekzojen olarak karşılanabilir(Frikke-Schmidt ve ark.,[2016](#), Witkowska ve ark.,[2017](#)).

Guinea Pig Bakım ve Beslemede Görülen Bazı Hastalıklar

Guinea Pigler özenli koşullarda bakıldıklarında genel olarak hastalıklara karşı dayanıklı olsalarda bazı metabolik ve beslenme hastalıkları görülebilir.

Gebelik Toksimisi

Gebelik toksemisi genellikle gebe kobaylar da gebeliğin son 2 haftasında görülür. Diğer türlerde olduğu gibi, gebelik toksemisi negatif enerji dengesi nedeniyle yağ mobilizasyonu sonucu oluşur. Gebelik toksemisi yaşayan kobaylar genellikle aşırı kiloludur ve anoreksiye yatkındır. Klinik belirtiler arasında uyuşukluk, dispne ve anoreksi bulunur ve genellikle birkaç gün içinde ölüm oluşabilir. Tedavide beslemeyi düzeltmek, elektrolit serumlar uygulamak ve fırsatçı enfeksiyonlarla mücadele etmek gerekir. Prognoz genellikle kötü kabul edilir çünkü birçok tedaviye yanıt vermez(Mitchell ve Tully, 2008).

Gebelik toksemisinden korunmak için Tüm kobaylar kaliteli bir diyetle beslenmeli ve obeziteyi önlemek için dikkatli olunmalıdır. Taze sebzelerle beslemekte fayda vardır. Bu sayede hayvanlar çeşitli diyetlere alışacak ve yeni yiyecekler sunulduğunda reddetme olasılığı azalacaktır. Taze su her zaman ad libitum olarak verilmeli ve çevresel, fiziksel ve sosyal streslerden, özellikle de gebeliğin son dönemlerinde uzak tutulmalıdır (Mitchell ve Tully, 2008).

Isı Stresi

Kobaylar ısı stresine karşı hassastır. Açık havada tutulan kobaylar 21 ila 24 °C (70 ila 75 °F) yetiştirilir, çevre ısının 24 derecenin üzerine çıkması ile sıcaklık stresi oluşur. Isı stresi oluşan kobaylar, termoregülasyonu sağlamak için bol miktarda salya akıtırılar. Isı stresi durumunda sık-hızlı solunum, soluk mukoza zarları ve yüksek rektal sıcaklık gözlenen semptomlar arasındadır. Bu belirtileri koma ve ölüm izleyebilir. Tedavi soğuk su banyolarını, kortikosteroid ve parenteral sıvı uygulamalarını içerir. Prognoz semptomlar ortadan kaldırılmadığında kötüdür (O'Rourke, 2009).

Ürolitiyazis

[Ürolitiyazis](#) [evcil kobaylarda](#) yaygın olarak görülür ve hastalıkla ilişkili yaygın klinik belirtiler arasında [strangüri](#) ve [pollaküri](#) , idrar yaparken ses çıkarma ve [hematüri bulunur](#) . Bu durumun altta yatan nedenleri tam olarak anlaşılmamıştır ancak muhtemelen genetik yatkınlık ve yüksek kalsiyumlu bir diyetin varlığı ile ilişkilidir. İdrar taşı oluşumuyla ilişkili diğer altta yatan etiyolojiler arasında üreter neoplazmaları (örn.papillom) bulunur (Stieger ve ark., 2003). Taşlar öncelikle kalsiyum karbonattan oluşur, ancak magnezyum amonyum fosfat hekzahidrat ve kalsiyum fosfat taşları da oluşabilir. Böbreklerde, üreterlerde [mesanede](#) veya [üretrada](#) buluna bilen idrar taşlarının yerini doğrulamak için radyografik veya [ultrasonografik görüntülemelerden yararlanılır](#). İdrar yolu taşları genellikle cerrahi olarak çıkarılması gerekir. Ayrıca taşın bileşimini analiz etmek ve sonrasında taşın bileşimine göre diyetin düzenlenmesi gerekir. Böylece tekrar taşın oluşması önlenebilir(Quesenberry, 1994).

Diyet

Uygun bir kobay diyeti, yüksek kaliteli otlar (örneğin, çayır kelp kuyruğu, yulaf) ad libitum ve bol miktarda taze sebze içerir. Hayvanın [gıda alımı](#), tüketilen kaloriden ziyade tüketilen hacme daha fazla bağlı olduğundan, ağırlıklı olarak peletlenmiş bir diyetle (daha yüksek besin konsantrasyonu) beslenen bir evcil hayvanın obez olma eğilimi vardır. Meyveler ve tahıllar, eğer sunuluyorsa, toplam diyetin çok küçük bir bölümünü (% <10) oluşturmali ve sadece ikram olarak sunulmalıdır (Heatley ve ark., 2009).

KAYNAKÇA

National Research Council, Division on Earth, Life Studies, & Committee on Nutrient Requirements of Swine. (2012). Nutrient requirements of swine.

MEREDITH, A. (2015) Guinea pigs: common things are common. *Vet Record* 177, 198–199.

WILLS, A. P. (2020) Impact of husbandry on the welfare of pet guinea pigs in the UK. *Vet Record* 186, 279–281.

Meredith, AL, Prebble, JL ve Shaw, DJ (2015). Evcil tavşanlarda kesici dişlerin büyümesi ve aşınması ve diş hastalığının gelişimi üzerine diyetin etkisi. *Küçük Hayvan Uygulamaları Dergisi* , 56 (6), 377-382.

Wills AP. Impact of husbandry on the welfare of pet guinea pigs in the UK. *Vet Rec.* 2020 Mar 7;186(9):279-281. doi: 10.1136/vr.m743. PMID: 32139628.

Reiter, A. M. (2008). Pathophysiology of dental disease in the rabbit, guinea pig, and chinchilla. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 17(2), 70-77.

Meredith, A. (2015). Guinea pigs: common things are common. *The Veterinary Record*, 177(8), 198.

Winkler, D. E., Schulz-Kornas, E., Kaiser, T. M., De Cuyper, A., Clauss, M., & Tütken, T. (2019). Forage silica and water content control dental surface texture in guinea pigs and provide implications for dietary reconstruction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(4), 1325-1330.

Franz, R., Kreuzer, M., Hummel, J., Hatt, J. M., & Clauss, M. (2011). Intake, selection, digesta retention, digestion and gut fill of two coprophageous species, rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and guinea pigs (*Cavia porcellus*), on a hay-only diet. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 95(5), 564-570.

Board on Science, & Technology for International Development. (1991). *Microlivestock: Little-Known Small Animals with a Promising Economic Future*. National Academies Press.

Desiere, S., D'Haese, M., & Niragira, S. (2015). Cow or goat? Population pressure and livestock keeping in Burundi. *Agrekon*, 54(3), 23-42.

Ngoula, F., Tekam, M. G., Kenfack, A., Tchingo, C. D. A. T., Nouboudem, S., Ngoumtsop, H., ... & Tchoumboue, J. (2017). Effects of heat stress on some reproductive parameters of male cavie (*Cavia porcellus*) and mitigation strategies using guava (*Psidium guajava*) leaves essential oil. *Journal of Thermal Biology*, 64, 67-72.

Fawcett, A. (2011). Management of husbandry-related problems in guinea pigs. *In Practice*, 33(4), 163-171.

Gıda, UP (2023). İngiltere evcil hayvan nüfusu. URL <https://www.ukpetfood.org/information-centre/statistics/uk-pet-population.html> (erişim tarihi 14 Kasım 2023) .

Johnson, P. (2006) Bilimsel kurumlarda kobayların barındırılmasına ilişkin kılavuzlar .

Fawcett, A. (2011). Management of husbandry-related problems in guinea pigs. *In Practice*, 33(4), 163-171.

Ngoula, F., Tekam, M. G., Kenfack, A., Tchingo, C. D. A. T., Nouboudem, S., Ngoumetsop, H., ... & Tchoumboue, J. (2017). Effects of heat stress on some reproductive parameters of male cavie (*Cavia porcellus*) and mitigation strategies using guava (*Psidium guajava*) leaves essential oil. *Journal of Thermal Biology*, 64, 67-72.

Fiedler, L. A. (1990). Rodents as a food source. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 14, No. 14).

Onuorah, C. E., & Ayo, J. A. (2003). Food taboos and their nutritional implications on developing nations like Nigeria—a review. *Nutrition & Food Science*, 33(5), 235-240.

Henning, SJ ve Hird, FJR (1970). İki kanguru ve kobay türünün fermantasyon organlarındaki uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonları ve metabolizması. *British Journal of Nutrition* , 24 (1), 145-155.

Sakaguchi, E., Becker, G., Rechkemmer, G., & Engelhardt, W. V. (1985). Volume, solute concentrations and production of short-chain fatty acids in the caecum and upper colon of the guinea pig.

Tschudin, A., Clauss, M., Codron, D., & Hatt, J. M. (2011). Preference of rabbits for drinking from open dishes versus nipple drinkers. *The Veterinary Record*, 168(7), 190.

Balsiger, A., Clauss, M., Liesegang, A., Dobenecker, B., & Hatt, J. M. (2017). Guinea pig (*Cavia porcellus*) drinking preferences: do nipple drinkers compensate for behaviourally deficient diets?. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 101(5), 1046-1056.

Frikke-Schmidt, H., Tveden-Nyborg, P., & Lykkesfeldt, J. (2016). L-dehydroascorbic acid can substitute l-ascorbic acid as dietary vitamin C source in guinea pigs. *Redox biology*, 7, 8-13.

Witkowska, A., Price, J., Hughes, C., Smith, D., White, K., Alibhai, A., & Rutland, C. S. (2017). The effects of diet on anatomy, physiology and health in the guinea pig. *Journal of Animal Health and Behavioural Science*, 1(1), 1-6.

Flecknell, P. (2002). Guinea pigs, BSAVA manual of exotic pets, 2002, No. Ed.4, 52-64.

Hafez, E. (1987). Reproduction in farm animals. 5 th (ed.) Lea andFibiger. *Philadelphia*. pp, 457-461.

Rood JP, Weir BJ. Reproduction in female wild guinea-pigs. *J Reprod Fertil*. 1970 Dec;23(3):393-409. doi: 10.1530/jrf.0.0230393. PMID: 5492025.

Campos, P. H. R. F., Silva, B. A. N., Donzele, J. L., Oliveira, R. F. M., & Knol, E. F. (2012). Effects of sow nutrition during gestation on within-litter birth weight variation: a review. *Animal*, 6(5), 797-806.

Bahadır, A.,Yıldız, H. (2008). Veteriner Anatomi. Bursa, Ezgi Kitabevi.

Dursun, N. (2008). Veteriner Anatomi. Ankara, Medisan Yayınevi.

Riggs, S. M. (2009). Guinea pigs. In *Manual of exotic pet practice* (pp. 456-473). WB Saunders.

O'Rourke, D. P. (2009). Disease problems of guinea pigs. *Ferrets, rabbits, and rodents*, 245.

Quesenberry, K. E. (1994). Guinea pigs. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 24(1), 67-87.

Verstraete, F. J. (2003, January). Advances in diagnosis and treatment of small exotic mammal dental disease. In *Seminars in Avian and exotic pet medicine* (Vol. 12, No. 1, pp. 37-48). WB Saunders

Sánchez-Macías, D., Barba-Maggi, L., Morales-delaNuez, A., & Palmay-Paredes, J. (2018). Guinea pig for meat production: a systematic review of factors affecting the production, carcass and meat quality. *Meat science*, 143, 165-176..

Al-Saffar¹, F.J., Al-Ebbadi , Hazim, N.H. (2020). Histomorphological and Histochemical Investigation of the Vagina of Adult Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). The Iraqi Journal of Veterinary Medicine, 44 (1): 10-17.

Mitchell, M., & Tully, T. N. (2008). *Manual of exotic pet practice*. Elsevier Health Sciences.

Stieger, S. M., Wenker, C., Ziegler-Gohm, D., & Flückiger, M. (2003). Ureterolithiasis and papilloma formation in the ureter of a guinea pig. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 44(3), 326-329.

Quesenberry, K. E. (1994). Guinea pigs. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 24(1), 67-87.

