

BİYOLOJİK SÜREÇLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE BİYOBELİRTEÇLERİN KULLANIMI VE GÜNCEL ÖNEMİ

Editör
EFE KURTDEDE



BİDGE Yayınları

**BİYOLOJİK SÜREÇLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE
BİYOBELİRTEÇLERİN KULLANIMI VE GÜNCEL ÖNEMİ**

Editör: EFE KURTDEDE

ISBN: 978-625-372-841-0

1. Baskı

Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL

Yayınlama Tarihi: 18.11.2025

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



İÇİNDEKİLER

KEDİ VE KÖPEKLERDE HEPATİK FONKSİYONLARIN BİYOBELİRTEÇLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE HEPATİK LİPİDOZ	4
EFE KURTDEDE	4
DAMLANUR ÇOBAN.....	4
KÖPEK VE KEDİLERDE PERİODONTAL DOKU HASTALIKLARINDA DEĞERLENDİRMELER	19
EFE KURTDEDE	19
DOĞU TURGUT	19
GDO BİYOBELİRTEÇLERİ VE FONKSİYONEL ÖNEMİ	31
EBRU EKİZCE.....	31
BERİN SALMANOĞLU.....	31

KEDİ VE KÖPEKLERDE HEPATİK FONKSİYONLARIN BİYOBELİRTEÇLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE HEPATİK LİPİDOZ

EFE KURTDEDE¹
DAMLANUR ÇOBAN²

Karaciğer vücudun en büyük organlarından biridir. Karaciğerin yapısında bulunan başlıca hücreler hepatositler, sinüzoidal hücreler ve biliyer epitelyumdur. Sinüzoidal endotel hücreleri, Kupfer'in yıldız hücreleri ve lenfositler hepatik parankimin yaklaşık %60'ını oluşturur. Karaciğerin başlıca temel biyokimyasal işlevleri plazma proteinlerinin sentezi, karbonhidratların katabolizması ve depolanması, lipidlerin parçalanması, birçok toksik ajanın detoksifikasyonu ve atılımı ve safranin oluşumu ve atılımıdır. Ayrıca karaciğer vücutta süregelen yüzlerce farklı metabolik aktivitede de görev alır. Portal ven yoluyla karaciğere gelen metabolitler karaciğer tarafından vücutta kullanışlı biyomoleküllere dönüştürülerek metabolizmaya kazandırılır (Kozat ve Sepehrizadeh 2017, Mann ve ark. 1998, Simon 2009).

¹ Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0001-8436-3332

² Doktora Öğrencisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Biyokimyası, Orcid: 0009-0006-2190-0712

Karaciğerin yapısını oluşturan hücrelerin aktivitelerini, safranin sentezinde, depolanmasında ve ekskresyonunda rol oynayan yapılarda ortaya çıkan patolojilerin ve karaciğer fonksiyonlarında aksaklıklara yol açan intrahepatik ve ekstrahepatik kan dolaşımı bozukluklarının değerlendirilmesinde kullanılmak üzere birçok test kitleri geliştirilmiştir. Hekimler uygulamalarında bu test kitlerini kullanarak hastalarında hepatositlerin fonksiyonları ve membran bütünlükleri, portal dolaşım, hepatobiliyer ve enterohepatik dolaşım sistemlerinin işleyişleri hakkında değerli veriler elde etmektedirler. Karaciğer fonksiyon olarak metabolizmada merkezi bir organ olarak rol oynar. Karaciğerin yapısındaki hücrelerin iç içe geçmiş fonksiyonel ilişkilerinin bulunması nedeniyle karaciğer fonksiyonlarını etkileyen intrahepatik ve ekstrahepatik bozuklukların klinik bulguları ve kan serumu analiz sonuçları sıklıkla birbirleriyle örtüşmektedir (Comazzi ve ark. 2004).

Enzimler hücrelerin zarında, sitoplazmasında veya mitokondrisinde bulunur. Bir enzimin kana giriş hızı onun inaktive olma veya uzaklaştırılma hızını aştığında, enzimin serumdaki aktivite düzeyi artar. Serum enzim aktivite düzeyindeki artış ve azalışlar enzimlerin hasarlı hücrelerden sızma düzeyi, enzimlerin sentezlerinin indüklenmesi veya redüksiyonu ve böbreklerden atılım düzeylerine göre değişiklik gösterir (Boyer ve ark. 1983, Stockham ve Scott 2004).

Küçük hayvan hekimliğinde karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan başlıca enzimler alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), sorbitol dehidrogenaz (SDH), glutamat dehidrogenaz (GLDH), laktat dehidrogenaz (LDH), alkalın fosfataz (ALP), gama glutamiltransferaz (GGT), kreatin kinaz (CK), lipaz, amilaz ve tripsin benzeri immün reaktivite (TLI)'dir. Karaciğer ile ilgili bozuklukların patofizyolojilerin daha ayrıntılı olarak

değerlendirilebilmesi amacıyla son yıllarda geliştirilmiş olan bazı biyobelirteçler ise sitokeratin, 7, 8, 18, 19, desmin, düz kas aktini, CD 3, CD 34, 31, podoplanin, myokardın, alfa fetoprotein ve vimentin'dir (Kruitwagen ve ark. 2014).

Bir ara epitel filament proteini olan sitokeratin 7 genellikle safra yolu epitel hücreleri ve bazı epitelyal hücre tiplerinde bulunur. Bu enzim karaciğerde normal hepatositlerde genelde düşük/negatif aktivite gösterirken, safra kanalı hücreleri ve karaciğerdeki bazı rejeneratif/progenitör hücrelerde pozitif aktivite gösterir.

Karaciğerde duktopenia'ya/kolestaz'a neden olan bozukluklarda hepatositlerde anormal CK7 pozitifliği ortaya çıkar (Liu and Yang et al., 2022).

Karaciğerde basit epitelyal keratin alt tipi olarak isimlendirilen ve bol miktarda üretilen CK8 enzimi hepatositlerde CK18 enzimiyle dimerize olur. CK8 hepatositlerin yapısal bütünlüğünün sağlanmasında görev olan bir enzim olup serum CK8/18 düzeyindeki değişikliklerin hepatotoksositeyle ve karaciğer hasarıyla ilişkili olabileceği değerlendirilmiştir. Bu nedenle CK8/18 enzimlerinin düzeyleri deneysel karaciğer hasarı ve toksitesi çalışmalarında izlenen önemli parametrelerdir (Zatloukal et al. 2000; Kakehashi et al. 2009). Hepatositik ara filamentlerin başlıca bileşeni olan CK18'in parçalanmış fragmentlerinin serumdaki düzeyleri karaciğer hücrelerindeki yıkımın (apoptoz/nekroz) derecelendirilmesi amacıyla ölçülmektedir. CK-18 (özellikle caspase-cleaved fragmentleri olan M30 ve total CK-18 olan M65) hepatoselüler hasarı/apoptozu gösteren non-invaziv bir biyomarker olarak birçok çalışmada araştırılmıştır. Bu enzimlerin düzeyleri NAFLD/NASH bozukluklarında, ilaç kaynaklı karaciğer hasarlarında ve kronikleşmiş karaciğer hastalıklarında prognozun belirlenmesi amacıyla araştırılmıştır (Zhang et al., 2024; Yilmaz & Dolar, 2022).

CK19 biliyer ve karaciğer progenitör hücre marker'ıdır. CK19'un pozitif hepatoselüler karsinom alt tipi olan CK19+HCC daha agresif ve kötü prognostik özelliğe sahip olan kolanjiyo-karsinom hastalığının tanısında kullanılan bir yardımcı biyomarker'dır. Ayrıca CK19'un immün-reaktivitesi köpeklerdeki ve kedilerdeki hepatik tümör çalışmalarında da araştırılmış ve veteriner patolojide tümör tiplerinin agresiflik özelliklerinin sınıflandırılmasında kullanılmıştır (Govaere et al. 2014; Van Sprundel et al. 2014).

Bir ara filament ve kas/mezodermal marker'ı olan desmin'in düzeyi iskemi ve hasar durumlarında veya myofibroblastik gelişim durumlarının ortaya konulmasında ölçülmektedir. Desmin düzeyinin hepatik yıldız hücrelerinin ancak bazı alt gruplarında yüksek olduğu ve ayrıca düzeyinin bedensel aktivite sırasında arttığı göz önünde bulundurulduğunda, desmin'in hepatik yıldız hücrelerinin bütünlüğünün ve fonksiyonlarının değerlendirilmesi bakımından tek başına kullanımının uygun olmadığı belirtilmektedir. Bu nedenle araştırmalarda serum desmin ve vimentin ölçüm düzeylerinin birlikte değerlendirildiği rapor edilmektedir (Zhang et al. 2018).

Vimentin mezodermal/mezankimal ara filament proteinidir ve epitel-mezenkimal geçişin ve fibroblast/myofibroblast yapıların bir biyomarker'ı olup insan ve hayvan modellerini kapsayan in vitro çalışmalarda geniş kullanımı alanı bulmuştur. Vimentin'in düzeyi hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonunda ve karaciğer fibrozisi durumlarında ve karaciğerde sarkomatoid tipdeki tümörlerin varlığında yükselir (Zhang et al., 2018).

Düz kas aktin- α -SMA enzimi kas kasılma biriminde görevli olan aktin'in izoformudur. Bu enzim myofibroblastlardaki fibrozisin ve aktifleşmiş hepatik yıldız hücrelerinin tipik marker'ıdır. Araştırmalarda hem doku boyamaları yapılarak ve hem de serum α -SMA düzeyi ölçülerek fibrozisin gelişimi izlenmektedir. Literatür

taramalarında bu enzimin karaciğer fibrozisinin erken dönem teşhisindeki ve tedavisinin etkinliğinin tanımlanmasındaki önemi yoğun şekilde çalışılmıştır (Carpino et al. 2005, Cardoso-Lezama et al. 2024).

CD3, bir immün hücre ve endotelial hücre marker'ı olup, T-lenfositlere özgü bir kompleks proteindir (T-hücre marker'ı). Karaciğer dokusundaki CD3 hücre sayısı ve CD3'ün alt gruplarının yoğunluğu (intrahepatik T hücreleri) enflamasyonun tipi ve şiddeti hakkında önemli bilgiler verir. Bu konuda kronik hepatitli ve alkolik olan ve olmayan karaciğer yağlanmalı olgularda yapılmış çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca CD3 marker'ı immün patolojik çalışmalarda da kullanılmaktadır (Matos et al. 2013).

CD34 hematopoetik progenitör ve mikrovasküler endotelial hücrelerde görülen yüzey glikoproteinidir. Patolojik değişikliklerin değerlendirmelerinde kullanılan ve fenotip değişimini gösteren önemli bir vasküler marker'dır. Sağlıklı karaciğer sinüzoidlerinde CD34 ekspresyonu düşük düzeydedir. Sinüzoidal fenotip değişimi ve anjiyogenez gibi kronik karaciğer hastalıklarında ve HCC'de sinüzoidal hücrelerde CD34 artışının varlığı raporlandırılmıştır. Bu marker karaciğer sinüzoidal endotelial hücrelerle ilişkili araştırmalarda sıkça ölçülen bir parametredir (Ohmori et al. 1996).

CD31 platelet endotelial cell adhezyon molekül-1 (PECAM-1) olarak da adlandırılmakta olup bir genel endotelial hücre marker'ıdır. Karaciğer sinüzoidi endoteliumu diğer organlardaki endoteliumdan farklılık gösterdiğinden CD31 enziminin ifadesi endoteliumun lokalizasyonu ve fenotipine göre değişiklik gösterebilir. CD31 marker'ı intrahepatik karsinomun ve hepatik vasküler tümörlerin sınıflandırılmasında ve LSEC fenotipinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (DeLeve & Maretta-Mira, 2017).

Podoplanin (D2-40) lenfatik endotelial ve bazı stromal/epitelial hücrelerde ifade edilen ve intrahepatik karsinomların tanısında kullanılan bir transmembran glikoproteinidir. Karaciğerde lenfatik damarların, bazı tümör alt tiplerinin ve tümör ile ilgili stromanın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bu enzim düzeyinin takibi sayesinde hepatik tümörlü olgularda lenfanjiogenezin ve invazyonun durumu izlenebilmektedir. Ayrıca bu enzim düzeyinin ölçümü epitelioid hemanjiyoendotelioma gibi nadir tümörlerin teşhisinde de kullanılmaktadır. Literatür taramalarında HCC ve diğer primer karaciğer tümörleri olgularında podoplanin ekspresyonunun yapıldığı çalışmalara rastlanmaktadır (Kajiya et al. 2012).

Myokardin MRTF (myocardin-related transcription factors) ailesinden olan ve düz kas/kalp kası diferansiyasyonunu düzenleyen bir ko-transkripsiyon faktörüdür. Son literatür taramalarında myokardin'in ve özellikle MRTF-A/B'nin karaciğer yıldız hücrelerinin aktivasyonunun, myofibroblast dönüşümünün ve fibrozisin tanımlanmasında kullanılabileceği gösterilmiş ve bu çalışma sonuçlarının anti-fibrotik ilaç üretimi çalışmalarına temel oluşturduğu belirtilmiştir (Li et al. 2017).

Alfa-fetoprotein embriyonik (onko-fetal) bir glikoproteindir. Bu enzim erişkinlerde genellikle çok düşük düzeyde bulunmaktadır. Bu enzimin düzeyi hepatoselüler karsinomlu ve bazı germ hücreli tümörlü olgularda yüksek bulursa da bazı hepatoselüler karsinomlu olgularda alfa-fetoprotein düzeyi negatif olduğundan, bu enzimin tek başına ölçümünün teşhis koyma bakımından yeterli olmayacağı bildirilmektedir. Veteriner literatürde Alfa-fetoprotein düzeyinin karaciğer tümörleri ve germ hücreli tümörlerin teşhisinde kullanıldığına dair araştırmalar da bulunmaktadır (Zhang et al. 2020).

KARACİĞER YAĞLANMASI (HEPATİK LİPİDOZ)

Karaciğer vücudun en büyük iç organı olup, kedi ve köpeklerde vücut ağırlığının yaklaşık %3'ünü oluşturmaktadır. Vücudun merkezi metabolik organıdır. Uygun yağ emilimi için gerekli safrayı üretir ve salgılar, normal kan pıhtılaşması için gerekli plazma proteinlerini sentezler ve birçok endojen ve eksojen maddeyi detoksifiye eder ve salgılar. Karaciğer hastalığında görülen belirtiler ve serum biyokimyasal profilinde ortaya çıkan değişiklikler bu işlevlerin bozulmasının sonuçlarıdır. (Webb, 2018)

Karaciğer yağlanması hepatositlerde fazla miktarda lipid birikimi sonucu karaciğer büyümesi, karaciğer dokusu yangısı ve karaciğer dokusuyla ilgili biyobelirteçlerin düzeylerindeki değişimler ile karakterize bir hastalıktır. Karaciğere yağ asitlerinin alımı, karaciğerin bunları oksitleme veya salgılama yeteneğini aşarsa hepatik lipidoz gelişir. Hepatik lipidozda karaciğerde kendi ağırlığının %5'inden fazla TG birikimi söz konusudur. Bu hastalık genel olarak orta yaşlı kedilerde görülmesine karşın hazırlayıcı faktörlerin varlığı durumunda her yaştaki kedide de görülebilmektedir. Hepatik lipidozun en önemli nedenleri uzun süren açlık, obezite, beslenmede protein-kalori dengesizliği, karnitin, arjinin ve taurin gibi spesifik amino asitlerden yetersiz besleme ve diabetes mellitustur.

Aç kalma veya gıda kısıtlamasının neden olduğu uzun süreli enerji eksikliğinden sonra karaciğerde toplanan yağ miktarında artış olur. Kedilerde hepatik yağ miktarı, aşırı beslenmeden sonra ve vücutta sentezinin olmaması nedeniyle kolin eksikliği durumunda da yükselir. Hastaların yaklaşık %95'inde sekonder karaciğer yağlanması ortaya çıkar. Karaciğer yağlanmasının geliştiği kedilerde ortaya çıkan başlıca belirtiler anoreksi, kilo kaybı, sarılık, hepatomegali, kusma, depresyon ve hipersalivasyondur.⁷ Karaciğer hastalığı bulunan kedilerin diyetlerinde yüksek oranda sindirilebilir

ve yüksek kaliteli olan protein bulunmalıdır. Hastalarda hepatik ensefalopatiye ilişkin klinik ve laboratuvar bulguları bulunmadığı sürece diyetle protein kısıtlamasına gidilmemelidir. Karaciğer yağlanması gelişiminin önlenmesinde kedilerin yaşlarına, yaşam şartlarına ve aktivitelerine uygun ticari kedi mamalarının verilmesi diyetle yeteri miktarda kolin, taurin ve argininin bulunmasına dikkat edilmelidir. Anorektik kedilere yiyecekleri sık sık ve küçük miktarlarda sunulmalıdır. Kedilere günlük olarak B-kompleks vitaminleri verilmelidir. Ciddi kolestazı olan hastalara haftada iki kez K vitamini uygulaması yapılmalıdır. Kedi karaciğeri metabolik yönden diğer evcil hayvan türlerinden farklıdır. Kedilerde birçok ilacın metabolizasyonunda görevi olan glukuroniltransferaz enzimi bulunmaz. Ayrıca kediler amonyağın üreye dönüştürülmesinde rol alan ve üre döngüsünün ayrılmaz bir parçası olan arjinini sentezleyemez. Kedilere özgü olan bu iki fizyolojik farklılık, kedilerde ortaya çıkan karaciğer hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynayan faktörlerdir. (Webb, 2018; Cornell University College of Veterinary Medicine, n.d.; Merck Veterinary Manual, n.d.)

Hepatik lipidozda, yağ asitleri hepatositlere girdikten sonra iki ana yoldan birini takip eder. Yağ asitleri L-karnitin'in yardımıyla mitokondriye girerek beta oksidasyona uğrar. Yağ asitlerinin oksidasyonu asetil-CoA üretir, asetil-CoA enerji sağlamak (glukoz veya piruvat gerektirir) için trikarboksilik asit döngüsüne girer ve/veya keton cisimciklerini oluşturur. Keton cisimcikleri olarak asetoasetat ve b-hidroksibutirat sentezlenir, bunlar karaciğerden ekskrete edilir ve periferik dokularda enerji kaynağı olarak kullanılır. Diğer bir yol ise yağ asitlerinin karaciğere girdikten sonra metabolizma için trigliseridlere (TG) esterleştirilmesidir. TG'ler, hepatositlerdeki vakuollerde birikir ve/veya çok düşük yoğunluklu lipoproteinlere dâhil edilerek kana salınırlar. Hepatik lipidozda kana lipoprotein salınımının arttığı bildirilmektedir. (Cornell University

College of Veterinary Medicine, n.d.; Merck Veterinary Manual, n.d.)

Hepatik lipidozlu hastalarda hiperbilirubinemi ve şiddetli intrahepatik kolestaz ile uyumlu olarak alkalın fosfataz enzim düzeyinde belirgin bir yükselme meydana gelir. Karaciğer yağlanmalı hastaların %80'inde ALP, %72'sinde alanin aminotransferaz ve %89'unda aspartat aminotransferaz düzeylerinin yükseldiği bildirilmektedir. Hastalarda serum gama glutamil transferaz aktivitesi genellikle normaldir veya yalnızca hafifçe yükselmiştir. Ultrasonografik görüntülemelerde karaciğer bölgesinde yağlanmanın derecesi ile orantılı bir hiperekojenite gözlenir. (Webb, 2018; Armstrong & Blanchard, 2009)

Karaciğer yağlanması kedilerde primer ve sekonder olarak ortaya çıkar. Primer karaciğer yağlanmasının nedeni bilinmemektedir ve olguların %5-51'inde primer tipte karaciğer yağlanması görülmektedir. Sekonder karaciğer yağlanması kedilerde başka hastalıkların seyri sırasında ortaya çıkar ve olguların %49 – 95'inde sekonder tipte karaciğer yağlanması görülür. Kedilerde yapılan bir araştırmada muayenesi yapılan 71 kедiden 20'sinde primer tipte karaciğer yağlanması (%28) belirlenirken, 51 kедide sekonder tipte karaciğer yağlanmasının geliştiğı (%72) belirlenmiştir. Ayrıca karaciğer yağlanmasının geliştiğı kedilerdeki ölüm oranının %38 olduğu da belirlenmiştir. (Webb,2018)

Akut karaciğer yetmezliğı nedeniyle klinik takibe alınan 39 köpeğın karaciğer biyopsilerinin histopatolojik değerlendirmesinde 16 köpekte (%41) hepatik lipidozun gelişmiş olduğu belirlenmiştir. Kronik karaciğer hastalığı teşhisi konulan 16 köpeğın 4'ünde (%25) orta ila şiddetli hepatik lipidozun geliştiğı gözlenmiştir. (Webb, 2018; Armstrong & Blanchard, 2009)

Hepatik lipidozun patofizyolojisinde en önemli aşama inflamatuvar yanıtın geliştiğı süreçtir. Hepatik lipidozda

inflamasyon uzun süreli iştahsızlık ve açlık, metabolik stres, oksidatif stres ve lipotoksite ve bağırsak florasındaki değişimlere bağlı olan bakteriyel toksinlerin etkisiyle ortaya çıkar. Hepatik inflamasyonda adipoz dokudan aşırı serbest yağ asidi (FFA) salınımı olur. Hepatositler, bu FFA'leri triakilgliserole çevirip depolar. Ancak bu depolama kapasitesi sınırlıdır. Sonuçta hastalarda mitokondriyal disfonksiyon gelişir → ROS (reaktif oksijen türleri) artışı olur ve → oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres karaciğerde inflamasyonu tetikler. Karaciğer hücrelerinde oluşan hücre içi hasar → DAMPs (Damage-associated molecular patterns) salınımına yol açar. Karaciğerin özel makrofajı olan Kupffer hücreleri hepatosit hasarı sonrası ortaya çıkan DAMP'leri algılar. Aktive olmuş olan Kupffer hücreleri pro-inflamatuvar mediatörlerden olan TNF- α (Tümör nekroz faktörü-alfa), IL-1 β (İnterlökin-1 beta), IL-6 ve MCP-1'i (Monocyte chemoattractant protein-1) salgırlar. Salgılanan bu sitokinler vasküler geçirgenliği artırırken nötrofil ve monositlerin karaciğere göçüne yol açarlar ve sonuçta karaciğerde inflamasyon gelişir. Karaciğer dokusuna gelen nötrofiller, hasarlı hücrelerin bulunduğu bölgelere toplanarak buralarda ROS ve proteazların salınımına yol açarlar ve bu durum hepatosit hasarında artışa neden olur. Hasarlı karaciğer hücreleri bölgesine göç eden makrofajlar hasarlı hücreleri fagosite ederler. Ancak aşırı hasarlı hücrelerde fibrojenik yanıt da gelişebilir. Karaciğer yağlanması ortaya çıkan inflamasyonun olası sonuçları safra akışının azalması veya duraklaması, serum direk veya indirek bilirubin düzeylerinin yükselmesi, hepatositlerde apoptoz ve nekroz ve sekonder enfeksiyonlara yatkınlık meydana gelir. (Kruitwagen, Spee, & Schotanus, 2014; Shi et al., 2020; Carpino et al., 2005).

Karaciğer yağlanmasının geliştiği hastalarda yağlanmaya neden olan şartlar ortadan kalkar ve hasta beslenmeye başlanırsa inflamasyon bölgesinde pro-inflamatuvar sitokinlerin üretimi azalırken IL-10 ve TGF- β (transforming growth factor-beta) gibi

anti-inflamatuar sitokinler salgılanmaya başlar. Interleukin-10 (IL-10), güçlü bir anti-inflamatuar sitokindir. Bu sitokinin başlıca kaynakları makrofajlar, dentritik hücreler ve bazı T hücreleridir (regülatör T hücreleri, Treg). IL-10'nun görevi pro-inflamatuar sitokinlerin (IL-1, TNF- α , IL-6) üretimini baskılamak, makrofaj ve dentritik hücre aktivitesini düzenlemek ve T hücre proliferasyonunu kontrol etmektir. IL-10 karaciğerdeki hasarlı bölgede inflamasyonu sınırlandırarak dokuya fazla zarar gelmesini önler ve iyileşme ortamının oluşmasını sağlar (Sziksz, et al. 2015).

Transforming Growth Factor-beta'nın (TGF- β) başlıca kaynakları hepatositler, yıldız hücreleri (karaciğerdeki özel destek hücreleri) ve Treg hücreleridir. TGF- β 'nin başlıca görevi doku onarımı ve fibrozis ile ilişkilidir. TGF- β hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını düzenler ve bağışıklık yanıtını baskılar. Ayrıca IL-10'a benzer şekilde anti-inflamatuar etkisi de vardır. TGF- β , karaciğerde hasarlı dokunun tamiri sırasında ekstraselüler matris (skar dokusu) üretimini de tetikleyebilir. TGF- β 'nin kısmi düzeyde aktivite göstermesi yara onarımını sağlarken aşırı düzeyde aktivite göstermesi karaciğer dokusu fibrozisi ile sonuçlanabilir (Wu, et al. 2023).

Hepatik lipidozun iyileşme periyodunun sonunda makrofaj fenotipi M2'ye döner (iyileşmeyi destekleyen form), apoptoza uğramış hücreler temizlenir ve dokularda rejenerasyon başlar. Bu iyileşme sürecinde inflamasyon kontrol altına alınamazsa karaciğer dokusunda fibrozis gelişebilir. Hastalarda kronik hepatit veya irreversibl karaciğer hasarı ortaya çıkabilir. Hepatik lipidozda ortaya çıkan inflamatuvar yanıt karaciğer hücre hasarını artırabileceği gibi bu yanıt aynı zamanda iyileşme süreci için de gereklidir. Hepatik lipidozlu hastalarda tedavi sürecinin erken başlatılmasının hayati önemi vardır. Tedavide hastalarda beslenmenin erken başlatılması, S-adenosilmetiyonin veya vitamin E gibi antioksidanların verilmesi ve immunomodülatör ilaçlar kullanılarak pro-inflamatuar

mediatörlerin baskılanması önemlidir. (Kruitwagen, Spee, & Schotanus, 2014)

Kaynakça

Cornell University College of Veterinary Medicine. (n.d.). Feline Hepatic Lipidosis. Feline Health Center. Retrieved June 2025

Merck Veterinary Manual. (n.d.). Feline Hepatic Lipidosis. Retrieved June 2025,

Watson, P. J. (2004). Medical management of hepatic lipidosis in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6(3), 163–173

Oğuz, M. N., & Çağan Uluşan, E. (2024). Kedilerde hepatik lipidozis: Geleneksel derleme [Hepatic lipidosis in cats: Traditional review]. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*

Kozat, S., & Sepehrizadeh, E. (2017). Methods of Diagnosing in Liver Diseases for Dog and Cats. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 10(2), 36-46.

F. C. Mann, S. D. Brimihall and J. P. Foster, (1998), The Extrahepatic Biliary Tract in Common Domestic and Laboratory Animals. *Anat Rec*, 18, pp. 47–66.

F.R. Simon, Hormonal regulation of bile secretion.In. Arias I, Alter HJ, Boyer JL. *The Liver. Biology and Pathobiology*, New York, Wiley Blackwell.(2009), pp.323–339.

S. Comazzi, P. Pieralisi and W Bertazzolo., (2004), Haematological And Biochemical Abnormalities In Canine Blood. Frequency And Associations In 1022 Samples. *J Small Anim Pract.*, 45(7), pp. 343–349.

Kruitwagen, H. S., Spee, B., & Schotanus, B. A. (2014). Hepatic Progenitor Cells In Canine And Feline Medicine: Potential For Regenerative Strategies. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 137.

Boyer JL. (1983). Tight Junctions In Normal And Cholestatic Liver: Does The Paracellular Pathway Have Functional Significance? *Hepatology* ;3(4):614–617.

Stockham SL, Scott MA. (2008). Enzymes. In: *Fundamentals Of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd Edn. Blackwell, Ames, IA, 374–639.

Liu HL, et al. (2022). “Aberrant Cytokeratin 7 Expression By Hepatocytes Can be a Hallmark Characteristic” *am J Surg Pathol*

Zatloukal K, et al. (2000). Cytokeratin 8 Protects from Hepatotoxicity. *Am J Pathol*

Zhang X, et al. (2024). “Serum Cytokeratin-18 Levels As A Prognostic Biomarker In Advanced Liver Disease” (meta-analysis) / *PMC*.

Kakehashi A, et al. (2009). Cytokeratin 8/18 Overexpression And Complex Formation.

Zhang D, et al. (2018). Desmin- And Vimentin-Mediated Hepatic Stellate Cell.

Carpino G, et al. (2005). Alpha-SMA Expression In Hepatic Stellate Cells And Liver Fibrosis.

Cardoso-Lezama I, et al. (2024). Serum A-SMA Is A Potential Noninvasive Biomarker Of Liver.

Matos LC, et al. Lymphocyte Subsets In Alcoholic Liver Disease (CD3 / intrahepatic T cells).

Ohmori S, et al. (1996). Enhanced CD34 Expression Of Sinusoid-Like Vascular.

DeLeve LD, et al. (2017). Liver Sinusoidal Endothelial Cell: An Update.

Fujii T, et al. “Podoplanin is a useful diagnostic marker for epithelioid .

Shi Z, et al.(2020). Myocardin and myocardin-related transcription factor-A are upregulated in activated HSCs

Hanif H, et al. (2022). Update on the applications and limitations of alpha-fetoprotein (AFP).

Van Sprundel RGHM, et al. “Keratin 19 marks poor differentiation ...” (canine studies / CK19 in dogs).

Sanjabi, S., et al. (2009). Anti- and Pro-inflammatory Roles of TGF- β , IL-10, and IL-22. *Nature Reviews Immunology*, 9(9), 611–624.

Szicsz, E., et al. (2015). Fibrosis Related Inflammatory Mediators: Role of the IL-10 Cytokine Family. *Frontiers in Immunology*, 6, 1–10.

Schon, H. T., et al. (2014). Immunomodulatory Effects of Transforming Growth Factor- β in Liver Diseases. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 3(3), 147–158.

Wu, K., et al. (2023). Regulatory T Cells (Tregs) in Liver Fibrosis. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 1–13.

KÖPEK VE KEDİLERDE PERİODONTAL DOKU HASTALIKLARINDA BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRMELER

**EFE KURTDEDE¹
DOĞU TURGUT²**

Veteriner kliniklerine herhangi bir nedenle getirilen orta yaşlı veya yaşlı köpek ve kedilerin yaklaşık olarak %80'inde periodontal doku hastalıkları görülmektedir. Periodontal doku hastalıkları diş etlerinin enflamasyonu şeklinde başlar ve hastaların bireysel immünitelerinin etkinliğiyle uyumlu olarak lezyonlar uzun süre sadece diş eti deformasyonu şeklinde seyredebilir veya diş etindeki patolojik tablo ilerlemeye devam eder ve sonuçta hastalık dişin gevşeyip düşmesiyle ve/veya çene kemiğinde alveolar yapıda deformasyonların şekillenmesiyle sonuçlanabilir. Hastalık başlangıçta diş etinde akut lokal immuno-inflamatorik reaksiyon şeklinde başlar, immun sistemin güçlü mücadelesi veya uygun tedavi uygulamalarıyla hastalığın gelişimi duraklar ve/veya geriler ve iyileşmeyle sonuçlanabilir. İmmun sistemin enflamasyonla

¹ Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, efekurtdede@gmail.com

² Doktora Öğrencisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Biyokimyası, dogu.turgut@windowlive.com

mücadelede yetersiz kaldığı veya tedavi uygulamalarının yetersiz kaldığı durumlarda hastalık subakut ve kronik şekilde seyreder ve periodontal bölgeden uzak organlarda veya dokularda patofizyolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olur. Oksidatif stres periodontal doku hastalıklarının akut ve subakut dönemlerinde kısmi boyutta kronik döneminde ise ciddi boyutta ortaya çıkar. Periodontal doku hastalıkları multi faktöriyel nedenlidir ve genellikle kronik seyirlidir. Hastalardaki ilk belirtiler ağız kokusu, diş etinde kanama ve çiğneme güçlüğüdür. Kesin teşhis veteriner hekimlerin görsel ve fiziksel muayeneleriyle konur (Niemiec vd, 2008; Wallis vd. 2021; Harvey, 1998; Albuquerque vd 2012).

Yapılan epidemiyolojik araştırmalarda sedasyon uygulanmadan yapılan klinik muayenelerde periodontal doku hastalıklarının oranı, ilgili yöredeki toplam köpek popülasyonunun %9,3-18,2'si iken, sedasyon uygulaması altında yapılan klinik muayenelerde bu oranların %44-100 arasında olduğu belirlenmiştir. Periodontal doku hastalıklarının yaygınlığı ve oluşan lezyonun şiddeti köpeklerin boyutlarına, ırklarına, beslenme şartlarına ve ağız sağlığı ile ilgili uygulamaların yapılıp yapılmadığına göre farklılık göstermektedir Wallis ve Holcombe, 2020; Cunha vd. 2020).

Periodontal doku hastalıkları periodontal bölge üzerinde plak oluşumuyla başlar. Plak bölgesindeki bakteriyel aktivite artışı ve diş taşı oluşumu periodontal doku deformasyonunun ilerlemesine ve diş eti cebinde genişlemeye yol açar. Periodontal bölge dokusunda önce hafif- orta şiddette başlayan enflamatorik ve immünolojik reaksiyonlar daha sonra bazı hastalarda akut ve şiddetli derecede, bazı hastalarda ise kronik orta şiddette reaksiyonlar şeklinde ilerler. Periodontal doku hastalığının kronik döneminde immun yanıt sonucu ortaya çıkan polimorf nüklear nötrofil ve makrofaj aktivasyonu periodontal bağ dokusunda ve alveolar kemik yapıda histopatolojik değişikliklere yol açar (Niemiec 2008, Guentsch ve

Preshaw, 2008; Kouki vd., 2013; Anderson vd., 2017; Wallis ve Holcombe 2020).

Whyte ve ark (2014) ve Kouki ve ark (2013), köpeklerde periodontal doku hastalığının erken evrelerinde belirlenen diş plağının şiddeti ile trombosit sayısı ve karaciğer dokusu ile ilgili enzimlerin düzeylerindeki değişiklikler arasında pozitif ilişkiler olduğunu göstermişlerdir. Köpek nekropsilerinin sonuçlarının değerlendirildiği incelemelerde, otopsilerinde kronik periodontal doku hastalığı bulguları olan köpeklerde aynı zamanda endokardiyoz, endokardit, hepatit, interstisyel nefrit, kronik bronşit ve pulmoner fibroz gibi organ hastalıklarının da bulunduğu fark edilmiştir (Glickman vd. 2009, Pereira vd. 2019). Bu bulgular periodontal bölgede üremiş olan bakterilerin sistemik dolaşım yoluyla uzak organlarda bozukluklara yol açtığı görüşünü desteklemektedir. Değişik organlarında patolojik değişikliklerin meydana geldiği periodontal doku hastalıklı köpek ve insanlarda, bu duruma yanıt olarak sistemik inflamatuvar medyatörlerin düzeylerinde artışların meydana geldiği bildirilmiştir. Bu durum periodontal doku hastalığının canlıların sağlıklı bir yaşam sürdürebilmeleri için oldukça ciddi bir risk oluşturduğunu göstermektedir (Rejec vd. 2017, Rawlinson vd. 2011, Passoja vd. 2010).

Periodontal doku hastalıklarında ortaya çıkan immuno-inflamatorik reaksiyonlar sonucu olarak tam kan sayımı ile ilgili parametrelerde değişiklikler ortaya çıkar. Tam kan sayımından elde edilen verilerin formüle edilmesiyle elde edilen nötrofil-lenfosit oranı, trombosit-lenfosit oranı, ortalama trombosit hacmi-trombosit sayısı oranı, monosit-lenfosit oranı ve trombosit-nötrofil oranı gibi değerler sistemik inflamatuvar yanıtın boyutunu gösteren başlıca göstergelerdir. Bu değerler ayrıca kardiyovasküler hastalıkların, inflamatorik ve neoplazik durumların teşhisinde ve prognozlarının

belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Liu vd. 2022, Balta vd. 2015, Angkananard vd. 2018, Jung vd. 2023).

Nötrofiller bağışıklık sisteminin temel unsurlarından biri olup, fagositoz yapma yetenekleri nedeniyle vücudun patojenlere karşı savunmasında önemli role sahiptirler. İnflamatuvar medyatörler nötrofillerin lezyon bölgesine göçünü ve patojenleri fagosit etmesini teşvik ederler. Lenfositler anti-inflamatuvar ve antitümör bağışıklıkta önemli rol oynayan hücre tipidir. Beyaz kan hücrelerinin en büyük grubu olan monositler, kan dolaşımında serbestçe hareket eden veya belirli bir dokuya doğru yol alan olgunlaşmamış hücrelerdir. Dokulara sızan veya kan dolaşımında bulunan genç monositler buralarda olgun makrofajlara dönüşürler. Kan ve dokularda bulunan monositler ve makrofajlar arasındaki karmaşık etkileşim nedeniyle bu hücrelerin oluşturduğu sistem “mononükleer fagositer sistem” olarak ifade edilmektedir (Summers vd. 2010, Hernberg vd. 2007).

Lökositler hücre tiplerinin sayısal oranlarından olan trombosit-lenfosit oranı ve nötrofil-lenfosit oranı insanlarda COVID-19, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, pnömoni ve sepsis gibi inflamasyonla birlikte seyreden hastalıkların tanımlanmasında ve bunların prognozunun belirlenmesinde kullanılan başlıca biyobelirteçlerdir. Veteriner hekimliğinde lenfomalar, mast hücre tümörleri ve sarkomlar gibi patolojilerde NLR değerindeki değişimler incelenmiştir. Akut pankreatit ve akut ishali olan köpeklerde ve kedilerde NLR değerinin hastaların prognozunu belirlenmesinde yararlı olduğu gösterilmiştir [40]. Nedeni bilinmeyen meningoensefaliti olan köpeklerde, bu hastalığın ön beyin ile ilgili diğer bozukluklardan ayırt edilmesinde NLR değerindeki değişiklikten yararlanılmaktadır [41]. Rejec ve arkadaşları (2017), periodontal doku hastalığını saptadıkları köpeklerde NLR değerini ve ortalama trombosit sayısını sağlıklı köpeklere göre daha yüksek bulduklarını belirtmişlerdir (Hou vd.

2021, Zahorec 2021, Conway vd. 2021, Hodgson vd. 2018, Mutz vd. 2015, MacFarlane vd. 2016).

Trombositler homeostazın gerçekleşmesinde görevli hücreler olmasının yanında, organlardaki inflamatuvar reaksiyonlarda da önemli rollere sahiptirler. Trombositler inflamasyonun şiddetinin azaltılmasında ve doku onarımının başlatılmasında aktif olarak görev alırken, dokuların mikroorganizmalara karşı yaptıkları savunmada da önemli rol üstlenirler. Canlıların çeşitli organlarında ortaya çıkan enflamasyonlarda, metabolik bozukluklarda ve neoplazik durumlarda trombositozun meydana geldiği gösterilmiştir. Neoplazik durumun geliştiği hastalarda trombosit sayısındaki artışın değerlendirilmesiyle hastalığın prognozu hakkında değerli veriler elde edilebilir. PLR'deki trombosit sayısı immünomodülatör ve inflamatuvar süreç hakkında, lenfosit sayısı ise hastanın bağışıklık tepkisi hakkında önemli veriler sağlar (Klinger vd. 2002, Anitua vd. 2004, Woolcock vd. 2017, Hu vd. 2018).

Periodontal doku enflamasyonunun meydana geldiği olgularda diş alveollerinin bulunduğu kemik dokudaki değişimleri gösteren serum reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand (RANKL) ve osteoprotegerin (OPG) düzeylerinin belirlenmesi periodontal doku hastalığının şiddetinin derecelendirilmesinde önemli veriler sağlamaktadır.

Periodontal doku hastalığının başladığı olgularda bölgedeki bakteri artışına cevap olarak diş eti dokusunda nötrofil ve makrofaj infiltrasyonunda artış ve diş eti ile kemik dokuda reaktif oksijen türlerinin düzeylerinde yükselme meydana gelir. Olgularda gelişen sistemik yangı durumunun derecesinin ortaya konulmasında proinflamatorik sitokinlerden IL-1 beta ve IL-6'nın düzeylerinin ortaya konulmasının önemli tanısal değeri bulunmaktadır. Serum IL-1 düzeyinin ölçümü, periodontal hastalıklarda kemik metabolizmasının, periodontal doku yıkımlanmasının veya

değişiminin ve periodontal dokuda oluşan bakteri artışına bağlı yapısal değişikliklerin değerlendirilmesi bakımından önemlidir (Albuquerque ve ark 2015; Christgau ve ark 2007).

Periodontal doku hastalığının seyri esnasında hafif düzeyde başlayıp giderek artan boyutta sistemik oksidatif stres gelişmektedir. Hastalığın vücutta neden olduğu sistemik stresin derecesi ile uyumlu olarak önemli biyobelirteçlerinden olan serum SOD, MDA değerlerinde değişiklikler ortaya çıkar (Hajishengallis ve ark 2016, Hajishengallis ve ark 2019, Pavlica ve ark 2008).

Köpeklerde oluşturulan deneysel periodontal doku enflamasyonu modelinde serum CRP düzeyinde artış belirlenmiştir. Ancak periodontal dokudaki lokal enflamasyonun sistemik yangı parametrelerinin düzeylerine yansımalarının kısmi olarak gerçekleştiği ve bu yansımanın yangının şiddetine de bağlı olduğu belirtilmektedir (Yu ve ark 2010). Buttke ve arkadaşları (2005), periodontal doku hastalığı bulunan olgularda klinik bulgular ile serum CRP düzeyindeki yükselişin paralellik göstermediğini bildirmektedirler.

Periodontal doku hastalıklarının gelişiminde hasta dokudaki bakteriyel artışın, lokal ve sistemik immün yanıtın ve periodontal dokudan salınan biyolojik aktif maddelerin rol oynadığı belirtilmektedir. Periodontal dokuda enflamasyon ve doku hasarının oluşumunda immün yanıt sonucu üretilip salınan IL-6'nın, proteazların, osteoklast aktivitesinin ve metilasyon değişimlerinin rolü olduğu belirtilmektedir (Zhang ve ark 2010, Kayal 2013). Köpeklerde periodontal doku bozukluğunun ileri aşamalarında diş alveollerinde ortaya çıkan kemik yıkımında sitokinlerin aracı olduğu osteoklast aktivitesindeki artışın rolü olduğu belirtilmektedir. Monosit, lenfosit, osteoblast, osteoklast ve fibroblast gibi hücrelerden salınan IL-1 beta, IL-6 gibi sitokinlerin kemik dokuların bütünlüğünün sağlanmasında önemli rollerinin bulunduğu

bildirilmiştir (Hosokawa ve ark 1996, Kleinberg 2002). Ayrıca osteoklastların sayısı ve aktivitesindeki artış ile RANKL arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmektedir. RANKL'ın bulunmadığı ortamda kemik rezorpsiyonunun azaldığı görülmüştür. Tümör nekroze faktör (TNF) reseptörlerinden bir protein olan OPG ise, RANKL ile tersi bir biyolojik etkiye sahip olup, RANKL etkileşimini baskılayan bir inhibitör gibi davranarak osteoklastogenezisde azalmaya neden olur (Simonet ve ark 1997, Nakagawa ve ark 1998). Osteosarkomlu köpeklerde ve kemik eklem hastalıklarının teşhis edildiği olgularda serum RANKL ve OPG düzeylerindeki değişiklikler değerlendirilmiştir (Spahni ve ark, 2009, Barger ve ark 2007). Osteosarkomlu hücre hatlarında yapılan bir in vitro çalışmada hücre örneklerindeki RANKL ve OPG düzeylerindeki değişikliklerin değerli veriler sağladığı gösterilmiştir (Marley ve ark 2015). Ayrıca deneysel diabetes mellituslu ratlarda mandibula ve femurdaki değişimler ile RANKL / OPG düzeyleri arasındaki ilişkiler değerlendirilmiştir (Hendrijantini ve ark 2019).

Kaynaklar

Wallis, C., & Holcombe, L. J. (2020). A review of the frequency and impact of periodontal disease in dogs. *Journal of small animal practice*, 61(9), 529-540.

O'Neill, D. G., Mitchell, C. E., Humphrey, J., Church, D. B., Brodbelt, D. C., & Pegram, C. (2021). Epidemiology of periodontal disease in dogs in the UK primary-care veterinary setting. *Journal of Small Animal Practice*, 62(12), 1051-1061.

Wallis, C.; Saito, E.K.; Salt, C.; Holcombe, L.J.; Desforjes, N.G. Association of Periodontal Disease with Breed Size, Breed, Weight, and Age in Pure-Bred Client-Owned Dogs in the United States. *Vet. J.* 2021, 275, 105717.

Albuquerque, C.; Morinha, F.; Requicha, J.; Martins, T.; Dias, I.; Guedes-Pinto, H.; Bastos, E.; Viegas, C. Canine Periodontitis: The Dog as an Important Model for Periodontal Studies. *Vet. J.* 2012, 191, 299–305.

Cunha E, Tavares L, Oliveira M. Revisiting Periodontal Disease in Dogs: How to Manage This New Old Problem? *Antibiotics*. 2022; 11(12):1729. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11121729>.

Guentsch, A., & Preshaw, P. M. (2008). The use of a linear oscillating device in periodontal treatment: a review. *Journal of clinical periodontology*, 35(6), 514-524.

Kouki, M. I., Papadimitriou, S. A., Kazakos, G. M., Savas, I., & Bitchava, D. (2013). Periodontal disease as a potential factor for systemic inflammatory response in the dog. *Journal of veterinary dentistry*, 30(1), 26-29.

Anderson, J. G., Peralta, S., Kol, A., Kass, P. H., & Murphy, B. (2017). Clinical and histopathologic characterization of canine chronic ulcerative stomatitis. *Veterinary pathology*, 54(3), 511-519.

Whyte, A.; Bonastre, C.; Monteagudo, L.V.; Les, F.; Obon, J.; Whyte, J.; Tejedor, M.T. Canine Stage 1 Periodontal Disease: A Latent Pathology. *Vet. J.* 2014, 201, 118–120.

Kouki, M.I.; Papadimitriou, S.A.; Kazakos, G.M.; Savas, I.; Bitchava, D. Periodontal Disease as a Potential Factor for Systemic Inflammatory Response in the Dog. *J. Vet. Dent.* 2013, 30, 26–29.

Glickman, L.T.; Glickman, N.W.; Moore, G.E.; Goldstein, G.S.; Lewis, H.B. Evaluation of the Risk of Endocarditis and Other Cardiovascular Events on the Basis of the Severity of Periodontal Disease in Dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2009, 234, 486–494.

Pereira dos Santos, J.D.; Cunha, E.; Nunes, T.; Tavares, L.; Oliveira, M. Relation between Periodontal Disease and Systemic Diseases in Dogs. *Res. Vet. Sci.* 2019, 125, 136–140.

Rejec, A.; Butinar, J.; Gawor, J.; Petelin, M. Evaluation of Complete Blood Count Indices (NLR, PLR, MPV/PLT, and PLCRi) in Healthy Dogs, Dogs with Periodontitis, and Dogs with Oropharyngeal Tumors as Potential Biomarkers of Systemic Inflammatory Response. *J. Vet. Dent.* 2017, 34, 231–240.

Rawlinson, J.E.; Goldstein, R.E.; Reiter, A.M.; Attwater, D.Z.; Harvey, C.E. Association of Periodontal Disease with Systemic Health Indices in Dogs and the Systemic Response to Treatment of Periodontal Disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2011, 238, 601–609.

Passoja, A.; Puijola, I.; Knuuttila, M.; Niemelä, O.; Karttunen, R.; Raunio, T.; Tervonen, T. Serum Levels of Interleukin-10 and Tumour Necrosis Factor- α in Chronic Periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 2010, 37, 881–887.

Liu, Z.; Li, Y.; Wang, Y.; Zhang, H.; Lian, Y.; Cheng, X. The Neutrophil-to-Lymphocyte and Monocyte-to-Lymphocyte Ratios Are Independently Associated With the Severity of Autoimmune Encephalitis. *Front. Immunol.* 2022, 13, 911779.

Balta, S.; Ozturk, C. The Platelet-Lymphocyte Ratio: A Simple, Inexpensive and Rapid Prognostic Marker for Cardiovascular Events. *Platelets* 2015, 26, 680–681.

Angkananard, T.; Anothaisintawee, T.; McEvoy, M.; Attia, J.; Thakkestian, A. Neutrophil Lymphocyte Ratio and Cardiovascular Disease Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed. Res. Int.* 2018, 2018, 2703518. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

Jung, M.J.; Kim, J.H. Prognostic Efficacy of Complete Blood Count Indices for Assessing the Presence and the Progression of Myxomatous Mitral Valve Disease in Dogs. *Animals* 2023, 13, 2821.

Summers, C.; Rankin, S.M.; Condliffe, A.M.; Singh, N.; Peters, A.M.; Chilvers, E.R. Neutrophil Kinetics in Health and Disease. *Trends Immunol.* 2010, 31, 318–324.

Hernberg, M.; Mattila, P.S.; Rissanen, M.; Hansson, J.; Aamdal, S.; Bastholt, L.; Von Der Maase, H.; Schmidt, H.; Stierner, U.; Tarkkanen, J. The Prognostic Role of Blood Lymphocyte Subset Distribution in Patients With Resected High-Risk Primary or Regionally Metastatic Melanoma. *J. Immunother.* 2007, 30, 773–779.

Hou, S.K.; Lin, H.A.; Chen, S.C.; Lin, C.F.; Lin, S.F. Monocyte Distribution Width, Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, and Platelet-to-Lymphocyte Ratio Improves Early Prediction for Sepsis at the Emergency. *J. Pers. Med.* 2021, 11, 732. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

Zahorec, R. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Past, Present and Future Perspectives. Bratisl. Med. J. 2021, 122, 474–488. [Google Scholar] [CrossRef]

Conway, E.A.; Pizarro Del Valle, C.; Waugh, E.M.; French, A.; Ridyard, A.E. Retrospective Investigation of the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Dogs with Pneumonia: 49 Cases (2011–2016). J. Vet. Emerg. Crit. Care 2021, 31, 490–497. [Google Scholar] [CrossRef]

Hodgson, N.; Llewellyn, E.A.; Schaeffer, D.J. Utility and Prognostic Significance of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Dogs with Septic Peritonitis. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 2018, 54, 351–359. [Google Scholar] [CrossRef]

Mutz, M.; Boudreaux, B.; Kearney, M.; Stroda, K.; Gaunt, S.; Shiomitsu, K. Prognostic Value of Baseline Absolute Lymphocyte Concentration and Neutrophil/Lymphocyte Ratio in Dogs with Newly Diagnosed Multi-Centric Lymphoma. Vet. Comp. Oncol. 2015, 13, 337–347. [Google Scholar] [CrossRef]

MacFarlane, M.J.; MacFarlane, L.L.; Scase, T.; Parkin, T.; Morris, J.S. Use of Neutrophil to Lymphocyte Ratio for Predicting Histopathological Grade of Canine Mast Cell Tumours. Vet. Rec. 2016, 179, 491.

Klinger, M.H.F.; Jelkmann, W. Role of Blood Platelets in Infection and Inflammation. J. Interferon Cytokine Res. 2002, 22, 913–922. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

Anitua, E.; Andia, I.; Ardanza, B.; Nurden, P.; Nurden, A.T. Autologous Platelets as a Source of Proteins for Healing and Tissue Regeneration. Thromb. Haemost. 2004, 91, 4–15. [Google Scholar] [CrossRef]

Woolcock, A.D.; Keenan, A.; Cheung, C.; Christian, J.A.; Moore, G.E. Thrombocytosis in 715 Dogs (2011–2015). J. Vet.

Intern. Med. 2017, 31, 1691–1699. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

Hu, G.; Liu, Q.; Ma, J.Y.; Liu, C.Y. Prognostic Significance of Platelet-to-Lymphocyte Ratio in Cholangiocarcinoma: A Meta-Analysis. Biomed. Res. Int. 2018, 2018, 7375169. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

GDO BİYOBELİRTEÇLERİ VE FONKSİYONEL ÖNEMİ

EBRU EKİZCE¹
BERİN SALMANOĞLU²

1.Giriş

Biyoteknoloji alanındaki atılımlar, canlıların kalıtsal yapısını anlama ve bu yapıyı belirli amaçlar için bilinçli olarak yönlendirme kapasitemizi kökten değiştirmiştir. Genetik modifikasyonun bu uygulamaları, tarım, sağlık ve endüstri gibi alanlarda geniş bir etki alanı oluşturmuştur. Bu teknolojilerin ürünü olan Genetiği Değiştirilmiş Organizmaların (GDO) tespiti, tanımlanması ve miktar olarak belirlenmesi; tarımsal üretim güvenliği, biyogüvenlik, uluslararası ticaret ve tüketici bilgilendirmesi açısından kritik bir öneme sahiptir.

GDO tespitinin temelindeki moleküler kavramlar; GDO'nun varlığını kanıtlayan biyobelirteçler ve bunları görünür kılan

¹ Doktora Öğrencisi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Biyokimyası Orcid:0000-0003-1030-2603

² Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Orcid: 0000-0003-4344-5782

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction -PCR), enzime bağılı immunosorbent analizi (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay -ELISA) ve yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing -NGS) gibi çeşitli moleküler tekniklerdir. Modern analitik yaklaşımlar, belirteçlerin hassas ve spesifik olarak belirlenmesini mümkün kılmakta ve GDO tanımlamasında yüksek doğruluk oranları sağlamaktadır. Böylece hem ulusal hem uluslararası düzeyde güvenilir GDO analiz protokollerinin geliştirilmesi için bilimsel bir temel oluşturmuş olur. GDO biyobelirteçlerinin doğru kullanımı, biyoteknolojik ürünlerin izlenebilirliği ve etik üretim süreçlerinin denetlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

2.GDO'ların Etkileri ve Geliştirme Amaçları

Genetik olarak modifiye edilmiş organizmalar, tarımsal üretimde verim artışı, besinsel değerin iyileştirilmesi, çevresel dayanıklılığı artırması ve endüstriyel ya da tıbbi kullanım potansiyeli sağlama hedefleriyle geliştirilmektedir. Bitkilerde genlerin aktif ya da pasif hale getirilmesi sayesinde, stres koşullarına karşı direnç, ürün kalitesi, raf ömrü uzaması ve tıbbi alanda terapötik madde üretimi gibi faydalar sağlanmaktadır.

2.1.Tarımsal Üretkenliğin Artırılması

Özellikle olumsuz çevresel şartlar altında ürün kayıplarının önüne geçerek tarımsal verimliliğin artırılması hedeflerken hem tarımsal üretimin sürekliliği sağlanmakta hem de küresel gıda ihtiyacına cevap verilmektedir.

Hastalık ve Zararlıya Dayanıklılık: *Bacillus thuringiensis* (Bt) kökenli *cry* genlerinin pamuk, mısır ve patates gibi bitkilere aktarılmasıyla, zararlı böceklerin sindirim epiteline etki eden Bt proteini sentezlenerek böceğin ölümüne yol açar. Böylece zararlılara karşı spesifik bir koruma sağlar ve genellikle geniş

spektrumlu kimyasal böcek ilaçlarına olan ihtiyacı azaltır (Razzaq A. ve ark. 2023).

Abiyotik Stres Toleransı: Kuraklık, tuzluluk, don ve ağır metal gibi stres etkenleri altında bitkilerde prolin birikiminin artırılması, hücrel su tutulumunu ve oksidatif dengeyi korur. P5CS ve P5CR genlerinin aşırı eksprese edilmesiyle transgenik bitkilerde prolin düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır (Kishor P. ve ark. 1995; Ozturk M. ve ark. 2020; Renzetti M. ve ark. 2024).

2.2.Tarımsal Girdi Yönetimi

Tarımsal üretimde herbisit ve toprak işleme maliyetlerini düşürerek sürdürülebilir verim artışı sağlamayı amaçlar

Herbisit Toleransı – EPSPS Modifikasyonu: Glifosatın hedef enzimi olan EPSPS geninin modifiye edilmesi veya aşırı eksprese edilmesi, tarlada glifosat uygulamasına dayanıklı bitkiler oluşturarak yabancı ot kontrolü kolaylaştırmakta ve topraksız tarım (no-till farming) gibi uygulamaları yaygınlaştırır (OECD 2002; Achary V.M.M. ve ark. 2020).

2.3.Besinsel Değerin İyileştirilmesi (Biyofortifikasyon)

Genetik mühendisliği, temel besin öğelerinin içeriğini artırarak toplum sağlığına katkıda bulunur.

Altın Pirinç (Golden Rice): Pirinç endospermine nergis (*Narcissus pseudonarcissus*) kökenli phytoene synthase (PSY) geni ile bakteri (*Erwinia uredovora*) kaynaklı phytoene desaturase (*crtI*) geninin aktarılması sonucu β -karoten sentezi sağlanmıştır. Böylece A vitamini eksikliğine bağlı görme bozuklukları riskini azaltan Altın Pirinç geliştirilmiştir (Tang G. ve ark. 2009; Achary V.M.M. ve ark. 2020).

Omega-3 Yağ Asitleri: Alg veya deniz balığı kökenli desaturaz/elongaz genlerinin soya ve kanolaya eklenmesiyle, EPA ve DHA üretimi mümkün hale getirerek bitki bazlı uzun zincirli omega-3 asidi kaynaklarının geliştirilmesini sağlamıştır (West A.L. ve ark. 2021; Lin X.L. ve ark. 2022).

2.4.Gıda Kalitesi ve Raf Ömrü

Gıda ürünlerinin saklama ve tüketim sürelerinin artırılması, gıda israfını azaltmaya yönelik önemli bir biyoteknolojik yaklaşımdır. Genetik müdahaleler yoluyla polifenol içeriğinin düzenlenmesi, meyve ve sebzelerde kalitenin iyileştirilmesini sağlamaktadır.

Polifenol Artışı: Domatese *Del* ve *Ros1* genlerinin aktarılmasıyla yüksek antosiyanin ve antioksidan kapasiteye sahip mor domates hatları geliştirilmiştir (Colanero S. ve ark. 2021).

Polifenol Azalışı: Polifenol oksidaz (PPO) genlerinin RNA interferans (RNAi) yöntemiyle susturulması sonucunda, dilimlendiğinde kararına yapmayan Arctic® elması ticari olarak üretilmiş ve piyasaya sunulmuştur (Armstrong J. ve Lane W.D. 2013).

2.5.Endüstriyel ve Tıbbi Uygulamalar

Bitkiler biyoreaktör olarak kullanılarak tarımın ötesinde endüstri ve tıp alanlarında da önemli roller üstlenmektedir. Genetik olarak değiştirilmiş organizmalar (GDO) sayesinde biyofarmasötik üretim, yenilebilir aşılarda ve endüstriyel enzimler gibi yenilikçi uygulamalar geliştirilmektedir.

Yenilebilir Aşılarda; Patates, domates ve pirinçe aktarılan antijen protein üreten genler yardımıyla soğuk zincire ihtiyaç duymadan, düşük maliyetle ve tüketim yoluyla bağışıklık sağlamaktadır (Paradia P.K. ve ark. 2023).

Terapötik Proteinler ve Plantibody'ler; Transgenik bitkilerde ayrıca insülin, koagülasyon faktörleri, hormonlar gibi terapötik proteinlerin yanı sıra monoklonal antikor benzeri yapılar olan plantibody'ler üretilmekte ve bu sayede biyofarmasötik alanına ekonomik ve güvenilir ürünler sunulmaktadır (Komarova T.V. ve ark. 2019; Kumar V. ve ark. 2024).

Endüstriyel Enzimler ve Biyoyakıt olarak; Selüloz ve hemiselüloz hidrolizini sağlayan selülaz ve ksilanaz gibi enzim genlerinin aktarımıyla biyoyakıt üretimine katkı sağlanmakta, bu enzimler biyoyakıt üretiminin ön işleme aşamasında verimliliği artırmaktadır (Bryant N.D. ve ark. 2020).

2.6.Hayvan Biyoteknolojisi Uygulamaları

Hayvan biyoteknolojisinde de genetik düzenleme teknikleri kullanılmaktadır. Özellikle kas gelişimini düzenleyen myostatin geninin etkisizleştirilmesiyle çift kaslı fenotip gösteren hayvanlar geliştirilmiştir.

CRISPR-Cas9 teknolojisi ile myostatin geninde oluşturulan indel mutasyonları, sığırlarda belirgin kas hipertrofisi ve çift kaslı özellikler ortaya çıkarmıştır. Hayvanların mutasyonları germ hattı yoluyla sonraki nesillere aktarılan bu yaklaşım Anabolik steroid etkisine benzer şekilde kas gelişimini artırma potansiyeline sahip olmakla birlikte, araştırmalar, etik ve yasal tartışmalar devam etmektedir (Gim G.M. ve ark. 2022).

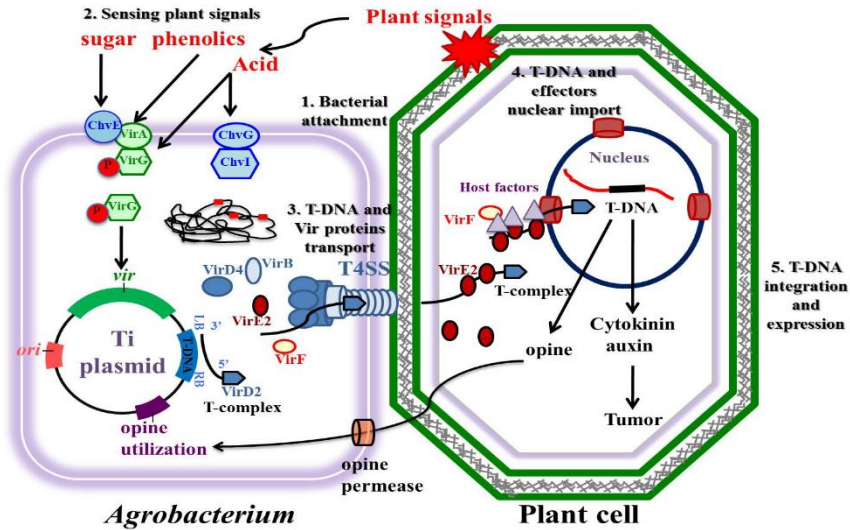
3.Gen Transfer Yöntemleri

Gen transferi, genetik materyalin hedef organizmaya aktarılmasını sağlayan biyoteknolojik bir süreçtir. Günümüzde bu alandaki yöntemler klasik biyolojik mekanizmalardan ileri nanoteknolojik sistemlere kadar çeşitlenmiştir. Modern gen aktarımında hedef; yüksek verimlilik, doku dostu uygulama,

yönlendirilmiş gen entegrasyonu ve doku kültürü gereksiniminin ortadan kaldırılmasıdır.

3.1. *Agrobacterium tumefaciens* Yöntemi

Doğal bir ‘gen mühendisi’ olan bakteri, Ti (tümör indükleyici) plazmidi adı verilen özel bir DNA yapısı aracılığıyla genleri bitki hücrelerine aktarır. *Agrobacterium*, yaralı bitki dokusuna tutunarak bitki hücresinden gelen sinyalleri algılar. Daha sonra T-DNA'yı ve Vir proteinlerini (VirD2, VirE2) hücreye aktarır ve T-DNA, bitki çekirdeğine girerek kromozoma entegre olur (Hwang H.H. ve ark. 2017).

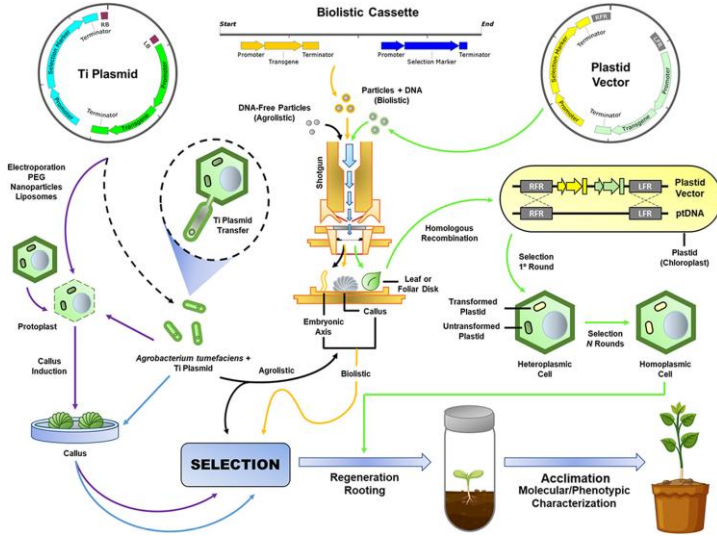


Şekil 1. Bitki hücrelerinde Ti plazmidi ve T-DNA entegrasyonunu içeren *Agrobacterium tumefaciens* aracılı gen transfer mekanizmasının diyagramı (Hwang H.H. ve ark. 2017).

3.2. Biyolistik (Gen Tabancası) Yöntem

DNA kaplı altın veya tungsten mikroparçacıklar yüksek basınçla bitki hücrelerine ateşleme temelinde bir yöntemdir. Özellikle mısır ve pamuk gibi tek çenekli bitkilere *Bacillus*

thuringiensis (Bt) bakterisinden böceklerle karşı toksin üreten genin aktarılması için sıklıkla uygulanmaktadır (Altpeter F. ve ark. 2005).



Şekil 2. GDO'lu bitki üretim teknolojisinin adımları (Basso M. F. ve ark. 2020)

Elde edilen bitkiler sera koşullarında test edilir, moleküler analizlerle genin doğru çalıştığı kontrol edilir ve son olarak tarla denemeleriyle performansları değerlendirilir. Bu süreç sonucunda hedeflenen özelliği taşıyan GDO'lu bitki elde edilir (Bkz. Şekil 2) (Basso M.F. ve ark. 2020).

3.3.Elektroporasyon

Bitki protoplastlarına ya da tek hücreli organizmalara, kısa süreli yüksek voltaj darbeleri uygulanarak hücre zarında geçici porlar oluşturma prensibine dayanır. DNA molekülleri hücreye buradan doğrudan giriş yapar. Son yıllarda geliştirilen mikroakışkan tabanlı elektroporasyon sistemleri, gen aktarımında hem enerji tasarrufu hem de eşit DNA dağılımı sağlamaktadır (Aracil C. ve ark. 2021).

3.4.Nanoparçacık tabanlı gen aktarımı

Nanoteknolojinin sağladığı en yeni yaklaşımlardan biridir. Biyouyumlu karbon nanotüpler, süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkları ve biyopolimer kaplı nanotaşıyıcılar, genetik materyalin hedef dokuya zarar vermeden iletilmesini sağlar. Doku kültürü gerektirmeyen hızlı transfeksiyon olanağı sunduğu için modern tarımsal biyoteknoloji araştırmalarında yaygın şekilde kullanılmaktadır (Liu S. ve ark. 2025).

4.Yasal Düzenlemeler ve Uluslararası Yaklaşımlar

4.1.Avrupa Birliği Modeli

GDO'lar konusunda dünyadaki en kapsamlı ve sıkı düzenleyici sistemlerden birini uygulayan AB yaklaşımı, genetik olarak değiştirilmiş ürünlerin piyasaya sürülmeden önce insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından ayrıntılı bilimsel değerlendirmeye tabi tutulmasını zorunlu kılan ihtiyatlılık ilkesi ve süreç odaklı bir metottur. Temel yasal dayanaklar 2001/18/EC Direktifi ve 1829/2003 sayılı Tüzüktür. Mevzuatlar çerçevesinde, herhangi bir GDO'lu gıda veya yem piyasaya çıkmadan önce risk değerlendirmelerine tabi tutulmaktadır (European Parliament and Council 2001, 2003).

Avrupa Birliği Genetiği Değiştirilmiş Gıda ve Yem Referans Laboratuvarı (EURL-GMFF), Avrupa Komisyonu bünyesinde bilimsel ve teknik referans laboratuvarı olarak önemli bir rolü vardır. Metotların değerlendirilmesi, Sertifikalı Referans Materyallerin (CRM) üretilmesi veya temini, laboratuvarlar arası karşılaştırma testleri (ring trials) ile bağımsız validasyonların yapılması ve GMOMETHODS veritabanı gibi kamuya açık bilgi araçlarının yönetilmesinden sorumludur. (European Parliament and Council 2001, 2003; Haspolat I. 2012). Yeterlilik testleri ve teknik eğitimler sayesinde, AB üyesi ülkeler ile Norveç, İsviçre, Türkiye gibi ilişkili

ülkelerdeki laboratuvarların uyumu Avrupa’da kurulan Ulusal Laboratuvar Ağı (ENGL) üzerinden desteklenmektedir (EURL-GMFF 2021).

Etiketleme açısından ise, AB’de GDO içeriği %0,9’un üzerinde olan ürünlerin açıkça etiketlenmesi zorunlu hale gelirken tüketici bilgilendirme ve piyasa kontrolünün etkin yürütülmesini sağlamaktadır. (EURL-GMFF 2021; Yıldız Ü. ve ark. 2024).

4.2.Türk Biyogüvenlik Mevzuatı

Türkiye’nin düzenleyici yaklaşımı, Cartagena Protokolü ve Avrupa Birliği modeline paralel olarak düzenlenmektedir. 2010 yılında yürürlüğe giren 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve bununla ilgili talimatlarda yapılan düzenleme ve yönetmeliklerle GDO başvurularının incelenmesinde görev ve sorumluluklar Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)’ne verilmiştir. Biyogüvenlik Kurulu, uzman bakanlık personeli ve bağımsız akademik üyelerden oluşan on bir kişilik bir karar alma organıdır. Başvurular, alanında uzman bilimsel komiteler tarafından risk, çevresel ve sosyo-ekonomik açılardan detaylı olarak değerlendirilir. Verilen izinler genellikle 10 yıl süreyle geçerlidir ve her başvuru kendi koşullarına göre düzenli olarak yeniden incelenmektedir (United Nations 2000; Biyogüvenlik Kanunu 2010,2024; Haspolat I. 2012).

Türkiye’de şu an için GDO’ların sadece hayvan yemi amacıyla kullanılan sınırlı sayıda soya ve mısır çeşidine izin verilmektedir; insan tüketimi için onaylanmış GDO ürünü bulunmamaktadır. GDO’lu bitki ve hayvanların üretimi, yetiştirilmesi ve bebek mamalarında kullanımı kesin olarak yasaktır. Güncel onaylı ürünler, başvuruların durumu ve yasal düzenlemeler Türkiye Biyogüvenlik Bilgi Değişim Mekanizması (TBBdM) portalında halkın erişimine açıktır (Sadikoglu E. ve Temur T. 2012; Yıldız Ü. ve ark. 2024).

Bu sistem sayesinde Türkiye, hem uluslararası biyogüvenlik protokollerine uyum sağlamakta hem de AB gibi bölgesel ortaklarının standartlarına paralel bilimsel, şeffaf ve kontrollü GDO yönetimi politikaları uygulamaksına rağmen ABD, Brezilya ve Arjantin gibi daha liberal yaklaşıma sahip ülkelerle ticari ilişkilerde çeşitli zorluklarla karşılaşabilmektedir.

4.3.Kalite Yönetimi ve Akreditasyon

GDO analizlerinde laboratuvarların güvenilir, izlenebilir ve uluslararası düzeyde karşılaştırılabilir sonuçlar sunabilmesi, kapsamlı bir kalite yönetim sistemiyle mümkündür. Bu kapsamda ISO/IEC 17025 standardına göre akreditasyon, laboratuvarların teknik yeterliliği ve kalite yönetim sistemlerinin etkinliğini belgeleyen en önemli uluslararası ölçüttür. Standardizasyon yalnızca kalite sisteminin kurulmasını değil, aynı zamanda üretilen sonuçların bilimsel geçerliliğinin ve uluslararası tanınırlığının sağlanmasını zorunlu kılar (Hougs L. ve ark. 2017; ISO 17025 2017; Tarım ve Orman Bakanlığı 2018).

ISO/IEC 17025, laboratuvarlarda tarafsızlık, bağımsızlık, kayıt ve doküman yönetimi, risk temelli yaklaşımlar, sürekli iyileştirme, iç denetim ve düzeltici faaliyetlerin yürütülmesi gibi yönetsel unsurları düzenler. Teknik yönden ise personel yeterliliği, altyapı uygunluğu, metot validasyonu, cihaz kalibrasyonu, ölçüm izlenebilirliği ve istatistiksel güvenilirlik standartların temel gereklilikleridir (ISO 17025 2020; TÜRKAK 2016).

Türkiye’de laboratuvar akreditasyonu, uluslararası tanınırlığa sahip tek ulusal otorite olan Türk Akreditasyon Kurumu (TÜRKAK) tarafından yürütülmektedir. TÜRKAK, ISO/IEC 17025 standardına uygun laboratuvarları denetleyerek, Avrupa Akreditasyon Birliği (EA), Uluslararası Laboratuvar Akreditasyon Birliği (ILAC) ve Asya Pasifik Akreditasyon İş Birliği (APAC) ile

yapılan Çok Taraflı Tanıma Anlaşmaları (MRA) aracılığıyla karşılıklı tanınırılığı sağlar. Birçok ülkede ‘bir kez test edildi, her yerde kabul edildi’ ilkesi doğrultusunda yürütülen test sonuçları geçerlilik kazanır ve tekrar test zorunluluğu ortadan kalkar (Sadikoglu E. ve Temur T. 2012; ISO 21569, 2005; ISO 21571, 2005). GDO ve biyogüvenlik analizleri Türkiye’de Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yetkilendirilmiş, TÜRKAK akreditasyonuna sahip laboratuvarlarda yürütülmektedir. Akreditasyon çapraz kontaminasyon riskini en aza indiren, standartlaştırılmış test ortamlarında yüksek doğruluk ve hassasiyet sağlar. Tüm paydaşlarca güvenilirliğini artırarak uluslararası ticaretin ‘teknik pasaportu’ işlevi görür. Böylelikle, hem ticari akışın kesintisiz yürütülmesi hem de kamu sağlığının korunması açısından önemli bir teminat oluşturur (TÜRKAK 2016; ISO 17025, 2017)

5.GDO Biyobelirteçleri

GDO biyobelirteçleri, temelde iki ana kategoride ele alınabilmektedir: DNA bazlı belirteçler ve protein bazlı belirteçlerdir. Bununla birlikte yeni nesil dizileme (NGS) gibi çeşitli moleküler tekniklerle de gerçekleştirilmektedir. Modern analitik yaklaşımlar, belirteçlerin hassas ve spesifik olarak belirlenmesini mümkün kılmakta ve GDO tanımlamasında yüksek doğruluk oranları sağlamaktadır (Broeders S. ve ark. 2014).

5.1.DNA Bazlı Biyobelirteçler

5.2.Promoter ve Terminator Sekansları

Aktarılan genin (transgen) konakçı organizmada doğru biçimde ifade edilmesini sağlayan kontrol dizileridir. GDO’ların büyük çoğunluğunda bu elementlerden en az biri bulunduğundan, tarama analizlerinde ilk hedef olarak değerlendirilir (Codex Alimentarius 2009; Querci M. ve ark. 2009)

35S Promotörü: Karnabahar Mozaik Virüsü (CaMV) kökenli bu promotör, bitkilerde güçlü ve sürekli gen ekspresyonunu tetikler. Yaygın kullanımı, transgen ifade sistemlerinde tercih edilmesini sağlar. Ancak CaMV'nin doğal enfeksiyon yaptığı bitkilerde de bu dizinin bulunması nedeniyle, pozitif sonuçlar doğrudan GDO varlığına kesin kanıt sayılmaz. Böylesi durumda doğrulama amaçlı olarak virüsün kendisi için de özel PCR testleri (donör kontrol) uygulanır. 35S promotörünün GDO tespitinde gösterge değeri yüksek olmakla birlikte, bu test tek başına yeterli değildir.

NOS Terminatörü (Nopalin Sentaz terminatörü): *Agrobacterium tumefaciens* adlı toprak bakterisinden elde edilen ve gen ifadesini sonlandıran (transkripsiyonu durduran) bir DNA dizisidir. p35S ile sıklıkla bir arada kullanılır. Çok yaygın kullanılan bir bitiş sinyalıdır.

FMV promotörü (Figwort Mozaik Virüsü promotörü): CaMV 35S'e alternatif olarak kullanılan viral bir promotördür. Transgen ifadelerinde benzer yüksek seviyede aktivite gösterir. Alternatif promotör kullanımı, özellikle gen ifadesinde çeşitlilik sağlamak veya CaMV 35S'e karşı bağışıklık geliştirmiş organizmalarda etkinlik sağlamak amacıyla tercih edilir (Querci M. ve ark. 2009).

Bu promoter ve terminator dizileri, moleküler taramalarda yaygın olarak hedef alınır ve GDO tespitinde kritik öneme sahiptir. Bunların varlığı, bitkide yabancı gen ifadesinin gerçekleştiğine dair güçlü kanıt sağlar ancak doğal viral enfeksiyonlar ayırt edilebilmek için ek testler gereklidir (Fraiture M.A. ve ark. 2017).

5.1.2.Gen-Spesifik Belirteçler

Herbisit toleransı: *Agrobacterium* sp. CP4 suşundan izole edilen CP4-EPSPS geni ile sağlanır. Bu gen, glifosata dirençli bir

EPSPS enzimi sentezleyerek bitkinin yaşam döngüsünü korur. Roundup Ready mısır ve soya tipleri buna klasik örnekleridir. 256 bp'lık CP4-EPSPS fragmanı, Real-Time PCR ile %0,1 düzeyine kadar hassasiyetle tespit edilebilir (Funke T. ve ark. 2006).

Böcek direnci: *Bacillus thuringiensis* kaynaklı cry genleriyle elde edilmektedir. Cry1Ab ve Cry1Ac genleri *Lepidoptera* (mısır kurdu), Cry3Bb1 ve mCry3A genleri *Coleoptera* (mısır kök kurdu) zararlısına etkilidir. Cry proteinleri böcek barsaklarındaki alkalik ortamda aktifleşir, spesifik reseptörlere bağlanarak por kanalları oluşturur ve lizis yoluyla hedef böceği öldürmektedir. Bitki, içsel bir pestisit kaynağına dönüşür ve dışarıdan uygulanan kimyasal pestisit ihtiyacını azaltır (Bravo A. ve ark. 2011).

Tablo 1: GDO Tespitinde Kullanılan Yaygın DNA ve Protein Biyobelirteçleri

Biyobelirteç Adı	Tipi	Kökeni	İşlevi	Yaygın Olarak Bulunduğu GDO'lar
p35S	DNA (Promotör)	Karnabahar Mozaik Virüsü (CaMV)	Transgen ifadesini başlatır	Mısır, Soya, Pamuk, Kanola
tNOS	DNA (Terminatör)	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Transgen ifadesini sonlandırır	Mısır, Soya, Pamuk, Kanola
pFMV	DNA (Promotör)	Figwort Mozaik Virüsü (FMV)	Transgen ifadesini başlatır	Mısır, Soya
CP4-EPSPS	DNA (Gen)	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> CP4	Glifosat herbisitine tolerans	Soya, Mısır, Pamuk, Kanola
CryIAb	DNA (Gen)	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Böcek direnci (Lepidoptera)	Mısır, Pamuk
bar / pat	DNA (Gen)	<i>Streptomyces</i> türleri	Glufosinat herbisitine tolerans	Mısır, Pamuk, Kanola, Soya
CP4 EPSPS	Protein	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> CP4	Glifosat herbisitini etkisiz kılar	Soya, Mısır, Pamuk, Kanola
Cry1Ab	Protein	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Böcek larvaları için toksiktir	Mısır, Pamuk

5.2. Protein Bazlı Biyobelirteçler

5.2.1. İmmunoanalitik Yöntemler

GDO'ların protein seviyesinde tespiti temelde immünolojik yöntemler kullanılarak ELISA ve lateral flow strip testleri yapılmaktadır. Bu yaklaşımların her ikisi de genin kendisine değil, o genin ürettiği spesifik transgenik proteinlerin varlığını doğrudan ölçme prensibine dayanır. Laboratuvar ortamında ELISA, özellikle CP4-EPSPS ve Cry proteinleri gibi yaygın hedefler için yüksek

özgüllük ve hassasiyet sağlayarak güvenilir bir analiz sunar (Van Duijn G. 2009). Lateral flow strip testleri ise pratiklidir ve sahada 15-20 dakika gibi kısa bir sürede sonuç vererek hızlı karar almayı mümkün kılmaktadır. Fakat bu protein temelli yaklaşımlarda yoğun ısıtıl işlem süreçlerinden geçen gıdalarda protein denatürasyonu olduğundan dolayı testlerin etkinliğini sınırlı durumdadır (Kim J. H. ve ark. 2015).

5.2.2. Western Blot Analizi

Spesifik transgenik proteinlerin varlığını güvenilir bir şekilde saptamak için elektroforetik ayırım (SDS-PAGE) ve immunodeteksiyon (Blotting) teknikleri bir arada kullanılır; bu yaklaşım proteinlerin hem moleküler büyüklüklerini hem de spesifik antijen-antikor etkileşimlerini temel alır. Yüklü protein moleküllerinin bir elektrik alanı altında boyutlarına göre ayrıştırıldığı SDS-PAGE ile başlar. Ardından, immunodeteksiyon aşamasında, bu ayrıştırılmış proteinler arasından hedef transgenik proteine özgü antikorlar kullanılarak kimlik tespiti yapılır. Bu iki aşamalı (boyut ve kimlik) analiz sayesinde GDO tespiti, protein miktarı ve yapısal özellikler değerlendirilerek sağlanır. Yöntemin en önemli avantajı, genin varlığını pasif olarak göstermek yerine, o genin aktif bir ürüne dönüştüğünü kanıtlayan protein ekspresyonunu doğrudan ölçerek güvenilir sonuçlar üretmesidir (Van Duijn G. 2009; Ahmed F.E. 2002).

6. Multiplex ve Yüksek Verimli Tarama Sistemleri

6.1. Multiplex PCR Yaklaşımları

Modern GDO analizlerinde birden fazla hedef bölgenin aynı anda belirlenebilmesi için multiplex PCR teknikleri geliştirilmiştir. Dörtlü (Fourplex) sistemler, 35S promotörü, tNOS terminatörü, epsps geni ve bitkiye özgü referans genlerini tek reaksiyonda çoğaltarak %0,1 gibi düşük seviyelerde GDO tespiti sağlar. Özellikle

mısır analizlerinde yaygın olan üçlü (triplex) PCR yönteminde ise 35S, Cry1Ab ve mısırdaki özgül zein geni aynı reaksiyonda saptanabilmek için analiz sürecini hızlandırmak ve doğruluğu artırmak için önemli avantajlar sunmaktadır (Germini A. ve ark. 2004).

6.2. Matris Bazlı Tarama Yaklaşımları

Matris bazlı tarama sistemleri çok sayıda transgenik olayı düzenli bir şekilde taramak için geliştirilmiş yöntemlerdir. Bilinen genetik bileşenlerin kombinasyonlarına dayanarak potansiyel transgenik olayları sınıflandırır ve tanımlar. Amaç, mümkün olan en fazla transgenik olayın tek analizde tespit edilmesini sağlayarak analitik işlemleri azaltmaktır. Özellikle içeriği karmaşık yapıya sahip, birden çok GDO içeren numunelerde, farklı gen veya dizilerin bulunmasıyla potansiyel transgenik olaylar aşama aşama elenebilir. Bu geniş kapsamlı tarama stratejisi, laboratuvarların zaman ve kaynak kullanımında tasarruf sağlamasının yanı sıra, çoklu tarama yöntemiyle analizlerin etkinliğini de artırmaktadır (Broothaerts W. ve ark. 2008; EURL-GMFF 2015)

7. Yeni Nesil Dizileme Teknolojileri

7.1. NGS Tabanlı GDO Tespiti

Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing-NGS) teknolojileri, GDO analizine büyük bir yenilik katmaktadır; klasik PCR tabanlı testlerin ulaşamadığı bilinmeyen veya yetkisiz transgenik yapıları da ortaya çıkarabilmesine rağmen NGS sistemi örnekteki transgenik insertlerin tüm sekansları ve bu dizilerin bitki genomundaki yerleşim alanları ayrıntılı biçimde çözülebilir. Bilinen GDO tipleri değil, kapsam dışı veya hiç raporlanmamış varyantlar da hassas bir şekilde tanımlanabilir. Gıda ve yem numunelerinde moleküler düzeyde eksiksiz bir profil sunarak düzenleyici kurumların gözetimini ve izlenebilirliği güçlendirdiği belirtilmektedir (Fraiture M. A. ve ark. 2017).

7.2.Hedeflenmiş Amplikon Dizileme

Hedeflenen ampikon sekanslama aynı anda yüzlerce primer çiftinin kullanımına izin vererek, çok sayıda farklı GDO dizisinin birlikte analiz edilmesini sağlar. Genel olarak %1 ile %10 arasında değişen hassasiyetle güvenilir sonuçlar verir. Elde edilen dizileme verileri sayesinde amplifikasyon ürünlerinin doğruluğu doğrudan sekans analizleriyle onaylanabilir. Bu sayede hem kapsamlı hem de yüksek doğrulukta GDO taramaları yapılabilmektedir. (Fraiture M. A ve ark. 2017).

7.3.Yakalama Bazlı Zenginleştirme (Capture-Based Enrichment)

GDO analizlerinde adeta bir mıknatıs gibi çalışarak, problemler olarak bilinen özel tasarlanmış moleküller aracılığıyla hedeflenen transgenik DNA dizilerini karışımdan seçici biçimde ayrıştırır. Özellikle karma yapılı veya düşük seviyede GDO içeren numunelerde analiz hassasiyetini ve özgüllüğünü muazzam derecede artırır. Yöntemin sunduğu asıl kritik avantaj ise işlenmiş gıdalar gibi zorlu materyallerde ortaya çıkar; zira bu gıdalarda DNA bütünlüğü bozulmuş olsa bile, bu teknik düşük miktardaki genetik modifikasyonları o karmaşa içinden güvenilir bir şekilde yakalayıp tespit edebilmektedir (Fraiture M.A. ve ark. 2017).

8.Yenilikçi Teknolojik Yaklaşımlar

8.1.CRISPR-Cas Tabanlı Tespit Sistemleri

Gen düzenleme teknolojisi olarak ön plana çıkan CRISPR-Cas, artık GDO tespitinde yeni nesil biyosensörlerin temelini oluşturmaktadır. Hedef DNA dizilerini olağanüstü bir özgüllükle tanıyarak geleneksel PCR yöntemlerine güçlü bir alternatif sunmaktadır. Özellikle CRISPR-Cas12 ve Cas13 gibi enzimler, hedef diziyi tanıdıktan sonra ortamdaki diğer tek sarmal DNA veya RNA moleküllerini ayırım gözetmeksizin kesme yeteneğine sahiptir.

Sinyal üreten problemlerle birleştirilerek basit ve hızlı tespit platformları oluşturulmasını sağlar. Böylece laboratuvar dışında, sahada hızlı sonuç alınması gereken ‘point-of-care’ uygulamalar için yanal akış (lateral flow) formatına başarıyla adapte edilmektedir (Chen Y. ve ark. 2021; Zhang Z. ve ark. 2022)

Bu uygulamanın en büyük avantajları arasında PCR gibi sıcaklık döngüsü gerektirmemesi (izotermal çalışması), hızlı sonuç vermesi ve ekipman ihtiyacını azaltarak sahada kullanım kolaylığı sunması yer almaktadır. Bununla birlikte, hedefi tanıyacak olan kılavuz RNA'nın (guide RNA) tasarımı, sistemin optimizasyonu ve analitik standartların oluşturulması gibi teknik konular, yaygın kullanıma geçmeden önce geliştirilmesi gereken alanlardır (Chen Y. ve ark. 2021; Zhang Z. ve ark. 2022).

8.2.Dijital PCR Teknolojileri

Dijital PCR (dPCR) sistemleri özellikle düşük miktardaki hedef DNA'nın kesin miktarını (mutlak kantifikasyon) belirlemek için tasarlanmış ileri düzey bir teknolojidir. Standart kantitatif PCR'dan (qPCR) temel farkı, reaksiyon karışımının binlerce hatta milyonlarca mikroskobik bölmeye ayrılmasıdır. qPCR'ın aksine bir kalibrasyon eğrisine ihtiyaç duymaması ve seyreltik veya karışık numunelerde çok daha hassas ve güvenilir sonuçlar vermesi gibi önemli avantajlar sunmaktadır (Köppel R. ve ark. 2017).

Yöntemin en yaygın uygulaması olan Damlacık Dijital PCR (ddPCR), reaksiyon bölmelerini su-yağ emülsiyonu içinde oluşturulan minik damlacıklar olarak kullanmaktadır. ddPCR, özellikle işlenmiş gıdalar gibi heterojen numunelerde veya izin verilen yasal sınırların altındaki çok düşük GDO oranlarının tespitinde üstün bir performans göstermektedir (Dobnik D. ve ark. 2015; Köppel R. ve ark. 2017).

8.3.Mikroakışkan Sistemler

Mikroakışkan (microfluidic) teknolojik sistemleri GDO analiz süreçlerini azaltarak tek bir çip üzerinde toplamak için geliştirilmiş sistemlerdir. Numune hazırlama, DNA izolasyonu, PCR analizi ve sonuçların değerlendirilmesi gibi aşamalar entegre ve otomatik platformda yapılmaktadır. Mililitreler yerine mikrolitre seviyesinde numune ve reaktif kullanılması, hem maliyetleri azaltmakta hem de kapalı devre çalışmanın sağladığı kontaminasyon riskini en aza indirerek analiz süresini kısaltmaktadır. Yüksek verimli amplikon dizilemeler için uygundur; yüzlerce hatta binlerce primer baz çiftini tek seferde kullanabilme kapasitesi sayesinde karmaşık GDO taramalarında etkinlik sağlar. Çip üzerinde paralel yürütülen reaksiyonlar sayesinde çok sayıda GDO analizinin detaylı ve kapsamlı bir biçimde tespit edilebildiği belirtilmiştir (Aracil C. ve ark. 2021; Gerber A. ve ark. 2017).

Tablo 2: GDO Tespit Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Analizi

Yöntem Kategorisi	Yöntem Adı	Temel Prensip	Tespit Türü	Hassasiyet & Özgüllük	Hız & Maliyet	Başlıca Avantajları	Başlıca Dezavantajları	Ana Kullanım Alanı
1. Protein Bazlı (Hızlı, ucuz, ancak işlenmiş gıdalarda etkisiz)	Lateral Flow (Hızlı Şerit Test)	Antijen-antikor etkileşimi ile spesifik GDO proteinini görsel olarak tespit eder.	Kalitatif (Var/Yok)	Orta / İyi	Çok Hızlı (5-15 dk) / Çok Düşük	- Sahada kullanıma uygun - Hızlı ve ucuz - Uzmanlık gerektirmez	- Kantitatif değil - İşlenmiş gıdalarda etkisiz - Düşük hassasiyet	Saha Taraması, ham madde alımı, hızlı ön kontrol.
	ELISA	Antijen-antikor etkileşimi ile GDO proteinini enzimatik renk değişimiyle ölçer.	Kantitatif / Yarı-Kantitatif	Orta-Yüksek / Yüksek	Hızlı (2-4 saat) / Düşük	- Yüksek sayıda numune analizi - Kantitasyon imkanı - Uygun maliyetli	- İşlenmiş gıdalarda etkisiz - PCR kadar hassas değil	Ham madde taraması, kalite kontrol laboratuvarları.
2. DNA Bazlı (PCR) (En yaygın, hassas ve yasal standart)	Real-Time PCR (qPCR)	Hedef DNA'yı floresan sinyal ile anlık olarak çoğaltıp miktarını belirler.	Kantitatif (Nispi Miktar)	Çok Yüksek / Çok Yüksek	Orta (3-5 saat) / Orta	- Altın Standart - Yüksek hassasiyet ve özgüllük - Yasal denetim için uygun	- Yüksek başlangıç maliyeti - Kalibrasyon gerektirir	Yasal Uygunluk ve Etiketleme Denetimi, sertifikasyon.
	Dijital PCR (dPCR)	Numuneyi binlerce bölmeye ayırarak hedef DNA'nın mutlak kopya sayısını hesaplar.	Mutlak Kantitatif	Ekstrem Yüksek / Çok Yüksek	Orta (4-6 saat) / Yüksek	- Kalibrasyon gerektirmez - Düşük miktarlar için ideal - Referans analizlerde üstün	- Çok pahalı numune - Düşük kapasitesi	Referans materyal üretimi, düşük seviyeli GDO tespiti.

	Multiplex PCR	Tek reaksiyonda birden fazla hedef DNA bölgesini aynı anda çoğaltır.	Kalitatif veya Kantitatif	Yüksek / Yüksek	Verimli (Süreyi kısaltır) / Orta	• Yüksek verimli tarama • Zamandan ve maliyetten tasarruf • Az numune ile çoklu analiz	• Kompleks tasarım ve optimizasyon gerektirir	Geniş spektrumlu tarama, rutin kalite kontrol.
3. Gelişmiş Moleküler (En kapsamlı, araştırma ve doğrulama odaklı)	Yeni Nesil Dizileme (NGS)	Milyonlarca DNA parçasını aynı anda dizileyerek GDO'nun tam genetik profilini çıkarır.	Kalitatif ve Kantitatif	Ekstrem Yüksek / Ekstrem Yüksek	Uzun (1-3 gün) / Çok Yüksek	• Bilinmeyen/onaysız GDO'ları tespit eder • En kapsamlı bilgiyi sunar • Entegrasyon yerini belirler	• Veri analizi karmaşık • Çok pahalı ve yavaş • Yüksek uzmanlık gerektirir	Onaysız GDO araştırması, bilimsel Ar-Ge, risk analizi.
4. Yenilikçi Platformlar (Geleceğin hızlı, taşınabilir ve otomatik sistemleri)	CRISPR-Cas Tabanlı	Cas enziminin hedef DNA'yı tanıyarak kesmesi ve bu sırada bir sinyal oluşturmaları.	Kalitatif (Var/Yok)	Yüksek / Ekstrem Yüksek	Çok Hızlı (30-60 dk) / Düşük	• PCR cihazı gerektirmez (izotermal) • Çok hızlı ve spesifik • Sahada kullanım potansiyeli	• Henüz yeni bir teknoloji • Standardizasyon eksikliği	Geleceğin hızlı tarama ve doğrulama sistemleri.
	Mikroakışkan Sistemler (Lab-on-a-Chip)	Tüm analiz adımlarını (hazırlık, reaksiyon, tespit) tek bir minyatür çip üzerinde birleştirir.	Entegre metoda bağlı	Yüksek / Yüksek	Çok Hızlı (Otomatik) / Orta	• Tam otomasyon • Çok düşük reaktif tüketimi • Taşınabilir sistem potansiyeli	• Az esnek, geliştirme maliyeti yüksek	Point-of-care (yerinde) testler, otomatik platformlar.

9. Analiz Stratejisi ve Uygulama

Gıda ve yem güvenliğinin sağlanmasında hiyerarşik analiz stratejisi, numune hazırlamadan kantifikasyona kadar tüm adımları kapsamlı ve sistematik bir biçimde tanımlamaktadır. Süreç içindeki kaynak ve zaman kullanımını optimize ederken analiz sonuçlarının hem yasal hem teknik açıdan kesinlik ve güvenilirlik sağlamasını mümkün kılar. Tarım ve Orman bakanlığı, Gıda Ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nün yayınladığı Gdo Analiz Stratejisi Uygulama Talimatı doğrultusunda iş ve işlemler takip edilir. (Tarım ve Orman Bakanlığı 2018).

9.1. Numune Hazırlama ve DNA Ekstraksiyonu

Gıda analizinde DNA izolasyonu gıda matrisinin karmaşık yapısı nedeniyle laboratuvar çalışmalarında en kritik ve zorlu adımdır. Yağ, protein, polisakkarit ve PCR inhibitörleri gibi birçok bileşen DNA saflaştırmasını güçleştirmektedir. PCR analizi öncesinde saf DNA elde etmek analiz sonucunun doğruluğunu doğrudan etkiler. Gıda içeriği ve gıdaya uygulanan işlemler, analizde kullanılacak yöntemin seçiminde belirleyicidir ve farklı türdeki yem ve gıdalar için özel yaklaşımlar uygulanmaktadır. Örneğin, yağlı gıdalarda hekzan lipidleri çözer, SDS (sodyum dodesil sülfat) proteinleri ve yağları çözerek lizisi sağlar, Proteinaz K hücresel proteinleri parçalar, sodyum asetat ve etanol/izopropanol ise DNA'nın çökmesini kolaylaştırmaktadır (Holst-Jensen ve ark. 2003; ISO 21570 2005).

Analizlerde yaygın şekilde uygulanan yöntemlerin temelini DNA'nın silika yüzeylere seçici olarak bağlanması prensibine dayanan **katı faz ekstraksiyonu** oluşturur. Yüksek tuz ve alkol içeren tampon ortamlarında DNA, silika materyaline kuvvetle bağlanırken kirleticiler uzaklaştırılır. Elde edilen DNA, düşük tuzlu elüsyon tamponuyla geri kazanılarak PCR gibi analizlerde kullanılacak saflığa ulaşır. Silika teknolojisinin yaygın iki

uygulaması **spin kolon** ve **manyetik boncuk** sistemleridir (Özatay Ş. 2012).

Spin kolon yöntemi, santrifüj gücüyle çalışan silika membran tabanlı kitlerde uygulanır ve kısa sürede yüksek saflıkta DNA verir. Ancak çok yağlı veya nişastalı gıdalarda membran tıkanmaları verimi düşürebilmektedir.

Manyetik boncuk yönteminde ise DNA, manyetik silika partiküllerine bağlanır ve fiziksel ayırma mıknatıs yardımıyla yapılır. Birçok gıda ve yem numunesinde kolaylıkla kullanılmakla beraber özellikle viskoz veya partiküllü gıdalarda iyi sonuçlar vermektedir.

Ayrıca bazı klasik yöntemler de uygulanmaktadır. Bunların başında **CTAB** (setiltrimetilamonyum bromür) yöntemi gelir. CTAB pozitif yüklü bir deterjan olup, bitkisel gıdalardaki polisakkaritleri ve polifenolleri uzaklaştırarak DNA'nın çözeltide kalmasını sağlar. Organik çözücülere dayalı **fenol-kloroform ekstraksiyonu**, DNA'yı yüksek saflıkta elde etmeyi mümkün kılar ancak toksik kimyasallar içerdiği için günümüzde sınırlı kullanılır. Numunenin içerdiği protein ve yağlar, fenol ve kloroform fazlarına ayrılarak uzaklaştırılır; DNA ise sulu fazda toplanır. Bunlara ek olarak, **tuzla çöktürme** ve **hızlı lizis (Chelex veya kaynatma)** gibi yöntemler daha pratik ve toksik olmayan çözümler sunar. Tuzla çöktürme, yüksek tuz konsantrasyonu ile proteinleri çöktürürken DNA'yı sulu fazda bırakır. Hızlı lizis teknikleri ise saflaştırma adımı olmadan doğrudan DNA elde edilmesini sağlar ve genellikle hızlı GDO taramaları gibi düşük hassasiyetli uygulamalarda kullanılır (Holst-Jensen ve ark. 2003; Özatay Ş. 2012).

Tüm bu yöntemler ve yardımcı yöntemler aracılığıyla ekstrakte edilen DNA'nın kalitesi ve saflığı spektrofotometrik ölçümlerle (A260/280 değeri 1,8-2,0 aralığında) doğrulanır, bu

parametreler PCR amplifikasyon verimliliği ve sonuçların güvenilirliği üzerinde doğrudan etkilidir.

9.2.Tarama (Screening) Aşaması

Analiz stratejisinin kalitatif (var/yok) basamağıdır, numunede genel bir GDO varlığını hızlı, hassas ve ekonomik olarak tespit edilmesini sağlar. Ticari olarak en yaygın kullanılan GDO türlerinde bulunan ve yaklaşık %90'ından fazlasında ortak olan p35S promotörü, tNOS terminatörü ve pFMV promotörü gibi genetik elementler hedef alınır. Real-Time PCR yöntemleri tercih edilerek, bir reaksiyonda birden fazla marker aynı anda taranabildiği için analiz süreleri kısaltarak süre ve maliyet olarak fayda sağlamaktadır (Özatay Ş. 2012)

Negatif sonuç durumunda Markerların da negatif olduğu bölgelerden bilinen gen bölgelerin taraması yapılır; bunlar da negatif çıkarsa numune büyük olasılıkla GDO içermiyordur ve analiz gereksiz zaman ve maliyet harcamadan analiz sonlandırılabilir.

Pozitif tespitlerde; Sadece p35S pozitifliği gösteren durumlarda, numunenin gerçek GDO içerip içermediğini kesinleştirmek için CaMV virüs varlığı gibi ek doğrulamalar yapılır. Diğer markerların pozitif olması durumuna göre ileri analizlere gidilir (Tarım ve Orman Bakanlığı 2018; EURL-GMFF 2015; 2020; Corbisier P. ve ark. 2007).

9.3.Bitki-Spesifik Kontrol

Tarama aşamasında GDO tespit edildiğinde ya da belirgin sonuç alınamadığında, numunenin içerdiği bitki türüne ait genetik materyalin doğrulanması gerekir. Analizin izlenebilirliği ve yasal uygunluğunun sağlanması açısından bu adım önemlidir. Bitki-spesifik kontrollere soya için lektin, mısır için zein genleri başta olmak üzere pamuk, kanola, şeker pancarı gibi türlere özgü referans genler dahil edilir. PCR sonucu pozitif çıkan GDO elementleri ile

ilgili bitki türüne ait olduğunun kesinleşmesi bu şekilde sağlanır. Aynı zamanda, bitki türü doğrulaması, analiz sonuçlarının biyolojik kaynağını belirler ve düzenleyici standartlarla tam uyumlu olarak raporlanmasına imkan verir. Kontrol aşaması ile GDO analizinin güvenilirliği ve kabul edilebilirliğini artırdığı belirtilmiştir (Querci M. ve ark. 2009; Grohmann ve ark. 2009).

9.4.Tip Belirleme (Event-Specific) Analizi

Her bir transgenik tip, genomda kendine özgü entegrasyon bölgesine sahip benzersiz bir moleküler yapıyla tanımlandığından dolayı event-spesifik PCR analizlerinde primer ve prob setleri, hem bitkinin kendi DNA'sına hem de aktarılan transgen dizisine özgü olarak tasarlanır. Genelde 60–150 baz çifti uzunluğundaki birleşim bölgeleri çoğaltılır ve bu bölgenin amplifikasyonu yalnızca hedef transgeni taşıyan örneklerde gerçekleşir. Örneğin MIR604, Bt11 ya da DAS40278 gibi mısır GDO tipleri yalnızca kendi spesifik DNA yapısı üzerinden kesin olarak ayrıştırılarak tanımlanabilme imkanı sunmaktadır (EU Regulation No 1829/2003; EURL-GMFF, 2015; 2021; Holst-Jensen ve ark. 2003).

Tip belirleme, özellikle regülasyon açısından büyük önem taşımaktadır. Çünkü farklı transgenik tipler, farklı güvenlik değerlendirmelerine tabi tutulmakta ve farklı onay süreçlerinden geçmektedir. Tüm onay alan, onay sürecinde ve ya onaysız GDO tipleri yasal sorumluluk açısından kritik öneme sahiptir. Event-spesifik analizler, GDO tespitinde altın standart kabul edilir ve bu sonuçlar düzenleyici kurumlarca kanıt niteliği taşımaktadır (Holst-Jensen ve ark. 2003; Querci M. ve ark. 2009).

9.5.Kantitatif Analiz Yöntemleri

9.5.1. Real-Time PCR Sistemleri

Kantitatif Real-Time PCR (qPCR), GDO miktarının hassas biçimde belirlenmesinde altın standart yöntem olarak kabul edilir.

GDO'ya özgü hedef diziler ile aynı zamanda bitkiye özgü referans gen dizileri eş zamanlı olarak amplifiye edilerek **nispi kantifikasyon** yapılır. qPCR sistemleri %0.1 seviyesine kadar GDO kantifikasyonu yapabilmekte ve AB reglasyonlarının gerektirdiği %0,9 eşik değerinin çok altında tespit yapabilmektedir (Bustin S. A. ve ark. 2009)

TaqMan prob teknolojisi qPCR metodunun özgülüğünü artıran kritik bileşendir. TaqMan probu, hedef DNA dizisine özgü kısa bir oligonükleotid olup, 5' ucunda bir floresan raportör ve 3' ucunda bir floresan baskılayıcı (quencher) taşır. Prob, hedef diziye hibridize olduğunda, PCR polimerazın 5'→3' ekzonükleaz aktivitesi sonucu probun degradasyonu gerçekleşir. Böylece raportör floresan serbest kalır ve her PCR döngüsünde artan sinyal, hedef dizinin miktarına orantılı olarak ölçülür. Bu mekanizma non-spesifik amplifikasyonların önüne geçer ve yüksek spesifite sağlar (Bustin S. A. ve ark. 2009; EURL 2015).

9.5.2.Kopya Sayısı Hesaplamaları

GDO kantifikasyonunda, transgenik gen kopya sayısının, numunedeki toplam genomik kopya sayısına oranı hesaplanır. Bu oran GDO yüzdesi olarak ifade edilir ve genellikle formül:

$\%GDO = (\text{Transgenik Gen Kopya Sayısı} / \text{Referans Gen Kopya Sayısı}) \times 100$ şeklindedir.

EURL-GMFF'nin onaylı yöntemlerine göre, genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) analizlerinde farklı bitkiler için kullanılan referans genler, endojen DNA miktarını ölçmek ve transgenik DNA oranını doğru şekilde hesaplamak amacıyla standartlaştırılmıştır.

Soya (Glycine max) için genellikle lektin (Le1, Lec) genleri referans olarak kabul edilmektedir. Mısır (Zea mays) analizlerinde ise zein ve hmg (high mobility group) genleri kullanılır. Kanola

(Brassica napus) için referans genler crua (cruciferin A) ve fata (fatty acid thioesterase A) genleridir. Pamukta (Gossypium hirsutum) referans genler arasında adhC (alcohol dehydrogenase C) ve acp1 (acetyl-CoA carboxylase paralog 1) yer alır. Şeker pancarı (Beta vulgaris) analizlerinde ise referans gen olarak gs (glutamine synthetase) geni tercih edilir (EURL-GMFF, 2015;2021).

Kantitatif hesaplamalarda en yaygın yöntemlerden biri olan **ΔC_t metodunda**, hedef genin C_t değeriyle referans genin C_t değeri arasındaki fark ($\Delta C_t = C_{t_{hedef}} - C_{t_{referans}}$) temel alınır. Nispi miktar ise $2^{-\Delta C_t} \times 100$ formülüyle bulunur. Hesaplama, primerlerin amplifikasyon verimliliği hesaplamaya dahil edilerek ölçüm doğruluğu artırmaktadır (Livak K. J. ve Schmittgen T.D. 2001).

Analizlerde güvenilirlik **sertifikalı referans materyaller (CRM)** ile oluşturulan kalibrasyon eğrileriyle artırılır. Başarılı ve güvenilir bir qPCR analizi için:

- Kalibrasyon eğrisi $R^2 \geq 0.98$ olmalı,
- Amplifikasyon verimliliği %90-110 arasında olmalı,
- Eğimin -3.1 ile -3.6 arasında olması gerekir;

Bu standartlar sağlandığında, analiz sonuçları Avrupa Birliği'nin %0,9 tolerans eşik değerinin çok altında olan %0.1 düzeyinde dahi güvenilir şekilde, yüksek hassasiyet, özgüllük ve doğruluk, GDO tespiti ve kantifikasyonunda kritik önem taşıyan kalite parametreleridir ve düzenleyici kurumların gerekliliklerini tam olarak karşılar (Bustin S. ve ark. 2009; Çalış, 2010; EURL 2015;2020).

9.5.3.Biyoinformatik Araçlar ve Veritabanları

Genetik olarak değiştirilmiş organizmaların (GDO) analizi için referans veritabanları ve biyoinformatik araçlar büyük önem taşır. Avrupa Birliği Referans Laboratuvarı sisteminde onaylanmış

transgenik tiplerin genetik karakterizasyonu, primer-prob dizileri ve validasyon kayıtları düzenli biçimde yer alır. GMO Matrix gibi araçlar, elde edilen genetik elementlerin kombinasyonlarını analiz ederek potansiyel transgenik tiplerin hızlıca tahmin edilmesini sağlar ve bu yaklaşım laboratuvar analizlerinde hem doğruluk hem de hız açısından ciddi avantaj sunmaktadır (Holst-Jensen, 2009; EURL, 2020;2024)

KAYNAKLAR

Achary VMM, Sheri V, Manna M, Panditi V, Borphukan B, Ram B, Agarwal A, Fartyal D, Teotia D, Masakapalli SK, Agrawal PK, Reddy MK. Overexpression of improved EPSPS gene results in field level glyphosate tolerance and higher grain yield in rice. *Plant Biotechnol J*. 2020 Dec;18(12):2504-2519. doi: 10.1111/pbi.13428. Epub 2020 Jul 24. PMID: 32516520; PMCID: PMC7680544.

Ahmed, F. E. (2002). Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotechnology*, 20(5), 215-223. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(02\)01920-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(02)01920-5)

Altpeter, F., Baisakh, N., Beachy, R., Bock, R., Capell, T., Christou, P., Daniell, H., Datta, K., Datta, S., Dix, P. J., Fauquet, C., Huang, N., Kohli, A., Mooibroek, H., Nicholson, L., Nguyen, T. T., Nugent, G., Raemakers, K., Romano, A., Somers, D. A., Stoger, E., Taylor, N., & Visser, R. (2004). Biotechnology and molecular breeding in plants. *Molecular Breeding*, 13, 1–20. <https://doi.org/10.1007/s11032-004-8001-y>

Aracil, C., Martínez-López, D., Obón, J. M., & Castellar, M. R. (2021). Microfluidic devices for the analysis of genetically modified organisms: a review. *Foods*, 10(11), 2736.

Armstrong J. ve Lane WD. (2013) GENETICALLY MODIFIED REDUCED-BROWNING FRUIT-PRODUCING PLANT AND PRODUCED FRUIT THEREOF, AND METHOD OF OBTAINING SUCH United States Patent Patent No.: US 8,563,805 B2

Basso, M. F., Arraes, F. B. M., Grossi-de-Sa, M., Moreira, V. J. V., Alves-Ferreira, M., & Grossi-de-Sa, M. F. (2020). Insights Into Genetic and Molecular Elements for Transgenic Crop Development. *Frontiers in plant science*, 11, 509. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.0050>

Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S. S., & Soberón, M. (2011). *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41(7), 423–431. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.02.006>

Broeders, S., Fraiture, M. A., Vandermassen, E., Delforge, C., De Keersmaecker, S., & Roosens, N. (2014). New trends in GMO detection. *Trends in Analytical Chemistry*, 55, 89-100. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.006>

Broothaerts, W., D'Hondt, E., Eeckhout, N., Vandermassen, E., Van den Bulcke, M., & Van Gils, W. (2008). A matrix-based approach for the development of a GMO screening strategy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392(3), 441-450. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2236-9>

Bryant, N. D., Pu, Y., Tschaplinski, T. J., Tuskan, G. A., Muchero, W., Kalluri, U. C., Yoo, C. G., & Ragauskas, A. J. (2020). Transgenic Poplar Designed for Biofuels. *Trends in plant science*, 25(9), 881–896. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.03.008>

Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Helleman, J., Huggett, J., Kubista, M., ... & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative Real-Time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611-622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>

Chen, Y., Mei, Y., Wang, Y., Zhu, Y., & Li, Y. (2021). Recent advances in CRISPR/Cas-based biosensors for the detection of genetically modified organisms. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 761108.

Codex Alimentarius (2009). Principles for the risk analysis of foods derived from biotechnology.

Colanero, S., Perata, P., & Gonzali, S. (2020). What's behind Purple Tomatoes? Insight into the Mechanisms of Anthocyanin Synthesis in Tomato Fruits. *Plant physiology*, 182(4), 1841–1853. <https://doi.org/10.1104/pp.19.01530>

Corbisier, P., Kubista, M., & Huggett, J. (2007). Quantitation of GM maize DNA by Real-Time PCR. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 201–210.

Çalış, Ö. (2010). Genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO) kalitatif ve kantitatif analizleri için multipleks PZR yöntemlerinin geliştirilmesi [Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi]. YÖK Tez Merkezi.

Dobnik, D., Spilsberg, B., Bogožalec Košir, A., Holst-Jensen, A., & Žel, J. (2015). Droplet digital PCR for GMO detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(23), 6981-6988.

ENGL/EURL-GMFF. (2015). Method performance requirements for GMO analysis. European Commission Joint Research Centre.

European Parliament and Council. (2001, March 12). Directive 2001/18/EC on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. *Official Journal of the European Union*, L 106, 1-39. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2001/18/oj/eng>

European Union Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed [EURL GMFF]. (2021, September 30). European Union Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed. Joint Research Centre. <https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu>

European Union. (n.d.). EU regulatory framework on GMOs. Retrieved October 13,

2025,from https://www.ab.gov.tr/files/tarama/tarama_files/27/SC27_EXP_GMO%20legislation.pdf

Fraiture, M. A., Saltykova, A., Hoffman, S., Winand, R., Deforce, D., De Keersmaecker, S., & Roosens, N. H. (2017). An integrated next-generation sequencing and bioinformatics pipeline for the comprehensive analysis of the insert and its flanking regions in genetically modified organisms. *Food Chemistry*, 237, 861-870. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.014>

Funke, T., Han, H., Healy-Fried, M. L., Fischer, M., & Schönbrunn, E. (2006). Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(35), 13010-13015. <https://doi.org/10.1073/pnas.0603632103>

Gerber, A., Gorkin, R., & Demosthenous, A. (2017). A review of microfluidic platforms for GMO detection. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 27(9), 093001.

Germini, A., D'Amico, F., Corbisier, P., & Rossi, F. (2004). Development of a four-target multiplex PCR-based method for the simultaneous detection of the 35S promoter, the NOS terminator, the NPTII and the PAT specific sequences in genetically modified organisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12), 3625-3631. <https://doi.org/10.1021/jf035417i>

Gim, G. M., Kwon, D. H., Eom, K. H., Moon, J., Park, J. H., Lee, W. W., Jung, D. J., Kim, D. H., Yi, J. K., Ha, J. J., Lim, K. Y., Kim, J. S., & Jang, G. (2022). Production of MSTN-mutated cattle without exogenous gene integration using CRISPR-Cas9. *Biotechnology journal*, 17(7), e2100198. <https://doi.org/10.1002/biot.202100198>

Grohmann, L., Schöpke, S., & Zank, R. (2009). Event-specific methods for GMO analysis. *European Food Research and Technology*, 228(4), 531–541.

Haspolat I. (2012) “Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Biyogüvenlik”, Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, Yıl: Mart, 2012, Cilt: 59, Sayı: 1, 75 80, s. 78.

Holst-Jensen, A. (2009). Testing for genetically modified organisms (GMOs): Past, present and future perspectives. *Biotechnology Advances*, 27(6), 1071-1082.

Holst-Jensen, A., De Loose, M., & Van den Bulcke, M. (2003). Detecting unknown GMOs: event-specific strategies. *Journal of Food Science*, 68(2), 412–417.

Hougs, L., Gatto, F., Goerlich, O., Grohmann, L., Lieske, K., Mazzara, M., Narendja, F., Ovesná, J., Papazova, N., Scholtens, I., & Žel, J. (2017). Verification of analytical methods for GMO testing when implementing interlaboratory validated methods (Version 2). European Commission, Joint Research Centre. <https://doi.org/10.2760/645114>

Hwang, H. H., Yu, M., & Lai, E. M. (2017). Agrobacterium-mediated plant transformation: biology and applications. *The arabidopsis book*, 15, e0186. <https://doi.org/10.1199/tab.0186>

International Organization for Standardization. (2005). ISO 21571:2005 — Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Nucleic acid extraction. <https://www.iso.org/standard/34616.html>

International Organization for Standardization. (2006). ISO 24276:2006 — Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — General requirements and definitions. <https://www.iso.org/standard/37125.html>

International Organization for Standardization. (2013). ISO 21569:2005/Amd 1:2013 — Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Qualitative nucleic acid based methods — Amendment 1. <https://www.iso.org/standard/34614.html>

International Organization for Standardization. (2013). ISO 21570:2005/Amd 1:2013 — Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Quantitative nucleic acid based methods — Amendment 1. <https://www.iso.org/standard/34615.html>

International Organization for Standardization. (2017). ISO/IEC 17025:2017 — General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. <https://www.iso.org/standard/66912.html>

International Organization for Standardization. (2020, March 10). ISO/IEC 17025 — Testing and calibration laboratories. <https://www.iso.org/ISO-IEC-17025-testing-and-calibration-laboratories.html>

International Organization for Standardization. (2024, August 16). Quality approach towards ISO/IEC 17025 accreditation at the center of analysis and characterization of Marrakesh Cadi Ayyad University: Metrology stakes. International Journal of Metrology and Quality Engineering, 2024(19). <https://doi.org/10.1051/ijmqe/2024019>

ISO 21570. (2005). Foodstuffs—Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products. International Organization for Standardization.

Kim, J. H., Park, S. Y., & Lee, H. Y. (2015). A Review on Lateral Flow Test Strip for Food Safety. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 58(3), 329-338.

Kishor P, Hong Z, Miao GH, Hu C, Verma D. Overexpression of [δ]-Pyrroline-5-Carboxylate Synthetase Increases Proline Production and Confers Osmotolerance in Transgenic Plants. *Plant Physiol.* 1995 Aug;108(4):1387-1394. doi: 10.1104/pp.108.4.1387. PMID: 12228549; PMCID: PMC157516.

Köppel, R., Bucher, I., Frei, D., & Waiblinger, H. U. (2017). Digital PCR (dPCR) as a tool for the determination of the copy number ratio of MON810 in maize. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2399-2407.

Kumar, V., Barwal, A., Sharma, N., Mir, D. S., Kumar, P., & Kumar, V. (2024). Therapeutic proteins: developments, progress, challenges, and future perspectives. *3 Biotech*, 14(4), 112. <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03958-z>

Lin, X. L., Baisley, J., Bier, A., Vora, D., & Holub, B. (2022). Transgenic Canola Oil Improved Blood Omega-3 Profiles: A Randomized, Placebo-Controlled Trial in Healthy Adults. *Frontiers in nutrition*, 9, 847114. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.847114>.

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25(4), 402–408.

OECD (2002) Module II: Herbicide Biochemistry, Herbicide-Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Crops. [http://www.oilis.oecd.org/olis/2002doc.nsf/43bb6130e5e86e5fc12569fa005d004c/c351fd9d795e54c1c1256bae0051a2a8/\\$FILE/JT00125605.PDF](http://www.oilis.oecd.org/olis/2002doc.nsf/43bb6130e5e86e5fc12569fa005d004c/c351fd9d795e54c1c1256bae0051a2a8/$FILE/JT00125605.PDF).

Ozturk M, Turkyilmaz Unal B, García-Caparrós P, Khursheed A, Gul A, Hasanuzzaman M. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiol Plant*. 2021

Jun;172(2):1321-1335. doi: 10.1111/ppl.13297. Epub 2020 Dec 18. PMID: 33280137.

Paradia, P. K., Bhavale, R., Agnihotri, T., & Jain, A. (2023). A Review on Edible Vaccines and Biopharmaceutical Products from Plants. *Current pharmaceutical biotechnology*, 24(4), 495–509. <https://doi.org/10.2174/1389201023666220803151039>

Querci, M., Corthier, G., Griffiths, C., & van den Eede, G. (2010). Event-specific Real-Time PCR methods for MON810. JRC Technical Reports.

Querci,M., Foti,N., Bogni,B., Kluga,L., Broll,H. & Van den Eede,G. (2009). Real-Time PCRbased ready-to-use multi-target analytical system for GMO detection. *Food Analytical Methods* 2(4): 325-336.

Razzaq, A., Zafar, M. M., Ali, A., Li, P., Qadir, F., Zahra, L. T., Shaukat, F., Laghari, A. H., Yuan, Y., & Gong, W. (2023). Biotechnology and Solutions: Insect-Pest-Resistance Management for Improvement and Development of Bt Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plants* (Basel, Switzerland), 12(23), 4071. <https://doi.org/10.3390/plants12234071>.

Renzetti, M., Bertolini, E., & Trovato, M. (2024). Proline Metabolism Genes in Transgenic Plants: Meta-Analysis under Drought and Salt Stress. *Plants*, 13(14), 1913. <https://doi.org/10.3390/plants13141913>

Sadikoglu, E., & Temur, T. (2012). The Relationship Between ISO 17025 Quality Management System Accreditation and Laboratory Performance. *InTech*. doi: 10.5772/37294

T.C. Resmi Gazete (2010) 5977 Sayılı Biyogüvenlik Kanunu. T. C. Resmi Gazete, 27533, 26 Mart 2010.

T.C. Resmi Gazete. (2010, September 26). Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik [Regulation on Genetically Modified Organisms and Their Products]. <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuat?MevzuatNo=14203&MevzuatTur=7&MevzuatTertip=5>

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. (2018, Nisan). GDO analizlerinde verifikasyon rehberi. https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Kont/Verifikasyon_Rehberi_GDO.pdf

Tang G, Qin J, Dolnikowski GG, Russell RM, Grusak MA. Golden Rice is an effective source of vitamin A. Am J Clin Nutr. 2009 Jun;89(6):1776-83. doi: 10.3945/ajcn.2008.27119. Epub 2009 Apr 15. PMID: 19369372; PMCID: PMC2682994.

TÜRKAK. (2016, January 10). TÜRKAK markalı deney raporları ve kalibrasyon sertifikalarına ilişkin rehber [Guideline document R20.18]. https://secure.turkak.org.tr/docs/GuiedeLines/R20-18_02_0.pdf

Türkiye Biyogüvenlik Bilgi Değişim Mekanizması. (n.d.). Türkiye Biyogüvenlik Bilgi Değişim Mekanizması [Turkey Biosafety Clearing House]. Retrieved October 13, 2025, from <http://www.tbdbm.gov.tr/>

United Nations. (2000). Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity. Secretariat of the Convention on Biological Diversity. <http://www.tbdbm.gov.tr/Dosyalar/mor.pdf>

European Union Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed (EURL-GMFF). (2020). Compendium of reference methods for GMO analysis. Publications Office of the European Union.

Van Duijn, G. (2009). Protein-based analysis: immunological methods. In *Genetically Modified Foods* (pp. 129-143). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374530-9.00008-8>

West AL, Miles EA, Lillycrop KA, Napier JA, Calder PC, Burdge GC. Genetically modified plants are an alternative to oily fish for providing n-3 polyunsaturated fatty acids in the human diet: A summary of the findings of a Biotechnology and Biological Sciences Research Council funded project. *Nutr Bull.* 2021 Mar;46(1):60-68. doi: 10.1111/nbu.12478. Epub 2020 Dec 23. PMID: 33776584; PMCID: PMC7986926.

Wijaya, G. F., Oktadini, N. R., Sevtiyuni, P. E., & Buchari, M. A. (2022). Adoption of SNI ISO/IEC 17025:2017 Principles for Laboratory Management Information System Development. *Ultima InfoSys : Jurnal Ilmu Sistem Informasi*, 13(1), 37–45. <https://doi.org/10.31937/si.v13i1.2678>

Yıldız, Ü., Temiz, Ö., Haliloğlu, K., & Yıldız, N. (2024). Legal regime of the application process for GMO products in Türkiye. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 48(4), 519-530. <https://doi.org/10.55730/1300-011X.3198>

Zhang, Z., Zhang, Y., & Deng, Y. (2022). CRISPR-Cas systems for the detection of GMOs: recent advances and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 167-179.

BİYOLOJİK SÜREÇLERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE BİYOBELİRTEÇLERİN KULLANIMI VE GÜNCEL ÖNEMİ

