

VETERİNER HEKİMLİKTE GÜNCEL GELİŞMELER-2023

EDITÖR

TÜNAY KONTAŞ AŞKAR



LIVRE DE LYON

2023

Veteriner Hekimlikte Güncel Gelişmeler-2023

**Editör
Tünay KONTAŞ AŞKAR**



LIVRE DE LYON

Lyon 2023

Veteriner Hekimlikte Güncel Gelişmeler-2023

**Editör
Tünay KONTAŞ AŞKAR**



LIVRE DE LYON

Lyon 2023

Veteriner Hekimlikte Güncel Gelişmeler-2023

Editor • Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR • Orcid: 0000-0002-1121-8799

Cover Design • Motion Graphics

Book Layout • Motion Graphics

First Published • October 2023, Lyon

ISBN: 978-2-38236-605-9

copyright © 2023 by Livre de Lyon

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission from the Publisher.

Publisher • Livre de Lyon

Address • 37 rue marietton, 69009, Lyon France

website • <http://www.livredelyon.com>

e-mail • livredelyon@gmail.com



LIVRE DE LYON

ÖNSÖZ

Veteriner hekimlik hayvan sağlığı, halk sağlığı, koruyucu hekimlik, gıda güvenliği ile ilgili bir tıp dalıdır. Hayvan hastalıklarının teşhisi ve tedavisi, hayvandan insana geçebilen salgın hastalıkların önlenmesi, hayvan ırklarının ıslahı, üretimi, yetiştirilmesi, verimliliklerinin artırılması ve gıda güvenliğinin sağlanması veteriner hekimlerin görev ve sorumlulukları arasındadır.

Hayvan, insan ve dolayısı ile toplum sağlığının korunmasında çok önemli sorumlulukları olan veteriner hekimlerin sağlık bilimleri alanında son yıllarda meydana gelen teknolojik ve bilimsel inovatif gelişmeleri takip etmesi gerekmektedir. Bu sene ikincisini hazırladığımız *Veteriner Hekimlikte Güncel Gelişmeler-2023* kitabında da veteriner hekimlik alanında güncel bilgilerin sunulması amaçlanmaktadır. Katkı sağlayan tüm bölüm yazarlarına teşekkür ederim.

Kitabın okuyuculara faydalı olmasını dilerim.

Prof. Dr. Tünay KONTAŞ AŞKAR
Editör

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
BÖLÜM I. NİTRİK OKSİT, METABOLİK ETKİLERİ VE HEKİMLİKTE KULLANIM ALANLARI	1
<i>Onur ATAKİŞİ & Melek ÖZTÜRKLER</i>	
BÖLÜM II. MASTİTİS'İN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİ	29
<i>Şefika MUSABEŞEOĞLU & Tülay BÜYÜKOĞLU</i>	
BÖLÜM III. VİRAL BALIK HASTALIKLARINDA APOPTOZUN ÖNEMİ	63
<i>Altuğ KÜÇÜKGÜL & Azime KÜÇÜKGÜL</i>	
BÖLÜM IV. FERMENTE SÜT ÜRÜNLERİ	75
<i>Şeyma Nur ERCAN & Şinasi AŞKAR</i>	
BÖLÜM V. KÖPEKLERDE TOTAL KALÇA PROTEZİ UYGULAMALARI	85
<i>Ziya YURTAL & Kadri KULUALP & Ekin REYHANOĞLU</i>	
BÖLÜM VI. KEDİ VE KÖPEKLERDE GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ULTRASONOGRAFİSİ	97
<i>Esmâ KİSMET & Erdem GÜLERSOY</i>	
BÖLÜM VII. HAYVAN HAKLARI AÇISINDAN YAPAY ET: VEGANİZM BAKIŞ AÇISIYLA	121
<i>Güzin Yasemin TUNÇAY</i>	
BÖLÜM VIII. HÜCRESEL PROTEOSTAZIN KORUYUCULARI: ISI ŞOK PROTEİNLERİ VE HASTALIKLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ	135
<i>Kezban YILDIZ DALGINLI & Onur ATAKİŞİ</i>	
BÖLÜM IX. KAZ YUMURTASININ OLUŞUMUNDA YUMURTA KANALI VE YUMURTA KALİTE ÖZELLİKLERİ	165
<i>Sema ALAŞAHAN & Fatma Tülin ÖZBAŞER BULUT</i>	
BÖLÜM X. TAVUKLARDA CİNSİYET TESPİTİNDE KULLANILAN MOLEKÜLER MEKANİZMALAR	195
<i>Aysel ERASLAN ŞAKAR</i>	

- BÖLÜM XI.** VETERİNER HEKİMLİKTE OLİGOSAKKARİTLERİN
KULLANIMI 213
Pınar PORTAKAL
- BÖLÜM XII.** GEBELİK İZLEMİNDE GÜNCEL DOPPLER
ULTRASONOGRAFİK ÇALIŞMALAR 225
Tuğra AKKUŞ
- BÖLÜM XIII.** VETERİNER HEKİMLİĞİNDE YENİ BİR ADİPOKİN:
APELİN HORMONU 245
*Tünay KONTAŞ AŞKAR & Şinasi AŞKAR & Şeyma Nur
ERCAN & Bülent ERELİ*

BÖLÜM I

NİTRİK OKSİT, METABOLİK ETKİLERİ VE HEKİMLİKTE KULLANIM ALANLARI

Nitric Oxide, Metabolic Effects and Uses in Medicine

Onur ATAĞIŞI¹ & Melek ÖZTÜRKLER²

¹Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kars, Türkiye

E-mail: onuratakisi@hotmail.com

ORCID: 0000-0003-1183-6076

²Kafkas Üniversitesi, Kars Meslek Yüksekokulu,

Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri, Kars, Türkiye

E-mail: melekozturkler_36@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-2917-6371

1. Giriş

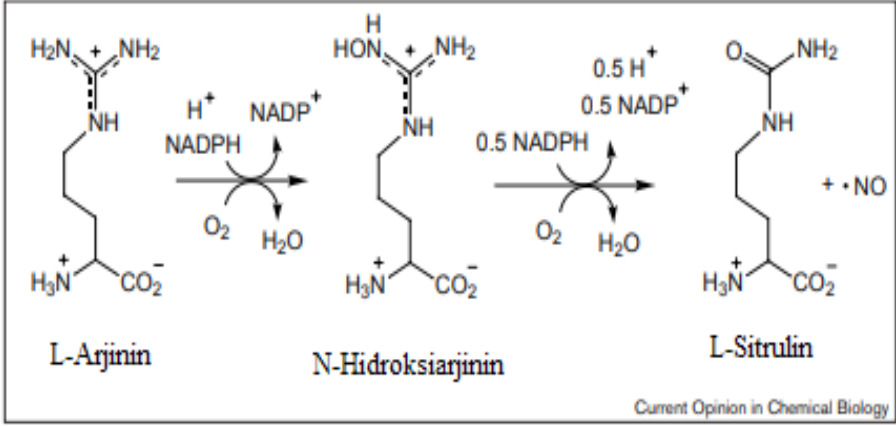
Nitrik Oksit (NO), hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli bir rol oynayan gaz halindeki bir sinyal molekülüdür. Atmosferde yaygın olarak bulunan azot (N) ve oksijen (O) gazlarının birleşmesiyle oluşan NO'nun kaynağı nitritli ve nitratlı bileşikler ile yapılarında NO bulunduran diğer moleküllerdir. Organizmada da nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimleri tarafından sentez edilen NO, renksiz, küçük molekül ağırlığına sahip, yağda çözünen, yarı ömrü çok kısa olan, O₂ ve CO₂ gibi hücre zarını kolaylıkla geçebilen, reaksiyon yeteneği oldukça yüksek, toksik ve nörotransmitter bir maddedir. Ayrıca, biyolojik sistemlerde çok önemli bir rol oynayan ve bir dizi hayati fonksiyonu düzenleyen kimyasal bir bileşiktir. Tıp ve veteriner hekimlikte canlı sağlığını koruma ve iyileştirme amacıyla birçok önemli çalışmanın temel bileşiklerinden biri olmuştur. Bu bağlamda, NO canlı sağlığını koruma ve tedavileri içeren tıbbi uygulamalarda ve özellikle dolaşım sistemi sorunlarının tedavisinde ön plana çıkmaktadır.

1.1. Nitrik Oksitin Keşfi ve Biyokimyasal Temeli

Nitrik oksit, çeşitli organizmalarda bulunan önemli bir biyodüzenleyici/ biyohaberci olan küçük, reaktif bir moleküldür (1). NO ile ilgili ilk çalışma Josef Priestly (1772) tarafından yapılmıştır ve *in-vivo* olarak varlığı Sir Henry Dale tarafından raporlanmıştır. Dale yaptığı çalışmalarda intravenöz olarak uyguladığı asetilkolinin tavşan kulağında kan akımını arttırdığını (2) ve asetilkolin ile kan damarlarının gevşetildiği ileri sürülmüştür (3).

1980 yılında, farmakolog Robert Furchgott, asetilkolinin tavşan aortik düz kaslarını endotel sağlam olduğunda gevşettiğini keşfetmiştir (4). Asetilkolinin neden olduğu gevşemenin endotele bağlı olduğunu ve halka preparasyonunda asetilkolinin, eğer endotel kaldırılmışsa tavşan aortunu kasılmasına yol açtığını göstermiştir. Endotelden salınan, kan damarlarının düz kaslarını gevşeten bir maddenin olması gerektiğini belirterek bu maddeye Endothelial Derived Relaxing Factor (EDRF) adını vermiştir (4,5). 1987 yılında EDRF'nin salınmasına nitrik oksit ve türevlerinin neden olduğu ortaya çıkarılmıştır. NO üzerine yapılan çalışmaların hızlanması ile 1992 yılında yılın molekülü olarak tanımlanmıştır (5).

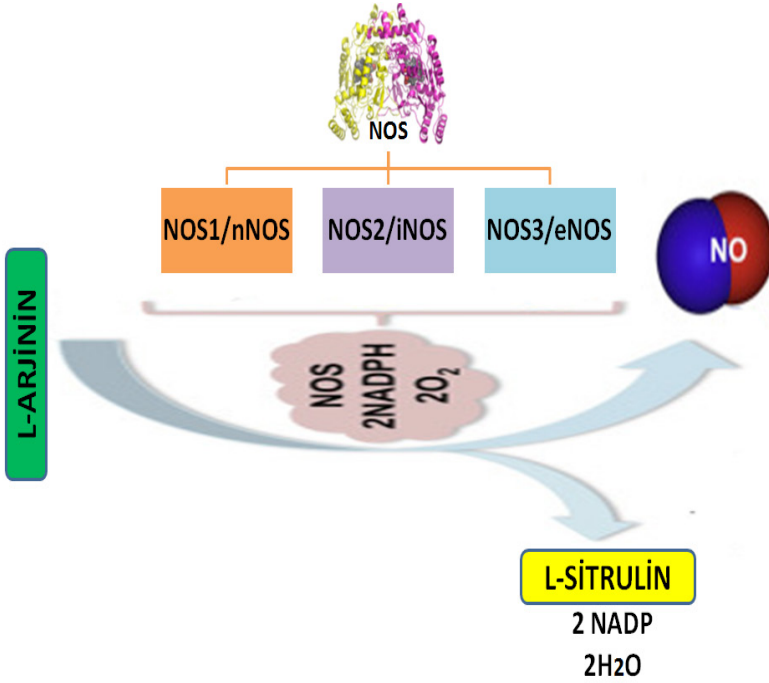
Nitrik oksit etkin bir biyolojik sinyal molekülüdür. Endojen NO, *hem* içeren metaloenzim nitrik oksit sentaz (NOS; EC 1.14.13.39) tarafından üretilir (6-8). Birkaç NOS izoformu vardır ve bunlar, her monomerin NADPH, flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), kalmodulin (CaM), tetrahidrobiopterin (H4B) ve bir *hem* grubu için bağlanma bölgeleri içeren homodimerler şeklindedir. Katalitik aktivite analizlerinde, H4B'nin hem allosterik hem de redoks fonksiyonlarına hizmet eden önemli bir NOS kofaktörü olduğu ifade edilmiştir. Substrata bağlı NOS'un X-ışını kristal yapıları, hem substratın hem de H4B'nin *hem* bölgesinde önemli hidrojen bağı ağı ile bağlandığını göstermektedir. Sitokrom P450'yi anımsatan sisteinil tiyolat bağlı hem grubu, NOS reaksiyonlarına aracılık eden redoks aktif merkezdir. NOS, L-arginin'in (L-Arg) N-hidroksi-L-arjinin (NHA) yoluyla sitriline ve NO'ya iki aşamalı, beş elektronlu oksidasyonunu katalize eder (4,5). NOS reaksiyonunun ilk adımı, L-Arg'un $O_2\cdot$ ile NHA'ya iki elektron oksidasyonunu sağlamak için iki NADPH'den türetilmiş indirgeyici eşdeğeri ile gerçekleşir (Şekil 1) (5,9,10).



Şekil 1. Nitrik oksit sentaz reaksiyonları

NOS reaksiyonunun ikinci adımında NHA'nın NO'ya ve sitrülüne üç elektronlu aerobik oksidasyonunu yalnızca bir NADPH türevli indirgeyici eşdeğeri tüketerek sağlar (11,12). NO'nun hücrel sentezi, birçok dokuda NOS'ın üç farklı izoformu tarafından katalize edilir. Bu enzimlerin ekspresyonu dokuya özgü olmasa da nöronal NOS (nNOS), endotelial NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olarak adlandırılır. Her izozim, L-arginin tüketerek, eşit miktarlarda NO ve L-sitrulin üretip aktivite için Ca^{2+} -kalmoduline ihtiyaç duyar. eNOS ve nNOS'un aktivitesi, Ca^{2+} durumundaki değişiklikler tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir, ancak iNOS, çok düşük Ca^{2+} konsantrasyonlarında kalmodulin ile kompleks oluşturduğundan, aktivitesi Ca^{2+} değişiklikleri tarafından düzenlenmez.

NO; kardiyovasküler sistem, periferik sinir sistem (PNS), merkezi sinir sistemi (CNS) ve bağışıklık sistemi dahil olmak üzere birçok sistemde geniş bir fonksiyon göstermektedir. Bu işlevlere NO'nun hemoproteinler, tiyoller ve süperoksit anyonlarını içeren hedeflerle reaksiyonlara aracılık eder. Mitokondri çeşitli hemoproteinlere (örneğin sitokrom c oksidaz), tiollere (örneğin glutatyon) ve sistein içeren proteinlere sahiptir ve bunlar süperoksit anyonunun ana hücrel kaynaklarıdır. Sonuç olarak mitokondri NO'nun önemli faaliyet gösterdiği organellerden biri olmasının yanı sıra NO'nun birçok biyolojik fonksiyonuna katkıda bulunur (13-15).



Şekil 2. NO Biyosentezi ve Etki Mekanizması

NOS reaksiyonu, NHA aracılığıyla L-Arg'ı oksitleyerek sitrülün üretir. Yapılan çalışmalar, nitroksil anyon NO'nun NOS tarafından üretildiği ve süperoksit dismutazın (SOD) katalizi altında NO'ya dönüştürüldüğünü öne sürmüştür (16,17). Bu çalışmalarda NOS reaksiyonundan gelen NO, SOD yokluğunda doğrudan tespit edilmiştir (18).

1.2. Nitrik Oksit Sentaz Enziminin İzofomları

1.2.1. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)

Nöronal NOS, beyindeki spesifik nöronlarda yapısal olarak ifade edilir. NOS geni, kromozom 12 (12q24.2) üzerinde yer alan insan genomik DNA'sında 200 kb'den büyük bir bölgede 1434 amino asidi kodlayan 4299 nükleotidden oluşmaktadır (19-21). Enzim aktivitesi Ca^{2+} ve kalmodulin tarafından düzenlenir. Beyin nNOS'u hücrelerde partiküler ve çözünür formlarda bulunur ve nNOS'un diferansiyel hücre altı lokalizasyonuna katkıda bulunabilir. Nöronal NOS bir PDZ alanı içerir ve diğer proteinlerin PDZ alanları ile doğrudan etkileşime girebilir. Bu etkileşimler hücre içi dağılımını ve enzimin aktivitesini belirler (21).

Memelilerde doku kütlesi açısından en büyük nNOS kaynağı iskelet kasıdır. Ayrıca beyin dokusuna ek olarak nNOS, immünohistokimya ile omurilikte, sempatik ganglionlarda ve adrenal bezlerde, periferik nitretrjik sinirlerde, çeşitli organların epitel hücrelerinde, böbrek makula densa hücrelerinde, pankreas adacık hücrelerinde ve damar düz kasında da bulunur (22,23).

nNOS'un çeşitli sinaptik sinyal olaylarında önemli olduğu ve öğrenme, hafıza ve nörojenez gibi fizyolojik fonksiyonların modüle edilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (21). Periferde birçok düz kas dokusu *nitretrjik sinirler*, yani nNOS içeren ve NO üretilen sinirler tarafından innerve edilir (24). Nitretrjik sinirlerde nNOS tarafından üretilen NO, efektör hücrelerinde NO'ya duyarlı guanilil siklazı uyarır ve kan damarları da dahil olmak üzere çeşitli düz kas türlerinin tonunu azaltan alışılmadık bir nörotransmitter olarak görülebilir (22,25).

Anormal NO sinyalleşmesinin felç sonrası eksitotoksinite, multipl skleroz, Alzheimer ve Parkinson hastalıkları gibi çeşitli nörodejeneratif patolojilere etki ettiği ve nöronal hücrelere yoğun Ca^{2+} akışıyla uyarılan hiperaktif nNOS'un, serebrovasküler felçte N-metil-D-aspartat reseptörünün aracılık ettiği nöron ölümünde rol oynadığı gösterilmiştir (26,27). nNOS/NO sisteminin kardiyoprotektif rolü, baroreseptör refleksi duyarlılığının kontrolü (28) ve beyin aktivasyonu sırasında hemodinamik yanıtın sürdürülmesi gibi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (29). Situmorang ve ark. günlük etanol alımının taşikardiye indüklediğini ve rostroventral medullada nNOS/NO sistemini azalttığını ve beyin nNOS aktivitesinin azalması ile de taşikardi yanıtlarının gelişimini arttırdığını açığa çıkarmışlardır. Bu nedenle medulladaki nNOS/NO sisteminin, tekrarlanan etanol maruziyeti sırasında etanolün neden olduğu taşikardiye aracılık etmede önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (30). Perrenoud ve ark. nNOS ekspresyon eden hücre sınıflandırma şeması ile farklı alt grupların fizyolojik ilişkisine ışık tutmayı amaçlayan "nNOS-TİP I" ve "nNOS-TİP II" hücrelerin çok parametreliliğini analizini gerçekleştirmişlerdir (31). Büyük somata sergileyen TİP I hücreler genellikle yoğun şekilde boyanır ve sıçan primer sensörimotor korteksindeki toplam GABAerjik internöronların yaklaşık % 2'sini temsil etmektedir (32). İmmünohistokimyasal çalışmalar, tip I hücrelerinin sıklıkla nöropeptid Y (NPY) ve somatostatin (SOM) birlikte ekspresyon ettiğini göstermektedir (32,33). Daha az boyanan TİP II hücreleri ise (34) birçok memeli türünün neokorteksinde, özellikle primat ve insan neokorteksinde tanımlanmıştır. Çok sayıda çalışma tip II hücrelerde internöron belirteçlerinin ekspresyonunu karakterize etmiştir (34,35).

1.2.2. Endotel Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

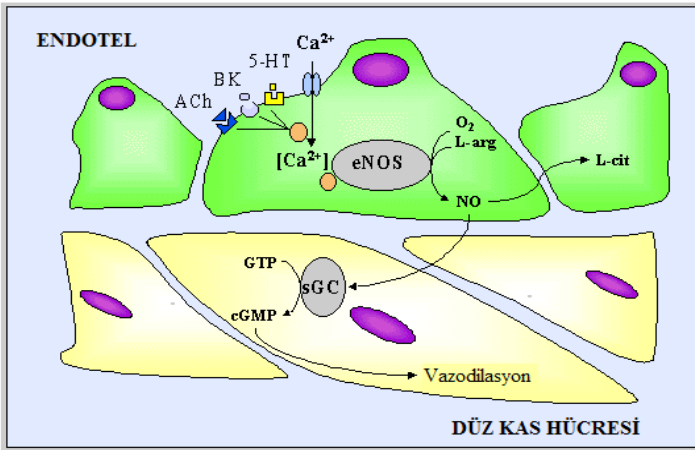
Çoğunlukla endotel hücrelerinde eksprese edilen eNOS aynı zamanda kardiyak miyositlerde, trombositlerde, beynin belirli nöronlarında, insan plasentasının sinsityo-trofoblastlarında ve LLC-PK1 böbrek tübüler epitel hücrelerinde tespit edilmiştir (22,25). eNOS, iki özdeş alt birimden oluşan homolog dimerleştirilmiş bir yapıya sahiptir. Her alt birim, bir C-terminal redüktaz alanı ve bir N-terminal oksijenaz alanı içerir. İlki, sitokrom P-450 redüktaz ile yakın homolojide olan NADPH, flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) için bağlanma bölgeleri içerir; ikincisi hem'i, BH4'ü ve L-arginin substratını bağlar. Bu iki bölge arasında, enzimin hem yapısında hem de fonksiyonunda anahtar rol oynayan kalmodulin bağlanma alanı bulunur. Fizyolojik koşullar altında tam katalitik aktivite elde etmek için, eNOS'un ayrı N-terminal oksijenaz ve C-terminal redüktaz alanlarının, hem, BH4 ve Ca²⁺/CaM kompleksi varlığında bir araya getirilmesi gerekir (36,37).

nNOS'a benzer şekilde, Ca²⁺ ile aktiveleştirilen kalmodulin, eNOS aktivitesinin düzenlenmesi için önemlidir. Endotelial NOS, NO'yu pulsatil bir şekilde sentezler ve eNOS aktivitesi, hücre içi Ca²⁺ yükseldiğinde belirgin şekilde artar. Ca²⁺ kalmodulinin enzime bağlanmasını indükler (38). Bununla birlikte, diğer bazı proteinler de eNOS ile etkileşime girerek onun aktivitesini düzenleyerek enzimi aktive eden ve eNOS bağlanmasını teşvik eden allosterik bir modülatör olarak görev yapar (39).

eNOS, birçok temel kardiyovasküler fonksiyonun homeostatik düzenleyicisidir. eNOS'den türetilen NO, çözünebilir guanilil siklazı uyararak ve düz kas hücrelerinde siklik GMP'yi artırarak kan damarlarını genişletir. eNOS geninin silinmesi kan basıncının yükselmesine neden olur. Damar lümenine doğru salınan NO, trombosit agregasyonunu ve damar duvarına yapışmayı sağlayan güçlü bir inhibitördür (40-42). Düz kas proliferasyonunu ve matris moleküllerinin üretimini uyararak trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin salınmasını önleyerek kronik değişikliklere uyum sağlayan vasküler yeniden yapılanma için de kritik öneme sahiptir (43). Endotel kaynaklı NO, proinflamatuvar sitokinler ve reaktif oksijen türleri (ROS) ve anjiyotensin II (AT) dahil olmak üzere proaterosklerotik faktörler tarafından indüklenen endotel hücre apoptozunu önler. Apoptozun baskılanması aynı zamanda endotel kaynaklı NO'nun antiinflamatuvar ve anti-aterosklerotik etkilerine de katkıda bulunmaktadır (44).

Doğuştan gelen eNOS aktivitesi, ikincil nöron hasarına karşı koruma sağlaması nedeniyle yaralanmaya duyarlılığı belirler. eNOS aktivitesinin

subaraknoid kanama sonrası, travmatik beyin hasarı (TBI) ve iskemik felç nedeniyle bozulması, nöronal hasarın hücresel mekanizmasında rol oynamaktadır. eNOS aktivitesinin düzenleyici mekanizmaları son derece karmaşıktır ve genetik ve protein düzeyine bölünebilir. Genetik düzeyde eNOS genlerinin ekspresyonu ve stabilitesi eNOS aktivitesi ile ilişkilidir (45,46). Çok sayıda klinik gözlemsel çalışma, tümörlerin hem mukozal hem de vasküler hücrelerde eNOS ekspresyonunun düzensizliğine yo açtığı ve östrojen gibi protümörjenik ajanların, tümör hücrelerinde eNOS ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir. Sağlıklı insanlar ve kanser hastaları üzerinde yapılan genetik çalışmalar, eNOS'taki gen polimorfizmlerinin çoklu kanser gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (47-49). eNOS polimorfizmlerinin fonksiyonel etkisi henüz belirlenmemiş olsa da, bu veriler anormal bir *eNOS* geninin insanlarda tümör oluşumunu tetikleyebileceği hipotezini desteklemektedir (50). eNOS tarafından salınan seviyelerle tutarlı olan düşük NO konsantrasyonlarının, kanser hücresi döngüsünün ilerlemesini ve çoğalmasını uyarabildiği gözlemlenmiştir. eNOS'a daha spesifik olan çalışmalar, eNOS/NO yolunun, anjiyogenezi teşvik etmenin yanı sıra, oral skuamöz kanser hücresi DNA/RNA sentezinde ve proliferasyonunda da rol oynadığını göstermiştir (51).



Şekil 3. Endotelden NO'nun Salınımı ve Düz Kas Hücresine Etkisi

1.2.3. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

İndüklenebilir NOS genellikle hücrelerde eksprese edilmez, ancak ekspresyonu bakteriyel lipopolisakarit, sitokinler ve diğer ajanlar tarafından indüklenebilir. Esas olarak makrofajlarda tanımlanmasına rağmen, uygun

indükleyici ajanların tanımlanması koşuluyla, enzimin ekspresyonu hemen hemen her hücre veya dokuda uyarılabilir (22,25). Bir kez eksprese edildiğinde iNOS sürekli olarak aktiftir ve hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonları tarafından düzenlenmez.

İndüksiyon üzerine iNOS, enzim parçalanana kadar saatlerce süren önemli miktarlarda NO üretir ve üretilen önemli miktarda NO, istilacı patojenlere karşı savunmaya yardımcı olması ile inflamatuvar yanıt ve doğuştan gelen bağışıklık sistemi açısından organizma için kritik öneme sahiptir. Öte yandan, iNOS'un aşırı ekspresyonundan veya düzensizliğinden kaynaklanan uygunsuz derecede yüksek NO konsantrasyonu, toksik etkilere neden olabilir. Septik şok, kalp fonksiyon bozuklukları, ağrı, diyabet ve kanserler de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilidir (51,52).

İndüklenebilir NOS, makrofajlarda uyarıldığında, bu hücrelerin temel sitotoksik prensibini temsil eden büyük miktarlarda NO üretir. Proteine bağlı demire olan afinitesi nedeniyle NO, katalitik merkezlerinde demir içeren anahtar enzimleri inhibe edebilir. Bunlar arasında mitokondriyal elektron taşınmasında rol oynayan demir-kükürt kümesine bağımlı kompleks I ve II enzimler, DNA replikasyonunda hız sınırlayıcı enzim olan ribonükleotid redüktaz ve sitrik asit döngüsünde anahtar bir enzim olan cis-akonitaz bulunmaktadır (53-55).

iNOS normal fizyoloji için gerekli olmasına rağmen, iNOS'un aşırı ekspresyonu veya düzensizliğinin bir sonucu olarak aşırı miktardaki NO, hastalık etmeni olarak çıkarılmıştır (56). iNOS'un aşırı NO üretimi septik şokta çok önemli bir rol oynar. Bu durum masif arteriyoller vazodilatasyon, hipotansiyon ve mikrovasküler hasar ile karakterizedir. Bakteriyel endotoksinler genellikle semptomları başlatır. Trombosit aktive edici faktör, tromboksan A2, prostanoidler ve interlökin-1, tümör nekroz faktörü- α ve interferon- γ gibi sitokinler gibi birtakım araçlar septik şokta yükselir ve bunun patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülür. Bununla birlikte, kan basıncındaki düşüş ağırlıklı olarak damar duvarında iNOS tarafından indüklenen aşırı NO üretiminden kaynaklanmaktadır (57,58). Hayvan modellerinde yüksek NO üretimi, endotoksemi ve sitokin kaynaklı şok sırasında vazodilatasyona, hipotansiyona ve kardiyovasküler hasara neden olur (56). Septik şoklu hastaların plazmasında yüksek konsantrasyonlarda nitrit ve nitrat (NO üretiminin iki stabil ürünü) bulunur ve iNOS aktivitesi ayrıca sepsis hastalarının yağ, kas ve arterler dahil olmak üzere kangrenli dokularında da tespit edilir, ancak ciltte bulunmaz. Ek olarak, sepsisi takiben akut solunum sıkıntısı sendromu olan hastalardaki akciğer makrofajlarında iNOS aktivitesinde artış bulunmuştur. Septik şokun öldürücülüğü nedeniyle bu endikasyon çok sayıda iNOS inhibitörünün geliştirilmesini teşvik etmektedir (59-61).

Kolon, mesane, meme ve akciğer kanseri de dahil olmak üzere birçok kanserli dokuda yüksek seviyelerde iNOS ekspresyonu bulunur. Tümöre ve lokaliteye bağlı olarak hem tümör teşvik edici hem de baskılayıcı etkilere sahip olduğundan iNOS'un kanserdeki rolü net olarak anlaşılamamıştır. Kanser hücrelerinde nitrozasyon veya nitrosilasyon (NO ve ürünleri tarafından) çoğalmaya, metastaza ve hatta ilaç direncinin artmasına katkıda bulunabilir (62). Son zamanlarda, yüksek iNOS ekspresyonu, üçlü negatif meme kanseri hastalarında kötü sağkalım ile ilişkilendirilmiştir (63). Rat kolon kanseri modellerinde tümörün kendi içinde iNOS tarafından üretilen NO'un, T lenfositlerin çoğalmasını engelleyebildiği ve bu da tümörlerin konakçı bağışıklık fonksiyonlarını nasıl baskılayabildiğini açıklamaktadır (64).

2. Nitrik Oksit'in Çeşitli Kaynaklardan Salınması ve Organizmadaki Görevleri

2.1. Sinir Sistemi ve Öğrenmedeki Rolü

Beyin kabuğunun % 2'sini yıkıma karşı dayanıklı sinir hücreleri oluşturur. Yapılan araştırmalar sonucunda nöronlarda NOS enziminin bulunduğu belirtilmiştir. NO, beyin bellek ve öğrenme ile ilgili bölümü olan hipotalamusta etkinlik göstermektedir. NO'in presinaptik uçta oluşumu ve postsinaptik sinir hücreleri üzerine etkisi diğer büyük molekül yapıları transmitter maddelerden farklıdır. Diğer nörotransmitterler perisinaptik uçtaki keseciklerde önceden sentezlenip depo edildikleri halde NO önceden sentezlenip depo edilmez. Gereksinim duyulduğunda bir uyarıyla sentezlenir ve keseciklerde depo edilmeden birkaç saniye içerisinde presinaptik uçlardan basit difüzyonla dışarı aktarılır. Daha sonra çevre ve komşu postsinaptik hücrelerin zarlarından da basit difüzyonla geçer. Burada siklik guanozin monofosfat (c-GMP) üreten enzimin demir atomuna bağlanır. Demir atomuna bağlanan NO, enzimin üç boyutlu yapısında değişiklik oluşturarak etkinliğini artırır. Bu bakımdan NO kendine has mekanizması ile nörotransmitter etki göstermektedir (65,66). Aşırı üretilen NO'nun beyinde felç ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik rahatsızlıklara sebep olabileceği rapor edilmiştir. NO, poli(ADP-riboz) polimeraz (PARS)'ı aktive ederek hücrenin enerji kaynaklarının boşalmasına ve hücre ölümüne neden olmaktadır. Aşırı üretilen NO'nun nöron DNA'sında kırılma ve kopmaya yol açacağı ve nöronlarda NO'nun bir seri reaksiyonlar sonucu milisaniyeler içerisinde sentezlenebileceği bildirilmiştir. Nöronlardaki NO sentez süreci bir nörondan glutamat'ın ayrılması ile başlar. Ayrılan glutamat bitişikteki (N-metil-D-aspartat) NMDA reseptörü olarak adlandırılan nörona

bağlanır. Daha sonra kalsiyum molekülü hücre içine alınır NOS enzimi uyarılır ve NO sentezlenir. Araştırmacılar gerekli miktarlarda NO üretiminin beyin fonksiyonuna yardım edeceğine, aşırı NO üretiminin nöronları öldüreceğini açığa çıkarmışlardır (67-69).

2.2. Kalp Damar Sistemine Etkisi

Asetilkolin bradikinin histamin ve adenin nükleotidleri gibi maddeler endotel hücrelerindeki reseptörleri etkileyerek NO salınımına neden olur. Salınan NO guanilat siklaz molekülüne bağlanarak cGMP düzeyinin artışına ve hücre içi Ca^{+2} azalışına neden olur. Potasyum kanalları açılır. Potasyum hücre dışına çıkarak hiperpolarizasyon oluşturur ve düz kasların genişlemesi sağlar. Endotel hücreleri NO salınımına GTP-ilişkili proteinler (G-proteinleri) tarafından reseptör-NOS ilişkisi kurarak aracılık eder. Tansiyon ve kolesterol yüksekliğinde ortaya çıkan arterioskleroz hastalığında NO sentezi azalır ve NO'nun yıkımı artar. Bu durumun kalbi besleyen damarlarda egzersiz ve stres karşısında genişlemeye, koroner kalp hastalığı ve miyokard infarktüsüne neden olabileceği belirtilmiştir (70-73).

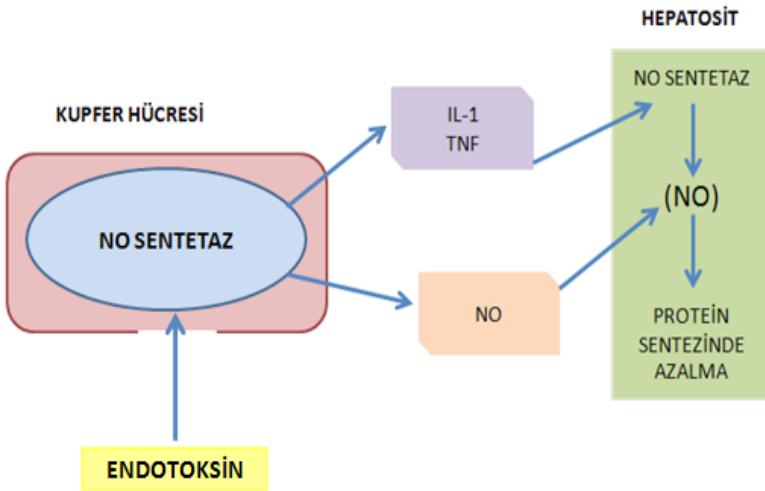
Endotel kaynaklı NO vazodilatasyona neden olurken, NO sentezinin aksaması hipertansiyona neden olmaktadır. Endotel kaynaklı gevşeme azalmaktadır ve yapılan deneysel çalışmalarda NOS inhibitörünün (L-NMA, L-NAME, vb.) verilmesi sonucu hipertansif cevabın arttığı, glomerüler hasar ve sodyum atılımında azalmanın meydana geldiği bildirilmiştir. Hipertansiyona duyarlı hayvanlara L-arginin verilmesinin hipertansiyon oluşumunu kuvvetli şekilde engellediği bildirilmiştir. Atardamarlarda hızla akan kan, endotel hücreleri üzerinde sürtünmeye bağlı oluşan stres sonucu endotel hücrelerinden NO salınmasını önemli ölçüde artırır. Oluşan NO düz kas hücrelerine basit difüzyonla geçer, ikinci haberci olarak siklik (cGMP)'i harekete geçirerek, atardamarların genişlemesine neden olur ve böylece kan basıncının düzenlenmesinde rol oynar (74,75).

2.3. Nitrik Oksit ve Karaciğer

Karaciğer, organizmanın bütün metabolik sistemleriyle ilişkili olan, son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları bulunan organıdır. Karaciğerin sentez (endojen amino asit, albumin, safra asitleri, kanın pıhtılaşmasında rol oynayan bir çok faktörün, pıhtılaşmayı önleyen heparin, glukoz), depolama (glikojen ve bazı vitaminler), metabolizma sonucu oluşan artık maddelerin detoksifiye edilmesi, safra salınımı ve ayrıca organizmaya dışardan giren zararlı mikrobiyel

ajanların ortadan kaldırılması gibi hayati öneme sahip fonksiyonları vardır. Bu fonksiyonlardan bir ya da bir kaçının aksaması organizmanın yaşamını olumsuz yönde etkiler (76,77).

NO, karaciğer fonksiyonları için önemli bir düzenleyicidir. NO ve karaciğer arasındaki ilişki, yoğun olarak sirozla ilgili çalışmalarda ele alınmıştır. Sirozda porto-sistemik şantlar ve kupfer hücre disfonksiyonu nedeni ile barsak orijinli bakteriyel lipopolisakkarid-endotoksinlerinin ortadan kaldırılması iNOS içeren hücrelerden yüksek konsantrasyonda NO salınımına neden olur. Bu şekilde salınımı artan NO sirozdaki hemodinamik bozuklukların temelinde önemli rol oynamaktadır. Araştırmacıların yaptığı çalışmalarda NO'nun hem insanlarda hem de hayvanlarda vasküler direnci ve vazokonstrüktörlere karşı cevabı azalttığı bildirilmiştir. Bunun sonucu olarak perifer damarlarda genişleme, kalp debisinde artış ve taşikardi ile sonuçlanan hiperdinamik sirkülasyon oluşmaktadır. Bu olay efektif plazma volümünün azalmasına neden olarak, sempatik sistemde aktivasyona yol açar. Oluşan bu nörohormonal aktivasyonun böbrekte su ve tuz tutulmasına neden olarak ödem oluşumuna ve böylece böbrek kan akımında redüstrübisyonu yol açarak hepatorenal sendrom gelişimine neden olabileceği bildirilmiştir (78,79). Sirozlu hastaların %30-50'sinde, sirozlu portal hipertansiyonlu hastaların hepsinde hiperdinamik sirkülasyon görülmekte ve NO'nun göstergesi olarak cGMP miktarının idrarda arttığı bildirilmektedir (79). Karaciğer sirozu olan hastalarda vazodilatör bir madde olan NO düzeylerinde artış olduğu ve bu artışın sirozlu hastalarda sık rastlanan sistemik hipotansiyon ve asit gelişimine katkıda bulunduğu da bildirilmiştir (80).



Şekil 4. Karaciğer Hücresinde NO'nun Protein Sentezini İnhibisyonu

NO'nun karaciğerle bir ilişkisi de kupfer hücreleri vasıtasıyla protein sentezinde azalmaya yol açmasıdır. Endotoksinler iNOS enzimi bulunan kupfer hücrelerini aktive ederek hem NO üretimine hem de TNF ve IL-1 salgılamasına neden olmaktadır (79). Bu hücrelerden salınan NO direkt olarak hepatositlerdeki protein sentezini inhibe ederken diğer taraftan kupfer hücresinden salınan TNF ve IL-1 hepatositlerdeki iNOS'u uyarak hepatosit içinde NO sentezine yol açmaktadır. Hepatosit ve kupfer hücresi kaynaklı NO'lar protein sentezini inhibe etmektedir. Geriye dönüşümü olan bu inhibisyon uyarıdan birkaç saat sonra ortaya çıkmakta ve 12 saat kadar devam etmektedir. Bu etkiyi protein sentezindeki görevli translasyonel veya posttranslasyonel enzimleri inhibe etmesi yoluyla yaptığı düşünülmektedir. Konuyla ilgili yapılan bir çalışmada protein sentez inhibisyonunun NOS'u kompetitif olarak inhibe eden L-arginin analoglarıyla ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (79).

2.4. Nitrik Oksit ve Gastrointestinal Sistem

Çiğneme, tükürük ve midede asit artışı mideden NO salgılamasını uyarır. NO histamin salgısını inhibe ederek, asit salgısını baskılar ve aynı zamanda mukozal kan akımını artırarak koruyucu bir rol oynar. Gastrointestinal sistemde kasılmaları güçlendiren uyarıcı otonomik sinirlerin yanı sıra kontraksiyonları baskılayan oldukça karmaşık motor ve inhibitör fonksiyonları içeren nöronlar mevcuttur. Nitrik oksitin mide-barsak sistemindeki etki mekanizması, nörotransmitter, damar gevşetici ve parakrin aracı olmak üzere üçe ayrılır. Mide mukozasında saptanan NOS enziminin fizyolojik zorlanım sırasında endojen damar genişletici olarak NO oluşumunu ve bunun sonucunda mukozada kan akımını artırdığı bildirilmiştir (70).

2.5. Nitrik Oksit ve Böbrekler

Böbreğin normal işlevini sürdürebilmesi için böbrek atardamarları glomerul ve tubullerde nitrik oksidazların kolaylaştırıcı etkisi ile L-argininden oluşan NO gereklidir. NO böbrek otonomik regülasyonu, tubuloglomerular gerisalinımı, renin salgısını, basınca bağlı sodyum geri çıkarılması, böbrek kan basıncı ve tubul işlevlerinin düzenlenmesine yardımcı olmaktadır. Şireli ve ark., kronik böbrek yetmezliği olan kedilerde yaptıkları bir çalışmada NO düzeyini anlamlı derecede düşük belirlemişlerdir (81). Son zamanlardaki araştırmalar NO'nun damar tonusunu ve sodyum tutulumunu ayarlayarak böbrek fonksiyonlarını düzenlediğini göstermektedir. Cyclosporinle oluşturulmuş böbrek yetmezliği olan hayvanlarda NO üretiminin azaldığı ve bunun vazokonstriksiyona sebep

olduğu kaydedilmiştir (82). İşemik böbrek yetmezliği olan ratlarda yapılan bir araştırmada da NO üretiminin azaldığı rapor edilmiştir (83).

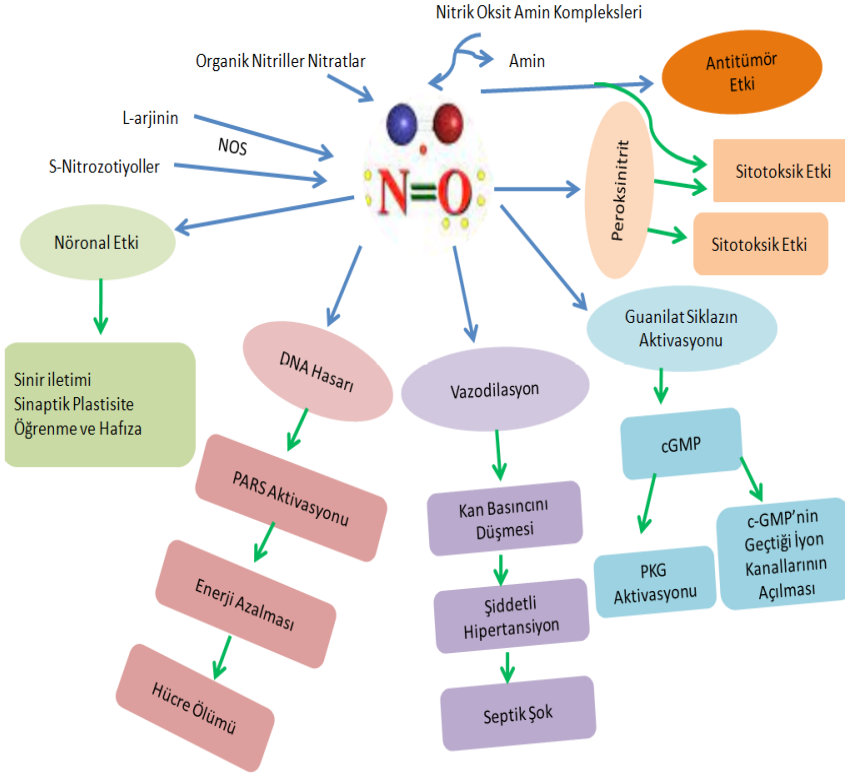
2.6. Nitrik Oksit ve Deri

Deri yüzeyinin NO ürettiğini ve üretilen NO'nun NOS inhibitörleri tarafından inhibe edilmediğini bildirmiştir. Deride NO'nun nonenzimatik olarak salındığı ve deride bulunan bakterilerin terde bulunan nitratı nitrite dönüştürdüğü belirtilmiştir. Nitrit, asidik deri yüzeyinde NO'ya kadar indirgenir. Deride NO üretiminin deri üzerine nitrit içeren tükürük uygulanmasıyla arttığını bilinmektedir. NO'nun derideki kan akımının regülasyonunda rolü olduğu kadar patojenlerin üremesinin inhibisyonunda da rolünün olabileceği ileri sürülmüştür. Hayvanların yaralarını yalamak sureti ile deride non-enzimatik NO üretimini artırarak bakteri üremesinin engellendiği ifade edilmiştir (84).

2.7. Enfeksiyöz Hastalıklar ve Nitrik Oksit

NO *in vitro* olarak çoğu bakteri ve parazitlerin büyümesini inhibe eder. Bu antimikrobial etki sadece NO'nun kendisinden kaynaklanmaz aynı zamanda NO'nun oksidasyonu sonucu şekillenen reaktif nitrojen metabolitlerinden de kaynaklanır. Buna NO ile süperoksit radikalinin reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitrit örnek olarak verilebilir. Bu oluşan metabolitler mikrobiyal enzimlerin (ribonükleotid redüktaz ve akonitaz) demir-kükürt içeren grupları ile reaksiyona girerek enzimin inaktive olmasını sağlar. *İn vitro* olarak yapılan çalışmalarda *Leishmania* paraziti öldürmek için kemiricilerin makrofaj hücrelerinin NO ürettikleri ortaya konulmuştur (70,85). Deneysel olarak iNOS inhibitörleri kullanılarak yapılan *in vivo* çalışmalar kemiricilerin malaria, leishmaniazis, tüberkülozis ve listeriozis gibi çeşitli enfeksiyöz hastalıkların kontrolündeki rolünün NO üretmek suretiyle olduğu ortaya konulmuştur (80).

NO'nun yüksek konsantrasyonları mikroorganizmaların üremesini inhibe ederken konakçı içinde patolojik bozukluklara neden olduğu (85) ve glomerular, vasküler ve tubüler fonksiyonların homeostatik olarak düzenlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (86). NO Damar duvarındaki düz kasları gevşetmenin yanı sıra, trombositlerde agregasyona ve adezyona neden olur. Ek olarak makrofajlarda sentez edilen formu, serbest radikal olarak davranır ve bazı mikroorganizmalar ve tümör hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterir. Septik şokta kontrolsüz olarak salınan NO hipotansiyon ve doku hipohiperfizyonuna neden olmaktadır (87).



Şekil 5. Nitrik Oksitin Çeşitli Kaynaklardan Salınması ve Organizmadaki Görevleri

3. Nitrik Oksit İle İlgili Bilimsel Çalışmalar

NO'nun özelliklerini sağlık ve hastalık üzerindeki etkisini ortaya çıkarmak için çok sayıda kapsamlı bilimsel araştırmayı yapılmıştır. Son yıllarda nitrik oksidin tıp ve veteriner hekimliğindeki rolü üzerine yapılan bilimsel çalışmalar büyük ilgi görmüştür (88-91).

NO, L-arginin'den NOS enzimleri vasıtasıyla sentezlenir. Veterinerlik alanında yapılan çalışmalar, NO üretiminin yalnızca memelilerle sınırlı olmadığını, aynı zamanda atlar, büyükbaş hayvanlar ve köpekler de dahil olmak üzere çeşitli hayvan türlerinde de mevcut olduğunu göstermiştir. At laminiti üzerine yapılan bir araştırmada, ağrılı durumun gelişiminde NO'nun hem vazodilatör hem de sitotoksik bir molekül olarak önemi ortaya konulmuştur (92). Leek ve arkadaşları NO'in, hayvanlarda damar tonusu ve kan basıncının önemli bir düzenleyicisi olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmalarında, köpek

ve kedi gibi hayvanlarda NO'nun hipertansiyonun yönetilmesindeki rolünü araştırmışlardır. Araştırmalar, özellikle hayvancılık uygulamaları bağlamında, hayvancılıkta endotel fonksiyonunun korunmasında ve damar hastalıklarının önlenmesinde NO'un önemini ortaya çıkarmıştır (93). Nitrik oksit antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve veterinerlik çalışmaları hayvanlarda bulaşıcı hastalıklarla mücadeledeki rolünü araştırmıştır. Örneğin, sığırlarda solunum yolu hastalıkları üzerine yapılan araştırmada, NO donörlerinin bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde yardımcı tedaviler olarak potansiyeli vurgulanmıştır (94). NO, geniş spektrumlu enfeksiyöz ajanlara karşı konak savunma mekanizmasında yer alan birçok hücre tipi tarafından sentezlenir (95). Son zamanlarda hiperterminin, NO üretimi de dahil olmak üzere bazı bağışıklık düzenleyici moleküllerin salınımını tetiklediği bildirilmiştir (96). Stresli hayvanların bağışıklık sistemleri daha zayıftır ve bu da onları çeşitli bulaşıcı hastalıklara karşı duyarlı hale getirir (97). Sahiwal ırkının kültüre edilmiş periferik kan mononükleer hücrelerinde tahmini NO üretimi (mikromolar konsantrasyon), termal stres koşulları altında melez sığırlarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde ($P<0.05$) daha yüksek olarak belirlenmiştir (98). Sublinik mastitis, laktasyondaki ineklerde süt verimini ve kalitesini düşüren tedavi maliyetinin ve itlaf oranının yüksek olması nedeniyle de ekonomik kayıplara neden olan yaygın bir hastalıktır. Sublinik mastitte, daha yüksek NO konsantrasyonları, toplam oksidan kapasitesi (TOK) ve somatik hücre sayısı (SCC) ile sonuçlandı, NO ve TOC, SCC ile pozitif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca sütteki NO düzeyleri ve TOC'deki değişikliklerin sublinik mastit taraması için alternatif bir teşhis aracı olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (99). Nathan ve Hibbs'in 1991'deki çalışması, NO'nun patojenlere karşı makrofaj aracılı savunma mekanizmalarındaki rolüne ışık tutmuştur. Bu çalışma, NO'nun antimikrobiyal özelliklerini ortaya koyarak bağışıklık tepkisine ilişkin veriler sunmuştur (53). Leptospirosis dünya çapında dağılıma sahip zoonotik bir hastalıktır. İnflamatuar durumlarda, NO üretimi, proinflamatuar sitokinlerin aktivasyonu ile iNOS'un uyarılması yoluyla artar ve güçlü bir sitotoksin olan peroksinitrit oluşturmak üzere süperoksit ile reaksiyona girerek NO aracılı doku hasarına neden olur. Lipopolisakkarit ve glikolipoprotein gibi Leptospira hücre elemanlarının lökositleri aktive ettiği ve proinflamatuar sitokinlerin üretimini uyardığı rapor edilmiştir. Klinik olarak leptospirosis belirtileri gösteren boğalarda yapılan bir çalışma da artan NO konsantrasyonunun hastalıklı boğalarda inflamasyon ve oksidatif strese neden olabileceği ifade edilmiştir (100,101). Sığır anaplazmoz, yüksek ateş, anemi ve bazen sarılık ile karakterize, arthropod kaynaklı bir hastalıktır. Anaplazmozda

aneminin şiddeti arttıkça eritrosit arjinaz aktivitesi azalır ve plazma NO düzeyi yükselir. Birbiriyle negatif korelasyon gösteren bu iki yakın parametrenin homeostazisi, enfeksiyonların eliminasyonunda önemlidir. Arjinaz ve NO'nun kaynağı eritrositler olduğundan, özellikle hemolitik anemili hastalıklarda aneminin patogeneğinde düşük eritrosit arginaz aktivitesi ve yüksek plazma NO düzeyleri rol oynar. Dolayısıyla bu parametreler hem aneminin şiddetinin göstergesi hem de prognostik belirteçler olarak kullanılabilir (102).

Beckman ve Koppenol tarafından yapılan bir araştırmada, NO'nun oksidatif stresteki ikili rolünü vurgulamış ve NO'nun hem antioksidan hem de pro-oksidan olarak hareket etme yeteneğini ortaya koymuştur. Bu bulgunun, NO'nun oksidatif stresle ilişkili durumlardaki rolünün anlaşılması açısından önemli sonuçlar sunmuştur (103). Ivermektin serbest radikaller üreterek parazitler üzerinde sitotoksik etkiye neden olan bir ilaçtır. 1 mg/kg ivermektin uygulanan tavşanlarda NO düzeyleri 24 saatte belirgin şekilde artarken, 0,5 mg/kg ivermektin uygulamasında NO'nun anlamlı düzeyde değişmediği ifade edilmiştir. Terapötik dozlarda ivermektin 24 saatte NO seviyesini arttırırken 120 saatte toplam antioksidan kapasite (TAK)'yi azaltmıştır (104). Ratlarda n-3 yağ asitlerinin uygulanması, n-dietilnitrozaminle (DEN) tedavi edilen sıçanlarda NO salınımını azaltarak ürik asit seviyesini arttırdığı belirlenmiştir. DEN grubunda artan plazma NO düzeyi gözlemlendiği ve DEN'in kimyasal yapısında bulunan N-NO bağının enzimatik veya kimyasal olarak parçalanması nedeniyle NO salınımına yol açabileceği ifade edilmiştir (105). Streptozotosin kaynaklı diyabetli bir sıçan modelinde chia yağının antidiyabetik ve vücut ağırlığı etkileri değerlendirildiği çalışmada, streptozotosin maruz kalan hayvanlarda NO seviyesinin önemli ölçüde arttığı bu artışın diyabette hücre hasarına ve hücrelere glikoz girişinin azalmasına katkıda bulunmuş olabileceği ifade edilmiştir. Benzer şekilde Ghosh ve arkadaşları streptozotosin maruziyetinin karaciğer hasarına bağlı NO üretimini arttırdığını, kur-kimyon tedavisinin ise bu hasarı azaltıcı etki gösterdiğini bulmuşlardır (106,107). Anoreksijenik hormon olarak da adlandırılan Nesfatin-1, diyabet, obezite, anoreksiya nervoza, psikiyatrik bozukluklar ve nörojenik hastalıklarla ilişkilidir. Nesfatin-1'in aşırı NO salınımını arttırdığını ve cNOS ekspresyonunu aktive ederek proenflamatuar iNO'ların mRNA ekspresyonunu desteklediğini göstermiştir. Çalışmalarında, nesfatin-1'in su daldırma ve kısıtlama stresine maruz kalan ratların mide üzerinde güçlü bir koruyucu etkiye sahip olduğu ve bu etkilerin NOS-NO sistemi ile gösterildiği sonucuna varılmıştır. Benzer bir çalışmada, *Capparis ovata* bitkisinin tomurcuk ve meyve kısımlarının bazı antioksidan parametreler ile nesfatin-1 ve irisin

hormonları üzerindeki etkisi araştırılmıştır ve böbrek NO seviyesi *capparis ovata* grubunda kontrolden daha yüksek ($P < 0.001$) olarak belirlenmiştir (108,109).

Melatonin'in antioksidan kapasitesi, hayvancılıkta sağlığın iyileştirilmesi ve hastalıkların önlenmesi açısından ilgi gören bir özelliğidir. Melatonin, mitokondriyal solunum zinciri elektron sızıntısından kaynaklanan ROS'u doğrudan azaltabilir ve antioksidatif enzimlerin fonksiyonel bütünlüğünün korunmasına yardımcı olur (110-112). Pogan ve arkadaşları melatoninin endotel hücrelerdeki melatonin reseptörü 2'ye bağlanarak sitosolik Ca^{2+} artışına neden olarak nitrik oksit sentazı aktive ettiğini ve nitrik oksit üretimini uyurarak vazodilatasyona yol açtığını öne sürmüştür (113). Ratlarda sodyum arsenit kaynaklı böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluğuna karşı uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) inhibitörlerinin rolünü araştırdığı çalışmada iNOS inhibitörleri olarak S-metilzotiyöre (10 mg/kg, i.p.) ve aminoguanidin (100 mg/kg, i.p.), 4 hafta boyunca sıçanlara sodyum arsenit uygulamasından bir saat önce verilmiştir. S-metilzotiyöre ve aminoguanidin böbrek fonksiyonunu iyileştirdiği ve arsenik kaynaklı renal oksidatif stresi, fibrozisi azalttı ve böbrek hasarı skorunu düşürdüğü ve karaciğer hasarını iNOS inhibitörlerinin eş zamanlı uygulanmasıyla zayıflatıldığı belirtilmiştir. Dolayısıyla iNOS inhibitörlerinin ratlarda sodyum arsenit kaynaklı böbrek ve karaciğer fonksiyon bozukluklarını hafiflettiği sonucuna varılmıştır (114).

Parkinson hastalığının sistemik rotenon modelleri oldukça tekrarlanabilir. ratlara altı gün boyunca rotenon (1.5 mg/kg/gün) ile subkutan olarak uygulanmış sonraki üç hafta boyunca gözlemlenmiştir. Kontrol ratları ile karşılaştırıldığında, ELISA ve nörokimyasal analizler, nitrik oksit (NO) ve NO sentaz seviyelerinde önemli bir artış gösterirken, rotenon ile tedavi edilen sıçanların beyinlerindeki tiyol seviyelerinde belirgin bir azalma gözlemlendiği belirtilmiştir. NOS'un aşırı aktifleştirilmesi ve daha sonra rat beyinlerinde aşırı NO seviyeleri, davranışsal eksikliklerde ve subakut rotenon indüklenen Parkinson hastalıklı ratl modelinde gözlenen nigral TH-pozitif nöronların kaybında önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir (115).

Lipid emülsiyonunun (Intralipid), toksik dozda amlodipinin kullanımıyla oluşturulan NO aracılı vazodilatasyon üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Amlodipin yoluyla indüklenen nitrik oksit aracılı vazodilatasyonun lipid emülsiyonu aracılı inhibisyonu, NO inhibe ederek amlodipinin toksik dozu kullanılarak üretilen şiddetli hipotansiyonu hafifletebileceği ve amlodipinin toksik dozu, endoteli bozulmuş hastalarda normal endotele göre daha az kan basıncı düşüşüne neden olabileceği belirlenmiştir (116). Kronik egzersiz (KE),

yüksek fruktozlu diyetle (YFr) beslenen sıçanlarda antihipertansif ve böbrek koruyucu etkiler gösterir. YFr ve KE'in NO sistemi ve böbrekteki oksidatif stres üzerindeki etkileri incelenmiştir. YFr'in, eNOS ve nNOS ekspresyonlarındaki artışlara rağmen Ser 1177'de renal eNOS fosforilasyonunu inhibe ettiğini belirlemiştir. KE, YFr ile artan eNOS ekspresyonunu arttırdığı ve YFr ile inhibe edilen eNOS fosforilasyonunu eski haline getirdiği bu da KE'in renal NO üretimini arttırdığı göstermiştir. KE, muhtemelen YFr ile beslenen sıçanlarda renal NO üretimini ve NO biyoyararlanımını artırarak antihipertansif ve böbrek koruyucu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada, böbreklerdeki yukarı regüle edilmiş eNOS ve nNOS proteini ve iyileştirilmiş NADPH oksidaz ve a-oksoaldehitler, Zucker diyabetik yağlı ratlarda kronik koşu egzersizinin erken diyabetik nefropatiyi azaltabileceği potansiyeli olduğu bildirilmiştir (117,118). Magnezyum sülfatın farklı kullanım protokollerinde potansiyel anti-ödem etkisini ve ratlarda karragenan kaynaklı somatik inflamatuvar modelde en uygun *in vivo* inflamatuvar model olarak NO üretiminin magnezyum sülfatın etkisini modüle edip etmediği araştırmıştır. Bu deneysel modelde, artan NO üretimi, ödem ve ağrı ile ilişkili romatoid hastalıklar gibi inflamatuvar hastalıklar için önemli klinik etkileri olduğu belirlenmiştir. Mg'nin, lokal uygulamadan sonra inflamatuvar ödemin önlenmesinde ve sistemik uygulamadan sonra tedavide bir anti-inflamatuvar ilaç olarak terapötik değere sahip olabileceğini gösterilmiştir. Ayrıca nNOS ve iNOS tarafından artan NO üretiminin romatizmal hastalıklarda immünomodülatör özelliklere sahip olabileceği düşünülmektedir (119).

4. Sonuç

Bu derleme, nitrik oksidin işlevlerine ilişkin anlayışımıza önemli ölçüde katkıda bulunan bilimsel çalışmalardan elde edilen temel bulguları içermektedir. Nitrik oksit kan damarlarının genişlemesini sağlayarak kan akışını artırmada, sinir sistemine etki ederek sinir iletiminin düzenlenmede ve bağışıklık sisteminin işlevlerini desteklemede büyük bir öneme sahiptir. Bu nedenle NO birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde etkili bir molekül olarak kabul edilmektedir.

Kaynaklar

1. Groves JT, Wang CC. Nitric oxide synthase: models and mechanisms. *Curr Opin Chem Biol.* 2000;4(6):687-695.

2. Dale HH. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1914;6:147-190.
3. Jelliffe RW. Dilator and constrictor effects of acetylcholine on isolated rabbit aortic chains. *J Pharmacol Exp Ther.* 1962;135:349-353.
4. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
5. Nakaki T. Physiological and Clinical Significance of Nitric Oxide. *Keio J. Med.* 1994;43(1): 15-26.
6. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Angew Chem Int Ed.* 1999;38:1856-1868.
7. Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Angew Chem Int Ed.* 1999;38:1870-1880.
8. Ignarro LI. NO in vascular biology. *Angew Chem Int Ed.* 1999;38:1882-1892.
9. Pufahl RA, Nanjappan PG, Woodard RW, Marletta MA. Mechanistic probes of N-hydroxylation of L-arginine by the inducible nitricoxide synthase from murine macrophages. *Biochemistry.* 1992;31:6822-6828.
10. Stuehr DS, Kwon NS, Nathan CF, Griffith OW, Feldman PL, Wiseman J: N-hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *J Biol Chem.* 1991;266:6259-6263.
11. Korth HG, Sustmann R, Thater C, Butler AR, Ingold KU. On the mechanism of the nitric-oxide synthase-catalyzed conversion of N-omega-hydroxy-L-arginine to citrulline and nitric-oxide. *J Biol Chem.* 1994; 269:17776-17779.
12. Hevel JM, Marletta MA. Macrophage nitric oxide synthase: tetrahydrobiopterin decreases the NADPH stoichiometry. *Adv Exp Med Biol.* 1993; 338:285-288.
13. Kone BC, Kuncewicz T, Zhang W, Yu ZY. Protein interactions with nitric oxide synthases: controlling the right time, the right place, and the right amount of nitric oxide. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;285:F178– F190.
14. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987; 327: 524–526.
15. Ghafourifar P, Colton CA. Compartmentalized nitrosation and nitration in mitochondria. *Antioxid. Redox Signal.* 2003; 5:349–354.

16. Schmidt HHHW, Hofman H, Schindler U, Shutenko ZS, Cunningham DD, Feelisch M: No NO from NOS. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93:14492-14497.

17. Hobbs AJ, Fukuto JM, Ignarro LJ: Formation of free nitric-oxide from L-arginine by nitric-oxide synthase-direct enhancement of generation by superoxide-dismutase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:10992-10996.

18. Xia Y, Zweier J: Direct measurement of NO generation from nNOS. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:12705-12710.

19. Hall AV, Antoniou H, Wang Y, Cheung AH, Arbus AM, Olson SL, Lu WC, Kau CL, Marsden PA. Structural organization of the human neuronal nitric oxide synthase gene (NOS1). *J. Biol. Chem*. 1994;269:33082–33090.

20. Boissel JP, Schwarz PM, Förstermann U. Neuronal-type NO synthase: transcript diversity and expressional regulation. *Nitric Oxide*. 1998;2, 337–349.

21. Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*. 2009;20:223–230.

22. Förstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension*. 1994;23:1121–1131.

23. Nakane M, Schmidt HH, Pollock JS, Förstermann U, Murad F. Cloned human brain nitric oxide synthase is highly expressed in skeletal muscle. *FEBS Lett*. 1993;316:175–180.

24. O'Dell TJ, Hawkins RD, Kandel ER, Arancio O. Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:11285–11289.

25. Förstermann U. Regulation of nitric oxide synthase expression and activity. In: Mayer B, editor. *Handbook of Experimental Pharmacology-Nitric Oxide*. Berlin:Springer; 2000:71–9.

26. Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia. *Neuroscientist*. 2010;16:435–452.

27. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HS, Sucher NJ, Loscalzo J, Singel DJ, Stamler JS. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*. 1993;364:626–632.

28. Qadri F, Carretero OA, Scicli AG. Centrally produced neuronal nitric oxide in the control of baroreceptor reflex sensitivity and blood pressure

in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Jpn J Pharmacol.* 1999;813:279–85.

29. Brozickova C, Otahal J. Effect of an inhibitor of neuronal nitric oxide synthase 7-nitroindazole on cerebral hemodynamic response and brain excitability in urethane-anesthetized rats. *Physiol Res.* 2013;62(Suppl 1):S57–66.

30. Situmorang JH, Lin HH, Lo H, Lai CC. Role of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) at medulla in tachycardia induced by repeated administration of ethanol in conscious rats. *J Biomed Sci.*2018; 25(1):8.

31. Perrenoud Q, Geoffroy H, Gautier B, Rancillac A, Alfonsi F, Kessariss N, Rossier J, Vitalis T, Gallopin T. Characterisation of type I and type II nNOS-expressing interneurons in the barrel cortex of mouse. *Front Neural Circuits.* 2012;6:36.

32. Kubota Y, Hattori R, Yui Y. Three distinct subpopulations of GABAergic neurons in rat frontal agranular cortex. *Brain Res.* 1994;649:159–173.

33. Smiley JF, McGinnis JP, Javitt DC. Nitric oxide synthase interneurons in the monkey cerebral cortex are subsets of the somatostatin, neuropeptide Y, and calbindin cells. *Brain Res.* 2000;863: 205–212.

34. Yan XX, Jen LS, Garey LJ. NADPH-diaphorase-positive neurons in primate cerebral cortex colocalize with GABA and calcium-binding proteins. *Cereb. Cortex.* 1996; 6: 524–529.

35. Kubota Y, Shigematsu N, Karube F, Sekigawa A, Kato S, Yamaguchi N, Hirai Y, Morishima M, Kawaguchi Y. Selective coexpression of multiple chemical markers defines discrete populations of neocortical GABAergic neurons. *Cereb. Cortex.* 2011; 21:1803–1817.

36. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 1999;43(3):521–31.

37. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1411(2–3):217–30.

38. Hemmens B, Mayer B. Enzymology of nitric oxide synthases. *Methods Mole Biol.* 1998;100:1–32.

39. Garcia-Cardena G, Fan R, Shah V, Sorrentino R, Cirino G, Papapetropoulos A, Sessa WC. Dynamic activation of endothelial nitric oxide synthase by Hsp90. *Nature.* 1998;392:821–824.

40. Ignarro LJ, Harbison RG, Wood KS, Kadowitz PJ. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986;237:893–900.

41. Huang PL, Huang Z, Mashimo H, Bloch KD, Moskowitz MA, Bevan JA, Fishman MC. Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature*. 1995;377:239–242.

42. Busse R, Luckhoff A, Bassenge E. Endothelium-derived relaxant factor inhibits platelet activation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1987;336:566–571.

43. Rudic RD, Shesely EG, Maeda N, Smithies O, Segal SS, Sessa WC. Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodeling. *J Clin Invest*. 1998;101:731–736.

44. Dimmeler S, Zeiher AM. Nitric oxide-an endothelial cell survival factor. *Cell Death Differ*. 1999;6:964–968.

45. Srivastava K, Bath PM, Bayraktutan U. Current therapeutic strategies to mitigate the eNOS dysfunction in ischaemic stroke. *Cell Mol Neurobiol*. 2012;32(3):319–36.

46. Zhu J, Song W, Li L, Fan X. Endothelial nitric oxide synthase: a potential therapeutic target for cerebrovascular diseases. *Mol Brain*. 2016;9:30

47. Xia Y, Krukoff TL. Estrogen induces nitric oxide production via activation of constitutive nitric oxide synthases in human neuroblastoma cells. *Endocrinology* 2004;145:4550–4557.

48. Lu J, Wei Q, Bondy ML, Yu TK, Li D, Brewster A, Shete S, Sahin A, Meric-Bernstam F, Wang LE. Promoter polymorphism (–786t>C) in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with risk of sporadic breast cancer in non-Hispanic white women age younger than 55 years. *Cancer*. 2006;107:2245–2253.

49. Choi JY, Lee KM, Noh DY, Ahn SH, Lee JE, Han W, Jang IJ, Shin SG, Yoo KY, Hayes RB, Kang D. Genetic polymorphisms of eNOS, hormone receptor status, and survival of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;100:213–218.

50. Ying L, Hofseth LJ. An Emerging Role for Endothelial Nitric Oxide Synthase in Chronic Inflammation and Cancer. *Cancer Res*. 2007; 67 (4):1407–1410.

51. Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology*. 2007;15:252-259.

52. MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:323-350.

53. Nathan CF, Hibbs JB. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol*. 1991;3:65–70.

54. Wink DA, Kasprzak KS, Maragos CM, Elespuru RK, Misra M, Dunams TM, Cebula TA, Koch WH, Andrews AW, Allen JS, Keefer JK. DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*. 1991;254:1001–1003.

55. Fehsel K, Jalowy A, Qi S, Burkart V, Hartmann B, Kolb H. Islet cell DNA is a target of inflammatory attack by nitric oxide. *Diabetes*. 1993;42:496–500.

56. Titheradge MA. Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1411:437-455.

57. MacMicking JD, Nathan C, Hom G, Chartrain N, Fletcher DS, Trumbauer M, Stevens K, Xie QW, Sokol K, Hutchinson N. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell*. 1995;81:641–650.

58. Lange M, Enkhbaatar P, Nakano Y, Traber DL. Role of nitric oxide in shock: the large animal perspective. *Front Biosci*. 2009;14:1979–1989.

59. Ochoa JB, Udekwu AO, Billiar TR, Curran RD, Cerra FB, Simmons RL, Peitzman AB. Nitrogen oxide levels in patients after trauma and during sepsis. *Ann Surg*. 1991;214:621-626.

60. Annane D, Sanquer S, Sébille V, Faye A, Djuranovic D, Raphaël JC, Gajdos P, Bellissant E. Compartmentalised inducible nitric oxide synthase activity in septic shock. *Lancet*. 2000;355:1143-1148.

61. Kobayashi Y, Ikeda K, Shinozuka K, Nara Y, Yamori Y, Hattori K. L-nitroarginine increases blood pressure in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1991;18:397-399.

62. Vannini F, Kashfi K, Nath N. The dual role of iNOS in cancer. *Redox Biol*. 2015;6:334-343.

63. Granados-Principal S, Liu Y, Guevara ML, Blanco E, Choi DS, Qian W, Patel T, Rodriguez AA, Cusimano J, Weiss HL, Zhao H, Landis MD, Dave B, Gross SS, Chang JC. Inhibition of iNOS as a novel effective targeted therapy against triple- negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2015;17:25.

64. Lejeune P, Lagadec P, Onier N, Pinard D, Ohshima H, Jeannin JF. Nitric oxide involvement in tumor-induced immunosuppression. *J Immunol*. 1994;152:5077-5083.

65. Yılmaz, B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi, Feryal Matbaacılık. 1999;382-397.

66. Southam E, Gartwaite J. Location of nitric oxide synthase and cyclic GMP in rat cerebellum, *The biology of nitric oxide*, portland pres 1992; 273-275.

67. Iadecola C. Bright and dark sides of nitric oxide in ischemic brain injury. *TINS*,1997;20(3):132-139.

68. Bagetta G, Mollace V, Lannone M, Nistico G. Possible involvement of nitric oxide in the pathophysiology of seizures and brain damage in rats, *The biology of nitric oxide*, portland pres. 1992; 255-256.

69. Yun HY, Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide in health and disease of the nervous system. *Molecular Psychiatry*. 1997; 2:300-310.

70. Erbaş, D. Nitrik oksit: Fizyolojik önemi ve çeşitli hastalıklardaki rolü. *Klinik gelişim*.1998;11:376-380.

71. Kingwell AB. Nitric oxide-mediated metabolic regulation during exercise: Effect of training in health and cardiovascular disease. *FASEB*. 2000;14:1685-1696.

72. Hecker M, Fleming I, Ayajiki K, Busse R. Mechanism of shear stress-dependent endothelial nitric oxide release: Cardiovascular implications. In: Weisman. BA. et al. (edt):*Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide*. Plenum Press, New York,1995;49-56.

73. Kula, S. Kalp yetmezliği için yeni tedaviler, *Sted*. 2002;11(1):15-16.

74. Tuna, R, Çağlayan B. Nitrik oksit-I-.*Sendrom Temmuz*1995; 25-28.

75. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*. 2000;4(4):453-461..

76. Ersoy E, Bayşu N. *Biyokimya*, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yay. 1986; 408.

77. Alp H, Aytekin I, Atakisi O, Hatipoglu NK, Basarali K, Ogun M, Buyukbas S. The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Ellagic Acid on the Levels of Malondialdehyde, Reduced Glutathione and Nitric Oxide in the Lung, Liver and Kidney Tissues in Acute Diazinon Toxicity in Rats. *Journal Of Animal and Veterinary Advances* . 2011;10(11) 1488-1494.

78. Petermann R, Vogl S, Schulze E, Dargel R. Chronic liver injury alters basal and stimulated nitric oxide production and 3H-thymidine incorporation in cultured sinusoidal endothelial cells from rats, *J. Hepatology*. 1999;31:284-292.

79. Özakyol AH. Nitrik oksit: Gastrointestinal sistem ve karaciğer. *Sendrom*. 1998;74-78.

80. Erten N, Karan MA, Taşçıoğlu C, Vural P, Canbaz M. Sirozlu hastalarda plazma nitrik oksit düzeyleri. *İst. Tıp Fak. Mec*. 1999; 62:3.

81. Şireli M, Bülbül A, Güzel M. Kedilerde kronik böbrek yetmezliğinde kan nitrik oksit düzeyinin belirlenmesi. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg* 2002;49:95-99.

82. Matsumoto A, Hlrata Y, Kakokt M, Nagata D, Momomura S, Sugimoto T, Tagawa R Omata M. Increased excretion of nitric oxide in exhaled air of patients with chronic renal failure. *Clin. Sci.* 1999; 96: 67-74.

83. Conger J, Robinette J, Villar A, Raji L, Shultz P. Increased nitric oxide synthase activity despite lack of response to endothelium-dependent vasodilators in postischemic acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest* 1995; 96: 631-38.

84. Weitzberg E, Lundberg JON. Nonenzymatic Nitric Oxide production in humans. *Nitric oxide: Biology and Chemistry* 1998;2(1):1-7.

85. David B, Kirk R, Dominic K. Nitric oxide and infectious diseases, *Arch. Dis. Child.* 1999;81:185-188.

86. Lantz RC, Munger K. Role of nitric oxide in inflammatory conditions, *Nepron; Basel.* 2002;90(4):373-379.

87. Bayındır O. Septik şokta reaktif oksijen ürünleri ve NO. *Klinik gelişim.* 1998;11:396-372.

88. Atakisi E, Kart A, Atakisi O, Topcu B. Acute tamoxifen treatment increases nitric oxide level but not total antioxidant capacity and adenosine deaminase activity in the plasma of rabbits. *European review for medical and pharmacological sciences.* 2009;13(4): 239–243.

89. Atakisi O, Atakisi E, Atabay T, Uzun M. Effect of L-Arginin and N ω -Nitro-L-Arginine Metyl Ester Brain, Liver and Kidney Tissue Nitric Oxide and Malondialdehyde Levels. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2009;15(1), 71-75.

90. Atakisi E, Topçu B, Dalginlı Yıldız K, Gulmez C, Atakisi O. Acute Effects of N-Acetylcysteine on Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Capacity, Nitric Oxide Level and Gammaglutamyl Transpeptidase Activity in Rabbits. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2016; 22(6),:871- 875.

91. Gulmez C, Yildiz Dalginli K, Atakisi E, Atakisi O. The protective effect of lactoferrin on adenosine deaminase, nitric oxide and liver enzymes in lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia model in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2020;26(6):801-806.

92. Watts MR, Lyle CH, Dyer RM. Nitric oxide and inflammation in the horse. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 2006;110(3-4),:267-274.

93. Leek BF, Radi ZA, Becker WC, Carpenter AJ, Racke MM. Nitric oxide donors as potential therapeutic agents for the treatment of cardiovascular diseases in animals. *Veterinary Journal.* 2013;197(3): 532-538.

94. Clinkenbeard KD, Mosier DA, Osborne JD, Sartin JL. Nitric oxide in bovine respiratory disease: Interplay among nitric oxide, superoxide dismutase, and hydroxyl radical. *Veterinary Journal.* 2006;172(3): 485-493.

95. Eisenstein TK. Implications of Salmonella-induced nitric oxide (NO) for host defense and vaccines: NO, an antimicrobial, antitumor, immunosuppressive and immunoregulatory molecule. *Microbes and infection*. 2001;3(14-15):1223–1231.

96. Evans SS, Repasky EA, Fisher DT. Fever and the thermal regulation of immunity: the immune system feels the heat. *Nature reviews. Immunology*. 2015;15(6):335–349.

97. Asres A. Effect of Stress on Animal Health: A Review. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2014;4:116-121.

98. Bhanuprakash V, Singh U, Sengar G, Sajjanar B, Bhusan B, Raja TV, Alex R, Kumar S, Singh R, Ashish Kumar Alyethodi RR, Kumar S, Deb R. Differential effect of thermal stress on HSP70 expression, nitric oxide production and cell proliferation among native and crossbred dairy cattle. *Journal of thermal biology*. 2016;59:18–25.

99. Atakisi O, Oral H, Atakisi E, Merhan O, Pancarci MS, Ozcan A, Marasli S, Polat B, Colak A, Kaya S. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. *Res Vet Sci*. 2010;89(1):10-13.

100. Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Naji L, Fernandez-Santos JM, Martin-Lacave I, Guerrero JM, Calvo JR. Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and antiapoptotic effects. *Journal of Pineal Research*. 2005;39: 400–408.

101. Erdogan HM, Karapehlivan M, Citil M, Atakisi O, Uzlu E, Unver A. Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Veterinary research communications*. 2008;32(4): 333–339.

102. Degirmencay S, Kucukler S, Özdemir S, Kaman R. Evaluation of erythrocyte arginase activity, plasma nitric oxide concentration and oxidative stress status in cattle with anaplasmosis. *Veterinary parasitology*. 2023;314:109855.

103. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 1996; 271(5): C1424-C1437.

104. Atakisi E, Atakisi O, Topcu B, Uzun M. Effects of therapeutic dose of ivermectin on plasma nitric oxide and total antioxidant capacity in rabbits. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2009;13(6):425-429.

105. Atakisi O, Atakisi E, Ozcan A, Karapehlivan M, Kart A. Protective effect of omega-3 fatty acids on diethylnitrosamine toxicity in rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013;17(4):467-471.

106. Dalginli K, Kilicle P, Atakisi O, Ozturkler M, Uluman E. Antidiabetic potential of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil in streptozotocin induced diabetic rat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society.* 2023;74(1):5165–5176.

107. Ghosh S, Bhattacharyya S, Rashid K, Sil PC. Curcumin protects rat liver from streptozotocin-induced diabetic pathophysiology by counteracting reactive oxygenspecies and inhibiting the activation of p53 and MAPKs mediated stress response pathways. *Toxicol Rep.* 2015;2:365–376.

108. Szlachcic A, Sliwowski Z, Krzysiek-Maczka G, Majka J, Surmiak M, Pajdo R, Drozdowicz D, Konturek SJ, Brzozowski T. New satiety hormone nesfatin-1 protects gastric mucosa against stress-induced injury: mechanistic roles of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and vanilloid receptors. *Peptides* 2023;49:9–20.

109. Gulmez C, Kart A, Atakisi O, Ozturkler M, Dalginli KY, Moldaliev ZT, Atakisi E. A possible role of nesfatin-1 and irisin in beneficial effect of Capparis Ovata extract on liver and kidney oxidative/ nitrosative status. *Annals of Medical Research.* 2021;28(9):1659-1664.

110. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers. *J. Pineal Res.* 2016; 61,:253–278.

111. Tan DX, Manchester LC, Liu X, Rosales-Corral SA, Acuna-Castroviejo D, Reiter RJ. Mitochondria and chloroplasts as the original sites of melatonin synthesis: A hypothesis related to melatonin's primary function and evolution in eukaryotes. *J. Pineal Res.* 2013;54: 127–138.

112. Reiter RJ. Melatonin: Clinical relevance. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003;17: 273–285.

113. Pogan L, Bissonnette P, Parent L, Sauvé, R. The effects of melatonin on Ca²⁺ homeostasis in endothelial cells. *J. Pineal Res.* 2002;33:37–47.

114. Sharma AK, Kaur A, Kaur T, Kaur S, Pathak D, Singh AP. Ameliorative role of inducible nitric oxide synthase inhibitors against sodium arsenite-induced renal and hepatic dysfunction in rats, *Drug and Chemical Toxicology.* 2022;45:(5)2255-2261.

115. Xiong ZK, Lang J, Xu G, Li HY, Zhang Y, Wang L, Su Y and Sun AJ: Excessive levels of nitric oxide in rat model of Parkinson's disease induced by rotenone. *Exp Ther Med.* 2015;9:553-558.

116. Park K-E, Lee SH, Bae SI, Hwang Y, Ok S-H, Ahn SH, Sim G, Chung S, Sohn J-T. Lipid Emulsion Inhibits Amlodipine-Induced Nitric Oxide-Mediated Vasodilation in Isolated Rat Aorta. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(10):8741.

117. Hu, G.; Xu, L.; Ito, O. Impacts of High Fructose Diet and Chronic Exercise on Nitric Oxide Synthase and Oxidative Stress in Rat Kidney. *Nutrients* 2023, 15, 2322.

118. Ito D, Cao P, Kakihana T, Sato E, Suda C, Muroya Y, Ogawa Y, Hu G, Ishii T, Ito O, Kohzuki M, Kiyomoto H. Chronic Running Exercise Alleviates Early Progression of Nephropathy with Upregulation of Nitric Oxide Synthases and Suppression of Glycation in Zucker Diabetic Rats. *PloS one*. 2015;10(9): e0138037.

119. Srebro D, Dožić B, Savić Vujović K, Medić Brkić B, Vučković S. Magnesium Sulfate Reduces Carrageenan-Induced Rat Paw Inflammatory Edema Via Nitric Oxide Production. Dose-Response. 2023;21(1).

BÖLÜM II

MASTITIS'İN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLERİ

Biochemical Markers of Mastitis

Şefika MUSABEŞEOĞLU¹ & Tülay BÜYÜKOĞLU²

¹*Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Biyokimya Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye
E-mail: sefikaercan.3715@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2885-3438*

²*Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye
E-mail: tulaybt@hotmail.com
ORCID: 0000-0001-6850-4844*

1. Giriş

Mastitis, meme dokusunun hem fizyolojik hem de metabolik değişikliklere ve mikroorganizmaların neden olduğu hasara karşı verdiği yangısal bir cevaptır. (1, 2, 3)

Mastitiste enfeksiyonun derecesi ve yaygınlığı bakterilerin salgıladıkları veya yapılarında bulunan virülens faktörler ile ilişkilidir. Ayrıca, genetik, oksidatif stres, ineğin yaşam alanı ve çevresi ile ilgili stres koşulları, beslenme, meme bezinin fizyolojik olarak involusyon sürecinden laktasyon sürecine geçiş dönemi gibi hayvana bağlı koşullar da bu durumu olumlu veya olumsuz yönde etkilemektedir. Süt inekleri geçiş döneminde önemli bir metabolizma hastalığı olan mastitis gelişimi açısından yüksek risk altındadırlar. (4, 5)

İneklerde mastitis, klinik ve subklinik olmak üzere iki formda görülmektedir. Klinik mastitisler; perakut, akut, subakut ya da kronik olabilirler. (2, 6) Ağrı, kızarıklık, ısı artışı ve hipertorfi gibi lokal klinik belirtilere ek olarak perakut ve akut formda genel durum bozukluğuna da neden olan klinik mastitisler,

yetiştiriciler ve veteriner hekimler tarafından kolaylıkla tespit edilebilmektedir. Ancak, lokal ve genel klinik belirtilerin olmadığı subklinik mastitislerin yetiştiriciler tarafından fark edilebilmesi mümkün değildir. Gerek subklinik gerekse klinik mastitisler sütte olduğu kadar kan serumunda da biyokimyasal parametrelerde bir takım değişikliklere neden olmaktadır. Özellikle subklinik mastitisin teşhisi amacıyla kan ve sütteki bazı biyokimyasal belirteçlerdeki değişikliklerin tespitinden yararlanılmaktadır. (2,3)

2. Mastitisin Teşhis Yöntemleri

Son yıllarda mastitis teşhisi için çeşitli parametreler üzerinde çalışılmaktadır. Bunlar arasında elektriksel iletkenlik ve pH seviyesindeki değişiklikler, iki boyutlu jel elektroforezi ve kütle spektroskopisi, enzimler, proteinler, peptitler, süt bileşenleri, somatik hücre sayısı (SHS) ile tek başına veya birlikte kullanılabilen moleküler testler, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), genomik ve proteomik analizler yer almaktadır. (7, 8) Bu yöntemlerin çoğuna erişim zordur, özel işçilik gerektirir ve yüksek maliyetli olduğu için henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. Bununla birlikte, ekonomik olarak erişilebilir tanı yöntemlerinin kombinasyonu, mastitisin daha erken, daha hızlı ve daha doğru bir şekilde teşhis edilmesini kolaylaştırır. (9)

Süt numuneleri, kan numunelerinin aksine rutin tarama için düzenli olarak toplandığından daha fazla tercih edilmektedir. (10) Klinik mastitis, meme ve süütün gözle görülür anormallikler açısından incelenmesiyle teşhis edilebilirken, subklinik mastitisin tanımlanması daha zordur. Subklinik mastitisli hayvanlarda tanı esas olarak SHS veya saha uygulaması olan California Mastitis Testi (CMT) gibi indirekt yöntemlerle süt üzerinde konur. Tipik olarak bir meme içi enfeksiyondan (MİE) kaynaklanan hastalık, bakteriyolojik kültür veya moleküler analizler (PCR) gibi doğrudan yöntemlerle de araştırılır. (7, 11) Dolaylı tarama yaklaşımları, temel olarak, yangı süreci sırasında bağışıklık hücrelerinde, süt ve kanda bazı biyokimyasal belirteçlerde oluşan değişikliklerin ölçülmesi esasına dayanır. (12) Mastitisin teşhisinde kullanılan başlıca biyokimyasal belirteçler; enzim, vitamin, iz element, oksidatif stres, yangı, lipid ve lipoprotein ile hormon belirteçleridir.

3. Mastitis Teşhisinde Kullanılan Enzim Belirteçleri

Sütün yapısında doğal olarak bulunan birçok enzim aktivitesi, yangı sırasında artmaktadır. Bu enzimler hem süt verimindeki düşüş hem de yangısal tepki artışı ile bağlantılıdır. (3) Mastitis, sütteki en az 20 enzimin

konsantrasyonunda değişikliklere neden olur. Bunlar arasında NAGaz, beta-glukuronidaz, laktat dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (ALP), aspartat aminotransferaz (AST), plazmin, katalaz, elastaz ve esteraz bulunmaktadır. Günümüzde mastitisli sütlerde bu enzimlerin konsantrasyonlarını ölçme yöntemleri subklinik mastitis için bir tarama testi olarak kullanılmaktadır. (8)

Esterazlar, genel olarak kolinesterazlar (asetilkolinesteraz dahil), karboksilesterazlar ve öncelikle kan ve plazmada bulunan arilesterazlar olarak sınıflandırılır. Esterazlar öncelikle lökositlerde bulunur. Plazma esterazının süte geçişini kolaylaştıran kan-süt geçirgenliğindeki ve süt lökosit sayısındaki artış nedeniyle mastitisli sığırların sütünde esteraz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. (8, 13)

Süt lipoprotein lipazı (mLPL), süt yağı trigliseritlerinin lipolizinden sorumlu olan sütteki başlıca lipolitik enzimdir. Enzim aktivitesi sonucu sütte lipoliz tadı olarak bilinen kusura neden olabilen kısa zincirli yağ asitleri görülür. Sütte mLPL kaynağı belirlenememiştir. Laktasyonun farklı dönemlerindeki subklinik mastitisli inek sütünde LPL aktivitesi (108,7 ünite/ml) sağlıklı inek sütlerine (79,2 ünite/ml) göre yüksek bulunmuştur. (14)

Plazmin (PL), hem sağlıklı memelerden hem de yüksek SHS'lı memelerden elde edilen sütteki en önemli proteazdır. (15) Sütte, plazminin ana substratı kazeindir ve bu enzim tarafından parçalanmaya çok duyarlıdır. Sığır sütündeki plazmin, plazminojen ve plazminojen aktivatörlerinin konsantrasyonları laktasyon aşaması, laktasyon sayısı ve ırk gibi faktörlerin etkisiyle değişir. Plazmin aktivitesi meme içi enfeksiyonlardan da etkilenir. Klinik veya subklinik mastitis durumunda, somatik hücrelerin akışı artar ve bu da plazminojen salgılanmasının artmasına neden olur. (16)

Elastaz, mastitise sebep olan patojen bakteriler genellikle elastaz da dahil olmak üzere eksojen enzimleri süte salgılar. Bu bakteriyel proteazların artan seviyeleri aynı zamanda süt proteininin bozulmasına da neden olabilir. Yangı sürecinde bakteriyel enfeksiyonu uzaklaştırmak için meme dokusuna nötrofiller girer. Bu nötrofiller elastaz gibi enzimleri salgılar ve salgılanan bu enzimler mastitisli meme dokusunda proteolizisi artırır. Subklinik mastitisli inek sütünde elastaz aktivitesinin attığı bildirilmiştir. (17)

Matriks metaloproteinazlar (MMPs), kılcal endotel hücresi, nötrofiller ve makrofajlar gibi çeşitli hücrelerde yaygın olarak sentezlenen ve salgılanan, hücre dışı matrisin bozulmasında, hücre göçünde, hücre apoptozunda ve inflamasyonda önemli roller oynayan çok işlevli bir proteindir. Matris metaloproteinazlar, farklı dokularda hücre dışı matrisin yeniden yapılanma sürecine katılan, kalsiyuma

bağımlı çinko içeren endopeptidazların bir ailesidir. Mastitis sırasında PMN hücreleri ilk savunma hattını temsil eder; ve bunların meme kanallarına göçü MMP'ler tarafından desteklenmektedir. Bu proteaz ailesi, substrat spesifikliğine göre beş alt aileye ayrılır; kollajenazlar, jelatinazlar, stromelinler, membran tipi MMP'ler ve önceki gruplara dahil edilemeyen beşinci bir enzim grubunu içerir. En yaygın olarak incelenen MMP'ler, MMP-2 jelatinazlar (jelatinaz A) ve MMP-9 (jelatinaz B)'dur. (18, 19)

Klinik ve subklinik mastitis belirtileri olan 163 inekten alınan sütlerdeki metalloproteinaz-2 (MMP-2) ve metalloproteinaz-9'un (MMP-9) aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, tüm mastitis tiplerinde MMP-9'un aktivitesinin, MMP-2'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca artan proteaz aktivitelerinin, daha büyük ekonomik kayıplara yol açan klinik mastitiste azalan κ -kazein konsantrasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (18)

Son yapılan bir çalışmada, subklinik mastitisli laktasyondaki Tayland melez süt ineklerinden elde edilen çiğ süt örneklerinde MMP-9 düzeyinde önemli bir artış saptanırken MMP-2 düzeylerinde önemli bir fark saptanmamıştır. (20)

Aspartat aminotransferaz (AST), erken laktasyon dönemindeki farklı ırklardaki klinik ve subklinik mastitisli ineklerde yapılan çalışmada, dolaşımdaki AST ile klinik mastitis gelişimi arasında pozitif ilişki gözlenirken, sağlıklı ve subklinik mastitisli inekler arasında hiçbir fark gözlenmemiştir. Bu durumda AST'nin belirli bir hastalığa özgüllüğünün düşük olduğu ve erken laktasyonda mastitis riskini değerlendirmek için kandaki AST'nin etkin bir belirteç olmadığı bildirilmiştir. (4, 21) Fakat subklinik mastitisli sığırlarda yapılan bir diğer çalışmada, süt ve kan serumundaki AST seviyesi sağlıklı hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş ve meme parankimindeki doku hasarı ile ilişkilendirilmiştir. (22, 23, 24) Gangrenöz mastitisli keçilerde de AST aktivitesinde önemli bir artış tespit edilmiştir. (25) Farklı yaşlardaki subklinik mastitisli manda sütlerinde ise AST aktivitesinde bir değişiklik tespit edilememiştir. (26)

Alkalen fosfat (ALP), vücutta hemen hemen tüm dokularda ve hücre zarında yer alan Zn-metalloenzimdir. Bu enzim kandan süte aktif selektif transportla geçer ve sütte kana göre daha fazla miktarda bulunur. Diğer enzimlerin aksine plazma ALP seviyesindeki artış, hasara uğrayan hücrelerden daha çok, ALP sentezinin artmasından kaynaklanır. Lökositosis ve doku rejenerasyonunun mastitis sürecinde ALP seviyesinin yüksek kalmasını sağlayan olgular olabileceği bildirilmektedir. Mastitisli inek sütlerindeki ALP aktivitesi sırasıyla serumdakinin 15, normal süttekinin ise 6 katı olarak tespit edilmiştir. (1)

Subklinik mastitisli sığırlarda yapılan çalışmada, süt ve kan serumundaki ALP seviyeleri sağlıklı hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.(21, 23) Subklinik mastitisli mandalarda da ALP'nin hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerle enfekte sütte yükseldiği görülmüştür. (26)

Lizozimler, sütteki antibakteriyel sistemin bileşenlerinden biridir ve güvenli bir yangı belirtecidir. (3, 11) Sağlıklı koşullarda, süttün lizozim konsantrasyonu türler arasında büyük farklılıklar gösterir ve laktasyon dönemi, hastalık, yaş ve hayvanların doğum sayısı gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Doğumdan sonra lizozim konsantrasyonu artarak 7. günde zirveye (0.72 mg/L süt) ulaşır ve doğum sonrası 2. haftadan sonra azalmaya başlar. Farklı süt türlerinde de mastitis sırasında süttün lizozomal aktivitesinde önemli bir artış (10-50 kat) kaydedilmiştir. Bununla birlikte, manda sütünde mastitis belirtileri görülme de bin kat daha fazla lizozim aktivitesi ve orta derecede artmış SHS tespit edilmiştir. (11)

N-asetil glukozaminidaz (NAGaz), intraselüler lizozomal bir enzimdir ve yangı hücrelerinin aktive olup yıkımlanması sonucu süte geçmektedir. Sütte NAGaz aktivasyonu SHS ile yakından ilişkilidir. (3) Keçi ve koyun sütünde, enfeksiyon durumunda NAGaz aktivitesi artar. Ancak keçi sütündeki NAGaz aktivitesi sığır sütüne kıyasla yaklaşık 4 kat daha düşük bulunmuştur. (27)

β -glukuronidaz, mastitisin uygun bir belirteci olduğu düşünülen lizozomal enzimlerden biridir. Bu molekül inflamasyon sırasında en seçici şekilde salgılanan enzimlerden biridir. Mastitisli keçi sütünde β -glukuronidaz aktivitesinin arttığı bildirilmiştir.(28)

Laktat dehidrogenaz (LDH), lizozomal olmayan bir sitoplazmik enzimdir. Sığır sütünde hücrel nekrozun veya hücre zarlarındaki hasarın bir sonucu olarak aktivitesi artmaktadır. (27) İnflamatuvar enzimler NAGaz ve LDH'nın sütteki (10, 21, 23, 27, 29) ve kandaki (23) artışı inek, koyun, keçi ve deve meme içi enfeksiyonları tanımlamanın dolaylı bir yolu ve mastitisin potansiyel belirteçlerindedir. Sığırlarda buzağılamadan sonraki ilk haftada LDH'nın çok yüksek seviyede olduğu ve artan laktasyon sayısı ile birlikte aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Alkalin fosfat ve AST'ye göre LDH, küçükbaş hayvanlarda meme içi enfeksiyonların saptanması için daha güvenilir bir gösterge olarak kabul edilmektedir. (30) Keçi ve ineklerde süt LDH aktivitesi ile SHS değeri arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. (31, 32) Sadat ve ark.,(25) hem klinik mastitisli hem de subklinik mastitisli ineklerin sütünde önemli ölçüde daha yüksek LDH aktivitesi tespit etmişlerdir.

Farklı yaşlardaki subklinik mastitisli mandalarda yapılan çalışmada; gram pozitif bakterilerin neden olduğu subklinik mastitisli sütlerde LDH'de artış gözlenmiştir. (26)

Mastitisin teşhisinde kullanılan enzim belirteçleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Mastitisin teşhisinde kullanılan enzim belirteçleri

Enzim belirteçleri	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
Esterazlar	Süt	İnek	Artar
mLPL	Süt	İnek	Artar
PL	Süt	İnek	Artar
AST	Süt/Kan	İnek	Artar/ Değişmez
ALP	Süt/Kan	İnek, Manda	Artar
LZs	Süt	İnek, Manda	Artar
NAGaz	Süt	İnek, Deve, Keçi	Artar
LDH	Süt/Kan	İnek, koyun, keçi, deve	Artar
MMP-9	Süt	İnek	Artar
Elastaz	Süt	İnek	Artar
β -glukuronidaz	Süt	Keçi	Artar

4. Mastitis Teşhisinde Kullanılan Vitamin Belirteçleri

Vitaminler, immun sistem fonksiyonları üzerinde direkt olarak birçok etkiye sahip oldukları için mastitisli ineklerde de oldukça önemlidirler. Ancak, doğum öncesi dönemde süt ineklerinde hastalıkları teşhis etmek için biyobelirteçler olarak serum vitamin konsantrasyonlarının etkinliği iyi bilinmemektedir. (33)

A Vitamini, bağışıklık fonksiyonunu iyileştirmede ve oksidatif stresi azaltmada önemli bir faktördür. β -karoten ise, fagosit içinde süperoksit oluşumunu azaltan bir antioksidan olarak meme dokusunu ve sütü serbest radikallerin zararlı etkisinden korur. Hem vitamin A hem de β -karotenin bağışıklık hücreleri üzerinde uyarıcı etkileri olduğu görülmüştür. (33, 34) Mukozal yüzey bütünlüğü ve stabilitesinde önemli rol alan vitamin A ve β -karoten, ineğin meme bezine patojen girişine karşı direncini ve giriş sonrası direncini etkileyebilir. Mastitisli ineklerde, mastitis olmayan ineklere göre plazma vitamin A ve β -karoten konsantrasyonlarının önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir (34). Mastitis ve üremede β -karotenin, vitamin A'dan bağımsız olarak

çalıştığı ancak düşük plazma vitamin A (<0.8µg/mL) ve β-karoten (<2µg/mL) konsantrasyonlarının mastitisin şiddeti ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir. (3, 34) Strickland ve ark., (34) ise β-karoten ve retinol düzeylerinin, kuru döneme göre erken laktasyonda önemli ölçüde azaldığını, ancak bu vitaminlerin mastitis ile ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Prom ve ark., (36) yüksek süt verimli sığırlara doğum öncesi dönemde β- karoten takviyesi yapmışlar ve sonrasında kan serumunda β- karoten ve A vitamini konsantrasyonlarında artış, ancak E vitamini konsantrasyonunda azalış tespit etmişlerdir. Ayrıca doğum öncesi dönemde β- karoten takviyesinin üreme, verim ve mastitis riski üzerine hiçbir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir.

E Vitamini (α-tokoferol), yağda eriyen çok önemli bir antioksidandır ve α-tokoferol'un biyolojik olarak aktif formudur. Vitamin E, lipit membranın ayrılmaz bir parçasıdır ve lipit membranlarını yüksek ROS konsantrasyonlarının zararlı etkilerinden korumaktadır. (21) Süt ineklerinde α -tokoferolün plazma konsantrasyonlarının doğum sırasında düşük olduğu ve bu süre boyunca bağışıklığın baskılandığı bildirilmektedir. Klinik mastitis vakaları genellikle geçiş döneminde ortaya çıkar ve kandaki en düşük vitamin E konsantrasyonu da bu dönemde görülür. Kuru dönem yönetiminde optimum vitamin E seviyesinin korunmasının meme sağlığının iyileştirilmesinde önemli bir faktör olabileceği bildirilmiştir. (34) Strickland ve ark., (34) ise retinol ve β-karoten ile birlikte α -tokoferol düzeylerinin de erken laktasyonda azaldığını ancak mastitis ile ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, kuru dönem ve buzağılama döneminde kandaki düşük α-tokoferol değerlerinin yüksek mastitis insidansı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (36)

Bouwstra ve ark., (37) kuru dönemde süt ineklerine günlük 3.000 IU E vitamini takviyesinin, yüksek mastitis insidansına sahip sürülerde meme sağlığı üzerine etkisini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada, E vitamini takviyelerinin hem mevcut E vitaminini hem de kandaki E vitamini/kolesterol oranını artırdığını bildirmişlerdir. Bu çalışma, kuru dönemde 14,5 µmol/L'nin üzerindeki başlangıç E vitamini seviyesinin, klinik mastitis için bir risk faktörü olduğunu ve kuru dönemin başlangıcındaki E vitamini durumunun önemli olduğunu ortaya koymaktadır. Yüksek dozda E vitamini takviyelerine başlanmadan önce, E vitamininin meme sağlığı açısından hangi eşikte zararlı olduğunun tam olarak belirlenmesi önerilmektedir. Ayrıca E vitamininin meme sağlığını nasıl etkilediğini araştırmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir. Aynı araştırmacılar bir diğer çalışmalarında doğumdan 2 hafta önce oksidatif stres seviyelerinin yüksek olduğunu ve bunun da klinik mastitis

riskini artırdığını belirlemişlerdir. Ancak, kuru dönemdeki her ineğin yüksek E vitamini takviyesi ile oksidatif strese karşı iyi yanıt vermediği bildirilmiştir. (38)

C Vitamini (Askorbik asit), ROS'ları uzaklaştırır, böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve oksidanlara karşı önemli antioksidan savunmalardan biridir. C vitamininin mastitis ile ilişkili olduğu, mastitisli ineklerin sütlerinde ve plazmalarında C vitamini konsantrasyonlarının düşük olduğu bilinmektedir. Klinik belirtilerin şiddeti, C vitamini konsantrasyonlarındaki azalmanın büyüklüğü ile ilişkilidir. Vitamin C sığır mastitisinde oksidatif stres biyobelirteci olarak tanımlanmaktadır. Akut mastitis ve subklinik mastitisde özellikle eritrositlerde lipid hidroperoksit düzeylerinin arttığı durumlarda sütteki C vitamini konsantrasyonunun önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. (34)

Saanen ve İsrail keçilerinin kullanıldığı çalışmada, sağlıklı memeden alınan sütlerde C vitamini konsantrasyonu, enfekte olan memeden alınan sütlere göre %36.4 daha yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada keçi sütünde bulunan C vitamini konsantrasyonunun (143 μ M) C vitamini ile desteklenmiş inek sütündekinden (119 μ M) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. (15)

Peker Akalın ve ark., (40) laktasyonun aynı döneminde Holstein ırkı subklinik mastitisli ineklerde yaptıkları çalışmada, SHS ve süt serumunda (yağı ve hücreleri alınmış) C vitamini düzeylerini belirlemişlerdir. Subklinik mastitisin şiddetine bağlı olarak SHS'nın arttığını, birim hücre başına düşen C vitamini ve süt serumu C vitamini düzeylerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Bu durumu da sütteki somatik hücre sayısı arttıkça hücrelerin C vitamini ihtiyacının arttığı ve bu ihtiyacın süt serumundan hücre içine C vitamini alınımının artırılarak giderilmeye çalışıldığı şeklinde açıklamışlardır.

Mastitisin teşhisinde kullanılan vitamin belirteçleri Tablo 2'te özetlenmiştir.

Tablo 2: Mastitisin teşhisinde kullanılan vitamin belirteçleri

Vitamin	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
Vitamin A	Kan	İnek	Azalı/Değişmez
Vitamin E	Kan/Süt	İnek	Azalı/Değişmez
Vitamin C	Süt	Keçi, inek	Azalı

5. Mastitis Teşhisinde Kullanılan İz Element Belirteçleri

Süt hayvanlarında bağışıklık fonksiyonlarının gerçekleşmesinde, farklı minerallerin ve eser elementlerin önemli etkileri vardır. Mastitis, kan-süt

bariyerinin bozulmasına neden olduğu için hücre dışı sıvının meme bezine girmesine neden olur. Bu durum süt ve kandaki mineral ve eser element düzeylerini etkiler. (41) Sütün mineral profili, enfeksiyonun şiddeti ve süresine göre farklılık gösterir. Bazı mineral maddeler antioksidan sistemde yer alır ve meme sağlığının izlenmesinde önemlidir. Subklinik mastitiste eser elementlerin azalması, vücudun antioksidan kapasitesinin azalmasına ve meme parankiminin hasar görmesine neden olur Somatik hücrelerde artışa neden olan meme enfeksiyonlarının sütün mineral ve eser element profilinde meydana getirdiği değişikliklerin, tanısal ve prognostik değeri olabileceği bildirilmiştir. (41, 42)

Potasyum (K), sodyum (Na), klor (Cl), fosfor (P), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), mastitisli sütlerde sodyum (Na) ve klorür (Cl) süte karışarak alveol lümenine geçer ve sütte NaCl konsantrasyonlarını artırır. (43) Mastitiste, Na ve Cl konsantrasyonlarının yükselmesine bağlı olarak sütün elektrik iletkenliği de artmaktadır. (23) Mastitis sırasında yangıya yanıt olarak sütteki K miktarı düşer ve buna bağlı olarak süt pH'sı artar. Mastitiste süt Na ve K konsantrasyonundaki değişiklik mastitis patojeni, inflamasyonun şiddeti, laktoz üretimindeki azalma ve süt bileşenleri ile ilişkilidir. (3, 43) Subklinik mastitisli mandaların sütlerinde Ca seviyelerinin önemli ölçüde düştüğü ve ozmoliteyi korumak için Na ve Cl konsantrasyonunun artıp, K seviyesinin ise azaldığı tespit edilmiştir. (41) Qayyum ve ark., (24) subklinik mastitisli Cholistani sığırlarında süt ve kan serumundaki K, Ca, Mg, P seviyelerinin sağlıklı hayvanlara göre anlamlı derecede düşük olduğunu, Na değerlerinin ise önemli ölçüde yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı ineklerle karşılaştırıldığında perakut koliform mastitisli ineklerde kan Ca konsantrasyonunun anlamlı derecede düşük olduğu bildirilmiştir. (43)

Demir (Fe), birçok enzimatik aktivitede rol oynayan, konakçı ve patojen için esansiyel bir iz elementtir. Bakteriyostatik sistemin vücutta çalışması ve bakteriyel proliferasyonun kontrolü için vücutta düşük Fe düzeyi gereklidir. Kan Fe konsantrasyonundaki değişikliklerin, akut mastitisli inekler dahil olmak üzere, inflamatuvar hastalıklarda bir biyobelirteç olarak yararlı olduğu bildirilmiştir. (44,45) Guha ve ark., (27) subklinik mastitisli mandaların sütlerinde Fe seviyelerinde artış tespit etmişlerdir. Murakami ve ark., (47) ise subklinik ve klinik mastitisli ineklerde serum Fe konsantrasyonlarının yangıya bağlı olarak önemli ölçüde düştüğünü belirlemişlerdir. Böylece pahalı inflamatuvar belirteçlerden olan serum amiloid A (SAA) yerine, kolay ve ucuz bir alternatif olarak serum Fe konsantrasyonunun kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Çinko (Zn), metabolizmada 300'den fazla enzimin ayrılmaz bileşeni olan bir iz elementtir. Çinko, doku veya hücre büyümesi, hücre replikasyonu, kemik oluşumu, deri bütünlüğü, hücresel bağışıklık ve genel konak savunmasında yer alır. Meme bezi deriden köken alan bir organdır ve meme sinusunu kaplayan keratinin bütünlüğünü korumak için Zn gereklidir. Çinko, serbest radikallerin SOD tarafından uzaklaştırılmasında rol oynar. (34, 43) Yapılan çalışmalarda mastitisli sığır ve mandaların sütünde ve kanında Zn seviyesinin arttığı bildirilmiştir. (26, 44, 47). Qayyum ve ark., (24) ise subklinik mastitisli sığırların süt ve kan serumundaki Fe ve Zn seviyelerinin sağlıklı hayvanlara göre anlamlı derecede düşük olduğunu bildirmişlerdir. Pegolo ve ark., (48) kan Zn seviyesindeki bu değişkenliği sistemik yangının derecesine ve hastalığın safhasına bağlı olduğu şeklinde yorumlamışlardır.

Selenyum (Se), hayvan vücudunun antioksidan sisteminin bir parçası olan temel bir iz elementtir. Antioksidan sistemde GSH-Px enziminin temel bir bileşeni olarak görev yapar. Ayrıca hem hücre içi hem de hücre dışı lipit zarlarının oksidatif hasara karşı korunmasında görevlidir. Selenyum seviyeleri mastitisli sütte normal süte göre daha düşüktür. (35, 42) Mastitisli ineklere Se içeren bir multimineral preparat enjekte edildiğinde mastitis tedavisinde faydalı bir etki gözlemlendiği bildirilmiştir. (45)

Bakır (Cu), demir emilimini ve taşınmasını kolaylaştıran seruloplazminin bir bileşenidir. İnflamatuvar sürecin bir modülatörü olan seruloplazmin, akut faz proteini görevi görür. Bakır, SOD enziminin önemli bir parçasıdır. (34) Bakır eksiklikleri fagositozun bozulmasına ve Cu,Zn-SOD aktivitesinin azalmasına neden olur. Bakır bakteriyel lipitleri, proteinleri ve DNA'yı okside ederek antimikrobiyal özellik gösterir. (43) Süt ineklerinde düşük Cu seviyelerinin klinik mastitis vakalarındaki artışa sebep olduğu bildirilmiştir.(48) Bir diğer çalışmada bakır takviyesi verilen ineklerde, takviye verilmeyen gruba kıyasla doğum sonrası mastitis vakalarının azaldığı gözlemlenmiştir. (43)

Manganez (Mn), birçok enzimin (hidrazlar, kinazlar, dekarboksilazlar ve transferazlar) aktivatörüdür ve metalloenzimlerin (arginaz, piruvat karboksilaz ve mangan süperoksit dismutaz) bir bileşenidir. Enerji metabolizmasına, hücre fonksiyonlarına ve hücre zarının yapımına katılır. Ayrıca mastitis insidansı, üreme, bağışıklık sistemi ve beyin fonksiyonları üzerine etkileri vardır. (50) Subklinik mastitisli mandaların sütlerinde normal sütlere göre Cu ve Mn seviyelerinin değişmediği tespit edilmiştir. (26)

Mastitisin teşhisinde kullanılan iz element belirteçleri Tablo 3'te özetlenmiştir.

Tablo 3: Mastitisin teşhisinde kullanılan iz element belirteçleri.

İz Element	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
Sodyum	Süt	İnek, Manda	Artar
Klor	Süt	İnek, Manda	Artar
Potasyum	Kan /Süt	İnek, Manda	Azalır
Kalsiyum	Kan/Süt	İnek, Manda	Azalır
Fosfor	Kan/Süt	Manda	Azalır
Magnezyum	Kan/süt	Manda	Azalır
Demir	Süt/Kan	Manda,İnek	Artar/ Azalır
Selenyum	Süt	İnek, Manda	Azalır
Çinko	Süt/ Kan	Manda, İnek	Artar/Azalır
Bakır	Süt	Manda, İnek	Değişmez/ Azalır
Manganez	Süt	İnek, Manda	Azalır/ Değişmez

6. Mastitisin Teşhisinde Kullanılan Oksidatif Stres Belirteçleri

Mastitiste, inflamatuvar yanıt sırasında nötrofiller, makrofajlar ve diğer inflamatuvar hücreler patojenleri öldürmek için ROS üretir ve ROS birikiminin bir sonucu olarak oksidatif stres gelişebilir. (51, 52) Vücut kendini ROS'tan korumak için, enzimatik sistemini ve endojen antioksidanları kullanır. Serbest radikallerin oluşumunu baskılayan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri antioksidan savunma sisteminin ilk basamağını şekillendirir. (52)

Mastitis olgularında yangıya bağlı olarak meydana gelen serbest radikallerin etkisi sonucu antioksidan kullanımının arttığı, bunun sonucunda da enzim (CAT, GSH-Px, SOD) düzeylerinin azaldığı belirtilmiştir. (2) Oksidatif stres, hücrelerin DNA, lipidler ve proteinler gibi makromoleküllerinde hasara neden olur ve bu nedenle mastitisi şiddetlendirebilir. Meme bezindeki inflamatuvar süreçler, antioksidan rolü olan moleküllerin azalmasına ve bunun sonucunda oksidatif stresin oluşmasına yol açan lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Daha açık bir ifadeyle oksidatif stres, sitokin salınımı ve mastitis arasında doğrusal bir ilişki vardır. Mastitis sırasında oluşan bu değişiklikler hem süt hem de sistemik dolaşımda gözlemlenebilir. (31, 41) Lalotitis ve ark.,(40) buzağılama dönemindeki

mastitisli ineklerde sağlıklı ineklere göre reaktif oksijen türleri (ROS) ve oksidatif stres indeksi (OSi) değerlerinin yüksek, serum antioksidan kapasitesi (SAC) değerinin ise düşük olduğunu belirlemişlerdir. Bu üç oksidatif stres parametresinin, sonraki laktasyonda mastitis riskini tahmin etmek için mükemmel belirteçler olduğunu bildirmişlerdir. Süt, lipit peroksidasyonunu önlemede ve kalitesini korumada önemli bir rol oynayan kendi antioksidan sistemlerine sahiptir. Bu nedenle sütün antioksidan aktivitesi, CAT, laktoperoksidaz (LPx), GSH-Px, ksantin oksidaz (XO) gibi bazı enzimlerin veya özellikle vitaminler ve provitaminler (retinoidler, karotenoidler, tokoferol, askorbik asit) gibi enzimatik olmayan bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır. Meme içi enfeksiyonların enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktivite üzerinde etkileri vardır. Bu nedenle, bazı bileşiklerin aktivitesi mastitisin göstergesi olarak kullanılabilir. Genel olarak, meme içi enfeksiyonlar azalmış süt ve kan antioksidan kapasitesi ile ilişkilidir. (24, 31, 52)

Oksidatif stresin varlığı ROS ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) doğrudan belirlenmesi, toplam antioksidan kapasitesinin ve enzimatik antioksidan sistemlerinin aktivitesinin değerlendirilmesiyle tespit edilir. Ayrıca, protein, lipit ve nükleik asitlerin oksidasyonundan kaynaklanan yan ürünlerin belirlenmesi ve E vitamini, glutatyon, karotenoidler ve askorbik asit gibi endojen maddelerin düzeylerinin ölçülmesi gibi yöntemlerle de belirlenir (30). Örneğin SOD, GSH-Px, glutatyon redüktaz (GR) ve malondialdehit (MDA) oksidatif stresin spesifik biyobelirteçleridir. Ek olarak, LPx, nitrik oksit (NO), CAT, ksantin oksidoredüktaz, paraoksonaz-1 (PON1) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) mastitisin belirlenmesinde kullanılan oksidatif stres belirteçleridir (9, 30, 53).

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz meme içi enfeksiyonlar sırasında aktivitesi değişen önemli antioksidan enzimdir. Glutatyon peroksidaz, hayvan hücrelerinin sitoplazmasında yaygındır ve görevi, glutatyon varlığında peroksitleri parçalayarak hücreleri peroksitlerin zararlı etkilerine karşı korumaktır. (54) Sütteki GSH-Px aktivitesinin subklinik mastitisli ineklerde sağlıklı hayvanlara kıyasla çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (30,53) Ozbey ve ark., (57) GSH ve toplam GSH düzeylerinin klinik mastitisli süt ineklerinde hem kan hem de süt örneklerinde düşük olduğunu, subklinik mastitisli ineklerde ise sadece süt örneklerinde GSH'nin düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Süperoksit dismutaz, ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidanlardandır. (53) Sütte SOD, sütün antioksidan stabilitesini

korumak için gerekli bir enzimdir. İnek sütündeki bu enzim, sığır eritrositlerinde bulunan Cu, Zn-SOD ile aynı aktiviteye, moleküler ağırlığa ve aynı elektroforetik özelliklere sahiptir. Artan SOD konsantrasyonu, sütte serbest radikallerin ve oksidatif süreçlerin varlığı ile ilişkilidir. (30) Darbaz ve ark.,(58) keçilerde yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli sütlerde SOD aktivitesinin azaldığını ve SHS ile korelasyonu olduğunu bildirmişlerdir. Subklinik mastitisli ineklerde ise sütte SOD aktivitesinin daha yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğin SHS ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir. (53) Yang ve ark.,(22) ise subklinik mastitisli ineklerin sütünde sağlıklı sütlerle karşılaştırıldığında SOD aktivitesinde bir fark bulamamışlar, fakat GSH-Px aktivitesinde artış tespit etmişlerdir.

Geçiş dönemi yüksek SHS'ye sahip ineklerin kanlarında GSH-Px ve SOD aktivite artışı gözlenmiştir. Bu enzimlerdeki artışın postpartum mastitis riski açısından prognostik değeri olduğu bildirilmiştir. (59)

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonunun son ürünüdür. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine neden olur. (60) Meme bezi yangılarında fagositik hücrelerin yangı yerine göçü ve aktivitelerine bağlı olarak daha fazla oksijen kullanılmasıyla lipid peroksidasyonu oluşur ve lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA düzeyi artar. Malondialdehit ve SHS arasında pozitif korelasyon olduğu ve buna bağlı olarak SHS seviyesinin oksidatif stresin bir belirteci olabileceği bildirilmiştir (2, 52). İnek ve buffalolarda subklinik ve klinik mastitiste süt ve kanda MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. (21, 23, 24, 53, 56, 60) Ancak subklinik mastitiste süt ve kanda MDA düzeyinin değişmediğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (2, 62).

Paraoksonaz-1 (PON1), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili glikoprotein yapısında, karaciğerde sentezlenen ve kana salınan bir memeli anti-oksidatif/anti-inflamatuvar enzimidir. (63) Paraoksonaz-1'in oksidatif stres sırasında üretilen lipid hidroperoksitleri ve oksidatif olarak parçalanmış fosfolipitleri hidrolize edebildiği gösterilmiştir. (64) Yapılan araştırmalarda oksidatif stres ile ilişkili hastalıklarda PON aktivitesinin düştüğü bildirilmiştir. (30,64) Nedić ve ark.,(54) *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu subklinik mastitisli ineklerin kan ve sütlerinde PON1 aktivitesini önemli ölçüde düşük, lipid hidroperoksit (LOOH) konsantrasyonunu ise yüksek bulmuşlardır.

Subklinik ve klinik mastitisli Holstein-Frisian ırkı ineklerde PON1 aktivitesinin kontrol ineklerine göre daha düşük olduğu ve PON1 aktivitesinin SAA'dan daha güvenilir bir belirteç olduğu bildirilmiştir. (52) Başka bir

çalışmada ise laktasyonun ilk 100 günündeki subklinik mastitisli ineklerde, serum PON aktivitesinin sağlıklı ineklere göre daha düşük seyrettiği ve memede oluşan oksidatif strese bağlı olarak kan PON aktivitesi ile süt SHS arasında negatif korelasyonun olduğu belirlenmiştir. (53) Bir diğer çalışmada da SHS'den bağımsız olarak subklinik meme içi enfeksiyona sahip hayvanlarda PON ve PON/kolesterol oranında artış tespit edilmiştir. (47)

Nitrik oksit (NO), meme bezinin bağışıklık sisteminin bir parçasıdır ve antimikrobiyal aktiviteye (bakterisidal ve bakteriyostatik) sahiptir. Meme bezi enfeksiyonlarına karşı koruyucu bir etki gösterir. Süt, biyokimyasal ve biyofiziksel açıdan çok karmaşık bir sistem olarak kabul edilir, çünkü XO, SOD ve nitrik sentetazlar gibi belirli enzimlerin aktivitesi nedeniyle meme epitel hücrelerinde ve somatik hücrelerde sürekli olarak H_2O_2 ve NO üretilir. (31) Nitrik oksit, belirli reaksiyonların birbirini takip etmesi ve tekrar etmesi nedeniyle sütte döngüsel aktiviteye sahiptir. Klinik ve subklinik mastitis, sadece oksidatif stresle değil, aynı zamanda RNS oluşumu ve birikiminin neden olduğu nitrozatif stresle de ilişkilidir. Bakteriyel enfeksiyöz süreçler, meme hücreleri tarafından üretilen NO, nitrit, nitrat ve diğer oksidasyon bileşiklerinin konsantrasyonundaki artışla ilişkilidir. (66) Cholistani sığırlarında yapılan çalışmada hem süt hem de kan örneklerinde NO seviyeleri subklinik mastitisli hayvanlarda önemli ölçüde yüksek bulunmuştur. (23)

Laktoperoksidaz (LPx), sütte en çok bulunan enzimdir. Total süt serum proteinlerinin %0,5'ini oluşturur. Sütte hem bakterisidal hem de bakteriyostatik etkileri ile meme bezi bağışıklık sisteminin bir parçası olarak kabul edilir. Bu enzim, XO ve NO ile birlikte meme içi enfeksiyonların önlenmesinde önemli bir rol oynar. (31) Diğer birçok enzimde olduğu gibi, sütteki LPx aktivitesi mastitis ile birlikte artar. Laktoperoksidazın aktivitesi ile birlikte, GSH-Px'nin da aktivitesi artar, ancak bu iki molekülden LPx sütte oksidatif stresi ve antibakteriyel direnci arttırmaktan sorumluyken, GSH-Px oksidatif stresin çözülme sürecine müdahale eder. (11,31) Keçi sütündeki LPx aktivitesi, inek sütüne benzer şekilde SHS'deki artışla birlikte artar, çünkü bu enzim esas olarak lökositler tarafından sentezlenir. Bu nedenle, antimikrobiyal özelliklerine ek olarak LPx, süt keçilerinde subklinik mastitisi saptamak için de kullanılabilir. (31)

Miyeloperoksidaz (MPO), nötrofillerin sitoplazmasında bulunan azurofilik granüllerden salgılanır. (65) Miyeloperoksidaz, güçlü oksidan kaynaklarından birisidir ve hipoklorik asit üretimini katalizler. (60) Mehrzad ve ark.,(67) endotoksinle oluşturulan mastitisli ineklerin kanında polimorf nükleer nötrofillerin (PMN) ve MPO sistem aktivitesinin azaldığını, aksine

süt PMN'inde MPO sistem aktivitesinin ise arttığını bildirmişlerdir. Pegolo ve ark.,(48) ise klinik mastitisli ineklerde kan MPO aktivitesinde anlamlı bir değişiklik tespit edememişlerdir.

Katalaz (CAT), hidrojen peroksidi su ve moleküler oksijene çeviren bir oksidoredüktazdır. Sütte de bulunan katalazın aktivitesi diyet, laktasyon veya meme içi enfeksiyonların varlığı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu nedenle mastitisin bir göstergesi olarak kabul edilebilir.(31) Katalaz, ineklerde meme içi enfeksiyonlarda enzimatik aktivitedeki artışla ilişkili olan süt redoks sisteminde önemli bir rol oynar.(65) İnek sütünde ortalama katalaz aktivitesi 1,96 U/mL, keçi sütünde ise 3,8 U/mL ölçülmüştür. Ancak diyete, laktasyona ve inflamatuvar sürece bağlı olarak bu değerler değişebileceği bildirilmiştir.(15) Katalaz, hidrojen peroksidin ayrışmasına ek olarak, nitriti daha az aktif bir form olan nitrate dönüştürerek NO döngüsüne de katkıda bulunur. Bu nedenle katalaz, sütte aşırı nitrozatif stresin önlenmesinde anahtar enzimlerden biridir. (15,31) Sadat ve ark.,(25) hem klinik mastitisli hem de subklinik mastitisli ineklerin sütlerinde sağlıklı ineklerle karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde azalma tespit etmişlerdir.

Ksantin oksidoredüktaz (XOR), hidrojen peroksit ve süperoksit oluşumuna eşlik eden hipoksantin ve ksantin ürik aside oksidasyonunu katalize eden bir enzimdir. Ksantin oksidoredüktazın, ksantin oksidaz (XO) ve ksantin dehidrojenaz (XDH) olmak üzere iki formu vardır. Proteoliz reaksiyonlarını takiben XDH, XO'ya dönüşür. Yapısal olarak XO, süt yağı küreciklerinin ana bileşeni olan bir metaloflavoproteindir. Sütte bu XO'nun mikrop öldürücü etkinliği ve LPx tarafından bir substrat olarak kullanılması gibi farklı görevleri vardır. Ancak süperoksit ve hidrojen peroksit oluşturma kabiliyetinden dolayı mikrop öldürücü etkinliği üzerinde pek durulmaz. (31)

Laktasyon dönemindeki koagülaz negatif stafilokok türleri ile enfekte mastitisli keçi sütünde XO, LPx ve katalaz aktiviteleri, sağlıklı süte göre sırasıyla 2,3; 5,3 ve 3,6 kat daha yüksek bulunmuş ve keçi sütünde NO döngüsünün gerçekleştiği büyük ölçüde doğrulanmıştır. (15)

Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD), pentoz fosfat metabolik yolunun ilk enzimidir. İnsanlarda, G6PD eksikliği olan bireylerin epitel hücrelerinde yetersiz reaktif oksijen türleri (ROS) eliminasyonu olduğu ve bu durumun hücrelerin *S. aureus* enfeksiyonuna ve apoptoza karşı sağlıklı hücrelere göre daha duyarlı olmasına neden olduğu bildirilmiştir. (54)

Akalın ve ark.,(55) subklinik mastitisli ineklerin süt hücrelerinde NADPH düzeyi ile G6PD aktivitelerinin hücre bazında önemli ölçüde azaldığını;

ayrıca SHS'nın NADPH ve G6PD ile pozitif korelasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Sütte enzim ve oksidatif stres parametreleri değerlendirilirken sütün ml'si yerine hücre sayısına göre değer verilmesinin daha uygun olduğu ve süt hücresi NADPH ve G6PD parametrelerinin mastitis belirteçleri olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mastitisin teşhisinde kullanılan oksidatif stres belirteçleri Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4: Mastitisin teşhisinde kullanılan oksidatif stres belirteçleri

Oksidatif stres belirteçleri	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
GSH-Px	Süt	İnek	Azalır/Artar
SOD	Süt	İnek, Keçi	Artar/Azalır/Değişmez
MDA	Kan /Süt	İnek, manda	Artar/Değişmez
PON-1	Kan/ Süt	İnek	Azalır/Artar
NO	Kan/Süt	İnek	Artar
LPx	Süt	Keçi	Artar
CAT	Süt	İnek, Keçi	Artar
XOR	Süt	Keçi	Artar
G6PD	Süt	İnek	Azalır
MPO	Kan/ Süt	İnek	Azalır,Değişmez/Artar

7. Mastitisin Teşhisinde Kullanılan Yangı Belirteçleri

Yangının akut evresinde karaciğerde sentezlenen birçok protein akut faz reaksiyonuna neden olur. Bu proteinlerin seviyesi akut faz reaksiyonu sırasında arttığı için akut faz proteinleri adı verilir.(3)

Meme bezi enfeksiyonu sırasında akut faz proteinleri (APP), laktoferrin (LF), katelisinler (CATH), sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere çok sayıda antibakteriyel ve bağışıklık savunma proteini sütte salınan yaygın belirteçlerdir.(12) Akut faz proteini konsantrasyonları, birçok farklı hastalıkta yükselir. Bu nedenle, nedeni tespit etmede çok zayıf teşhis özgülüğüne sahiptirler ve belirli bir hastalığın teşhisi için birincil test olarak kullanılamazlar. Öte yandan, hayvanın sağlığını bozan birçok durumu tespit etmede ve subklinik inflamasyon veya enfeksiyonları ortaya çıkarmada çok

yüksek duyarlılığa sahiptirler. Haptoglobin, serum amiloid A ve laktoferrin mastitisin teşhisinde en sık kullanılan akut faz proteinleridir. (65)

Serum amiloid A (SAA), yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili apolipoprotein ailesine aittir. Serum amiloid A'nın izoformları olan SAA1 ve SAA2, inflamasyon sırasında esas olarak karaciğerde eksprese edilirken, SAA3 meme bezi dahil olmak üzere birçok farklı dokuda eksprese edilir. (65) Süt serumu amiloid A (S-SAA) sağlıklı meme epitel hücreleri tarafından ekstrahepatik olarak üretilir. İnflamasyon sırasında S-SAA, özellikle süt ineklerinde subklinik mastitis belirteci olarak en çok araştırılan proteindir. (12) Serum amiloid A, enfekte meme dokusunun artan geçirgenliği nedeniyle kan-süt bariyerinden pasif olarak geçer. (67) Keçide mastitis belirteci olarak S-SAA'nın uygun olmadığı ve bu türde S-SAA seviyeleri, enfeksiyon olmasa bile laktasyon ilerledikçe SHS'de olduğu gibi fizyolojik olarak arttığı bildirilmiştir. (12)

Kovacevic-Filipovic ve ark.,(70) yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli ineklerin serum ve sütünde SAA konsantrasyonunun kontrol grubundaki ineklerden sırasıyla 3 ve 100 kat daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Gruplar arasında serum ve sütte SAA izoform modellerinde önemli farklılıklar olduğunu ve SAA izoformlarının süte oranla plazmaya daha az aktarıldığını bildirmişlerdir. Farklı patojenlerin neden olduğu subklinik mastitisli ineklerin sütlerinde SAA'nın ortalama konsantrasyonu, *E. coli*'nin neden olduğu mastitis vakalarında diğer patojenlerin neden olduğu mastitis vakalarından 10 kat daha yüksek bulunmuştur. (69)

Haptoglobin (Hp), hemoglobine bağlanarak bakterilerin büyümesi için gerekli olan hem maddesinin kullanılmasını engelleyen bir proteindir. Haptoglobin inflamatuvar yanıtların oluşumu ve şiddetli mastitis gibi hastalıklarda klinik olarak yararlı bir parametredir. Düzeyinin azalması enfeksiyonun baskılandığını gösterir. (65, 69) Sütte bulunan haptoglobinin kaynağı belirsizdir. Ancak S-SAA'ya benzer şekilde meme dokusunda da ekstrahepatik üretimle meydana gelebilir. Yine de endotoksin tehdidi, deneysel ve doğal meme içi enfeksiyon sonucu sütte Hp konsantrasyonunun arttığı gösterilmiştir. Haptoglobinin *Staphylococcus aureus* kaynaklı subklinik mastitisten sonra sütte ve ardından kanda sürekli olarak arttığı ve Hp'nin inflamasyondan 3 saat sonra sütte ortaya çıktığı, kanda ise 9 saat sonra yükseldiği bildirilmiştir. Bu durum meme bezi tarafından haptoglobin üretiminin hızlı ve spesifik olduğunu göstermektedir. (10,12) Klinik ve subklinik mastitisli ineklerde plazma Hp düzeyinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. (45,47) Klinik mastitisli ineklerin serum ve sütünde Hp konsantrasyonlarının, sağlıklı ve meme dışı

inflamatuvar durumları olan diğer ineklere göre daha yüksek olduğu, mastitisli ineklerin hem serum hem de sütteki en yüksek haptoglobulin konsantrasyonlarına sahip olduğu bildirilmiştir. (70) Farklı patojenlerin neden olduğu subklinik mastitisli ineklerden alınan sütlerde en yüksek Hp konsantrasyonları *E. coli*'nin neden olduğu mastitis vakalarında bulunurken, *Arcanobacterium pyogenes* ve koagülaz negatif stafilokokların neden olduğu mastitis vakalarında en düşük konsantrasyonlar belirlenmiştir. (69)

Laktoferrin (LF), memelilerin doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir immun savunma glikoproteinidir. Organizmayı çoğunlukla mukozal dokular yoluyla istila eden mikrobiyal ajanlara karşı koruyan ilk savunma sistemlerinden biridir. (65) Laktoferrin sağımın geç evresi, meme involüsyonu sırasında meme epitel hücreleri tarafından salgılanırken, enfeksiyon durumunda ise hem meme epitel hücrelerinden hem de nötrofillerden yangıya yanıt olarak fazla miktarda salgılanır. Laktoferrin bir APP olmasa da meme epitel hücreleri tarafından üretilmesi nedeniyle inflamatuvar yanıt sırasında belirgin şekilde artmaktadır. (12) Mastitisli düşük dirençli ineklerin sütünde, mastitissiz düşük dirençli ineklerin sütündekine benzer LF seviyeleri tespit edilmiştir. (10)

Katolisidin (CATH), süt nötrofilleri ile meme epitel hücreleri tarafından üretilen proinflamatuvar ve kemotaktik fonksiyonlara sahip bağışıklık savunmasında antimikrobiyal aktivite gösteren bir peptittir. Katelisidin ve katelisidin-1'in sırasıyla inek ve koyun sütlerinde, laktasyonun sonlarında da mastitisin teşhisinde yüksek bir performans gösterdiği bildirilmiştir. (12, 24, 71) Mastitis sırasında sütteki CATH seviyesi artmakta, yüksek CATH seviyeleri, pozitif bakteriyolojik sonuçlarla ve klinik mastitiste artan SHS ile ilişkilendirilmektedir. (72)

Sitokinler (IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF- α), inflamatuvar süreçler sırasında üretilen suda çözünen düzenleyici peptidlerdir. Sitokinler, inflamasyonun başlaması, ilerlemesi ve çözülmesi sırasında hem lokal hem de sistemik seviyelerde etki gösterir. Sitokinler, ateş, iştahsızlık veya kilo kaybı gibi karakteristik klinik değişikliklerin ortaya çıkmasını güçlendiren bir dizi olayı uyarır. Sebep olduğu en önemli metabolik değişikliklerden biri, akut faz proteinlerinin karaciğer tarafından güçlü bir şekilde artan sentezidir. (11, 65)

Normal memelerde çok sayıda sitokin saptanmıştır. Ancak, *Escherichia coli*'nin sebep olduğu meme içi enfeksiyonlarında IL-1'in sütteki konsantrasyonunun arttığı, IL-2'nin meme içi infüzyonu, IgG1, IgG2, IgA ve IgM üreten makrofajlar ve plazma hücrelerinin hakim olduğu SHS'de önemli

bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. (11) Sağlıklı memeden izole edilen hücrelere göre, IL-6 mRNA transkripsiyonunun, mastitisli ineklerden izole edilen hücrelerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sütte IL6'nın artışı, SHS artışından önce ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle sütteki IL-6 konsantrasyonunun ölçülmesi, subklinik mastitislerin teşhisi için gelecekte kullanılacak bir yöntem olarak görülmektedir. (75) Bochniarz ve ark.,(76) tarafından yapılan çalışmada, koagülaz negatif stafylokokların neden olduğu subklinik mastitisli ineklerdeki IL-6 seviyesinin, sağlıklı ineklerdeki seviyeye karşılaştırıldığında hem serumda hem de sütte artış eğiliminde olduğu görülmüştür. Buna karşılık, IL-4 konsantrasyonu, kontrol hayvanlarına kıyasla stafylokokal mastitisli ineklerin hem serumunda hem de sütünde önemli ölçüde daha düşük tespit edilmiştir. IL-10, immün yanıtın ve inflamatuvar aktivitenin temel bir inhibe edici faktörü olarak kabul edilmektedir. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi çeşitli bakteriyel patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda, IL-10'un sütteki konsantrasyonunda artış meydana geldiği bildirilmiştir. (75) Başka bir çalışmada ise, IL-10 seviyesi sağlıklı ineklerin sütünde enfekte ineklere göre önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. (74) Guan ve ark.,(59) yüksek SHS'ye sahip ineklerde doğum öncesi serum IL-10 düzeylerinin düşük SHS'li ineklere göre daha düşük olduğunu ve bunun da inflamasyon direncinin azalmasına ve doğum sonrası mastitis riskinin artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Doğal olarak meydana gelen *E. coli*'ye bağlı MİE'na sahip ineklerde de süt TNF- α konsantrasyonlarının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. (75)

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), meme epitel rejenerasyonunun düzenlenmesinde ve ayrıca doğuştan gelen bağışıklık tepkilerinin modülasyonunda önemli bir rol oynayan bir polipeptittir. Embriyonik organ gelişimi, meme morfogenezi, meme hücresi proliferasyonu ve meme gelişimi gibi biyolojik rolleri vardır. Vasküler endotelial büyüme faktörünün meme bezindeki çeşitli hücresel süreçlerde ve doku onarımındaki inflamatuvar olaylara bağlı olarak artan ekspresyonu ile subklinik mastitisli ineklerde önemli olabileceği bildirilmiştir. *S.aureus* enfeksiyonu sonucu meme bezinde VEGF düzeyinin artması, büyüme faktörlerinin meme bezi enfeksiyonlarında rol oynadığını düşündürmektedir. (77)

Gürler ve ark.,(77) subklinik mastitisli manda sütünde VEGF düzeylerinin sağlıklı süte göre arttığını ve subklinik mastitisi belirlemede yararlı bir araç olabileceğini bildirmişlerdir.

Mastitisin teşhisinde kullanılan yangı belirteçleri Tablo 5'da özetlenmiştir.

Tablo 5: Mastitisin teşhisinde kullanılan yangı belirteçleri

Yangı parametresi	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
Serum amiloid A	Kan/ Süt	İnek	Artar
Haptoglobin	Kan /Süt	İnek	Artar
Laktoferrin	Süt	İnek	Artar
Katolisidin	Süt	İnek, Koyun	Artar
Sitokinler	Süt	İnek	Artar/ Azalır
Vasküler endotelial büyüme faktörü	Süt	İnek, Manda	Artar

8. Mastitisin Teşhisinde Kullanılan Lipit Ve Lipoprotein Belirteçleri

İneklerin sağlık durumunu izlemek ve spesifik biyobelirteçler elde etmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, enerji dengesi ve dolayısıyla hastalık geliştirme riski, kandaki serbest yağ asitleri (SYA) ve beta-hidroksibutirik asit (BHBA) seviyeleri ile ölçülebilir. Doğum öncesi SYA düzeylerinin, doğumdan sonra mastitis riski ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. (10) Plazma yüksek SYA seviyesi, immüno-supresif etkileri yoluyla klinik mastitis insidansının artışına katkıda bulunabilmektedir. Stres, kortizol ve katekolaminlerin salınımını indükler ve bu da plazma SYA düzeylerinde önemli bir artışa neden olmaktadır. (76)

Mastitisli sütlerde yüksek SYA seviyelerinin olduğu ve bu artışın SYA'lerinin mastitis patojenleri üzerindeki antibakteriyel etkisi ile ilgili olduğu bildirilmiştir. (22)

Escherichia coli'nin neden olduğu akut klinik mastitisli süt ineklerinde kötü prognoz ve mortalite ile ilişkili tanısal özelliklerinin araştırıldığı çalışmada ölen hayvanlarda tedaviden sonraki 2. ve 3. günlerde önemli ölçüde artmış SYA konsantrasyonu tespit edilmiştir. Ancak toplam kolesterol konsantrasyonunda gruplar arasında önemli bir farklılık görülmemiştir. (79)

Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), sağlıklı ve inflamatuvar süreçler sırasında oksilipidlerin sentezinde kritik bir rol oynayan temel substratlardır. (78) Süt ve plazmada ölçülen yağ asitleri arasında PUFA (ArA, LA, EPA ve DHA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) (oleik asit) ve doymuş yağ asitleri (SFA) (palmitik ve stearik asitler) yer alır. Koliform mastitisli sığırlarda PUFA konsantrasyonlarının, sağlıklı hayvanlara göre daha yüksek olduğu ve yalnızca linoleik asit konsantrasyonlarındaki artışların sistemik olarak plazmaya

yansıdığı belirlenmiştir. Linoleik asitin, mastitisli ve sağlıklı ineklerde hem sütte hem de plazmada en fazla bulunan PUFA olduğu tespit edilmiştir. Koliform mastitis sırasında sütte artan oleik asit konsantrasyonları plazmaya sistemik olarak yansıdığı halde, doymuş yağ asitlerinde herhangi bir farklılık saptanmamıştır. (81)

Gangrenöz mastitisli keçilerde yapılan bir çalışmada, BHBA, SYA, trigliserit, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) düzeylerinde önemli bir artış gözlenirken, glikoz, kolesterol ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterolü (HDL-C) seviyelerinde sağlıklı keçilere kıyasla önemli bir azalma görülmüştür. (25) Şimşek ve Aksakal.,(61) ise yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli ineklerde trigliserit ve kolesterol düzeylerinde kontrol gruplarına göre fark belirleyememişlerdir. Pegolo ve ark.,(48) artan SHS'nin toplam kan kolesterolündeki azalmayla ilişkili olduğunu ve bunun akut faz tepkisi sırasında ters kolesterol transportunun azalmasıyla ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

İneklerde sütteki gliserofosfolipid içeriğinin mastitis sürecinde azaldığı; bu durumun, mastitis sırasında hücre zarının tahrip olması veya karboksilesteraz ve fosfolipaz tarafından hidrolizine bağlı olabileceği bildirilmiştir. (80)

Mastitisin teşhisinde kullanılan lipit ve lipoprotein belirteçleri Tablo 6'da özetlenmiştir.

Tablo 6: Mastitisin teşhisinde kullanılan lipit ve lipoprotein belirteçleri

Lipit ve Lipoprotein	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
SYA	Süt	İnek	Artar
PUFA	Süt	İnek	Artar
Kolesterol	Süt	İnek	Değişmez/Azalır
LDL-C	Kan	Keçi	Artar
HDL-C	Kan	Keçi, İnek	Azalır
Trigliserit	Kan	Keçi, İnek	Artar/Değişmez
Gliserofosfolipid	Süt	İnek	Azalır

9. Mastitisin Teşhisinde Kullanılan Hormon Belirteçleri

Süt üretim sistemi, diğer süt üreten faktörlerle birlikte önemli bir rol oynayan hem lokal hem de sistemik hormonları içerir.

İnsülin, Tiroid hormonu (T3) ve Büyüme hormonu (GH), laktasyondaki ineklerde endotoksemi durumunda enerji metabolizması ve bununla ilgili

olarak hormonların düzeyinde değişiklikler meydana gelir. Endotoksinlerce salınımı uyarılan sitokinler, hipofiz bezinden kortikotropik hormon (ACTH) sekresyonunu arttırmaları. Aynı zamanda sitokinler, pankreatik hormonların da salınımına yol açabilirler. TNF- α ve kortizol düzeyindeki yükseliş, insülin düzeyinde de geçici bir artışa yol açmaktadır. (3) Negatif enerji dengesi ile ilişkili metabolitler ve hormonlar ile mastitis riski arasındaki ilişkiyi inceleyen in vivo çalışmalar, bu parametrelerin erken laktasyonda mastitis belirteçleri olarak kullanılma potansiyeline işaret etmiştir, ancak sonuçlar çelişkili olduğundan daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.(4) Moyes ve ark.,(4) Klinik mastitisli ineklerde sağlıklı inekler ile karşılaştırıldığında plazma insülin düzeylerinde önemli bir değişiklik olmadığını ve klinik mastitis, subklinik mastitis ve sağlıklı inekler arasında da insülin, T3 ve GH düzeylerinde önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Prolaktin (PRL), çok çeşitli biyolojik süreçlerde yer alan bir hormondur ve geviş getiren hayvanlarda laktasyonun başlatılması ve sürdürülmesi için çok önemlidir.(83) Prolaktin, kan dolaşımından meme epitel hücreleri boyunca transsitoz yoluyla süte taşınır. Bu hücrelerde membran reseptörüne bağlandıktan sonra PRL; endozomlar, multivesiküler cisimler ve golgi aparatı boyunca taşınır ve ardından salgı kesecikleri yoluyla süte salınır. Meme bezi, sistemik etkilerden bağımsız, kendi kendini düzenleyen bir endokrin organ olarak işlev görebildiği için süt PRL konsantrasyonu genel olarak dolaşımdaki PRL seviyesinden daha düşüktür.(84) Prolaktin inhibisyonu, yüksek verimli ineklerde kuruya ayırmayı kolaylaştırabilir, ancak meme involüsyonunu geciktirir ve mastitis riskini artırır.(85)

Erken laktasyondaki süt düvelerinde *Staphylococcus non-aureus*'un neden olduğu MİE'da, enfekte sütte ortalama PRL konsantrasyonunun 100.43 ng/mL olduğu ve zamanla PRL konsantrasyonunda güçlü bir düşüş olduğu bildirilmiştir.(84)

Ghrelın hormonu, yeni keşfedilen memeli sütünde yer alan biyoaktif bir maddedir. Bu peptid hormonu süt ve kanda açillenmiş ve deaçile edilmiş ghrelın olmak üzere iki formda bulunur. Açillenmiş ghrelın'ın, büyüme hormonu salgılatıcı reseptör 1a (GHSRA-1a)'ya bağlanmak için gerekli olduğu düşünülmektedir. Deaçile edilmiş ghrelın, hücre proliferasyonu ve adipogenez üzerinde etkilidir ve aktif ghrelının metabolik etkisini engeller. Ayrıca, bu peptid yara iyileşmesinde ve inflamasyonun kontrol edilmesinde görev alır. (86)

Karatas ve ark.,(86) Holstein ırkı subklinik mastitisli ve sağlıklı ineklerde ghrelın ve orotik asidin serum ve sütteki seviyelerini araştırdıkları çalışmada,

subklinik mastitisli ineklerde serum ve sütteki açillenmiş ve deaçile edilmiş ghrelin ile orotik asit konsantrasyonlarının, sağlıklı ineklere göre önemli ölçüde yüksek olduğunu ve subklinik mastitis için bir gösterge olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Leptin, hipotalamusta beslenme davranışının düzenlenmesinde ve enerji homeostazında görevli bir hormondur ve başlıca salınım yeri adipoz dokulardır. (87, 88) Leptin çoğunlukla tüm beyaz adipoz dokularında, daha az da kahverengi yağda dokusu, kas, meme bezi, mide, hipofiz, plasenta, yumurtalık ve karaciğerde eksprese edilir. İnsan, fare ve ineklerde süt leptininin kaynağı epitel hücreleridir, ancak gebeliğin erken döneminde çoğunlukla meme adipositlerinde tespit edilmiştir. Leptin seviyelerinin, 10. gün sığır sütünde kolostrumdan %56 daha düşük olduğu ancak her ikisinde de yağ ile korelasyon halinde olduğu görülmüştür. (88) İneklerde deneysel olarak oluşturulan mastitislerde, leptin düzeyinde bir değişiklik görülmemiştir. O nedenle ineklerde mastitisin neden olduğu iştahsızlık ile leptin arasında bir bağlantı kurulamamıştır. (3)

İki farklı çiftlikte yetişen Holstein ırkı ineklerde geçiş dönemi serum leptin seviyeleri ile mastitis insidansı arasında herhangi bir ilişki belirlenmemiştir. İnsanlarda ve ratlarda artan bakteriyel inflamasyon ve tümör nekroz faktörün (TNF- α) serum leptin düzeylerini artırdığı gözlenirken, geniş getiren hayvanlarda leptinin bu yangı belirteçlerinden etkilenmediği söylenebilir. Sonuç olarak bu çalışmada geçiş dönemi sığırlarda serum leptin düzeylerinin doğum sayısı, mastitis oluşumu ve kortizol düzeylerinden bağımsız olarak değişiklik göstermediği bildirilmiştir. (87)

Glukokortikoidler, özellikle kortizol ve kortikosteron, inflamatuvar yanıtlar dâhil olmak üzere metabolik ve endokrin adaptasyonlar sırasında anahtar homeostatik düzenleyicilerdir. İmmün sistemi olumsuz etkileyen hormonlardan en önemlisi kortikosteroidlerdir. Ayrıca, kortizol vücudun ilk savunma hücreleri olan nötrofillerin oksidatif yıkımlama kapasitelerini olumsuz etkilemekte ve bu olaylar sonucu patojenlere karşı potansiyel direnci azaltmaktadır. (75) Süt ineklerinde kortizol ölçümünün, verim ve refahı olumsuz etkileyebilecek çevresel veya patofizyolojik koşulların bir biyobelirteci olarak kullanılıp kullanılmayacağı tartışmalı bir durumdur. (89, 90) Doğum öncesi dönemde artmış glukokortikoid sekresyonunun, erken laktasyonda mastitis ve diğer hastalıkların insidansındaki artışa katkıda bulunabileceği ve bağışıklık sisteminin baskılanması ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür. (91)

Sgorlon ve ark.,(89) sütteki kortizol değerlerinin Holstein ırkı ineklerde Simental ırkı ineklerden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu tespit etmişler ve

süt somatik hücre sayısı 400.000/ml'den yüksek olan hayvanlarda ortalama süt kortizol değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirilmişlerdir.

Hormon etkisi gösteren 1,25-hidroksivitamin D3'ün (1,25D3), sığırlarda mastitis gelişiminde rol oynayan yaygın bakteriyel patojenlere karşı monositlerinin bakterisidal kapasitesini arttırdığı yapılan invitro çalışmalarda ortaya koyulmuştur. *Streptococcus uberis* ile deneysel olarak enfekte olmuş meme bezlerinde bakteriyel büyümenin azalmasına ve 1,25D3 veya metaboliti 25D3 ile meme içi tedavi uygulanan süt ineklerinin meme bağışıklık hücrelerinde konakçı savunma genlerinin ekspresyonunun artmasına katkıda bulunabilmektedir. 1,25-hidroksivitamin D3'ün meme içine uygulanmasının mastitis ile ilişkili inflamatuvar süreci önlediği bildirilmiştir. (92) Ancak mastitisli sütlerde vitamin D düzeyini bildiren herhangi bir çalışmaya rastalanılmamıştır.

Mastitisin teşhisinde kullanılan hormon belirteçleri Tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 7: Mastitisin teşhisinde kullanılan hormon belirteçleri

Hormon	Ölçüldüğü numune	Tür	Mastitis sırasındaki seviyesi
Prolaktin	Süt	İnek	Azalar
Ghrelın	Kan/Süt	İnek	Artar
Leptin	Kan	İnek	Değişmez
Kortizol, insülin	Süt	İnek	Artar

Son zamanlarda mastitisin erken tespiti için yararlı olabilecek biyobelirteçlerden biri de mikroRNA'lardır.

MikroRNA'lar (miRNA'lar), kodlayıcı genin ifadesinin %60'a kadarını düzenleyen, kısa, kodlayıcı olmayan RNA'lardır. Bunların mastitis sırasında meme bezinin patojenlere verdiği tepkiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Holstein ineklerde yapılan çalışmada süt yağı globüllerinin miRNA'ların kaynağı olduğu ve dört miRNA'nın lipopolisakkarit tehdidinden sonra süt yağı globüllerinde farklı şekilde bol miktarda bulunduğu bildirilmiştir.(93) Lai ve ark., (94) ise, serumdaki miR-16 ekspresyonunun hemolizden etkilendiğini ve serumdaki miR-21 ekspresyon seviyelerinin mastitisli ineklerde sağlıklı ineklere göre önemli ölçüde arttığını; ancak mastitisli ineklerde miR-146a, miR-155, miR-222 ve miR-383'ün ekspresyon seviyelerin değişmediğini bildirmişlerdir.

3. Sonuç

Mastitisli hayvanlarda kanda ve sütte enzim, vitamin, mineral, lipit, lipoprotein, hormon, oksidatif stres ve yangı belirteçlerinde önemli değişiklikler görülmektedir. Bu parametrelerin rutin olarak sahada ve robotik sağım sistemlerinde kullanılması özellikle subklinik mastitislerin erken teşhisinde kolaylık sağlayacaktır. Ayrıca, mastitislerde kana göre sütte meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin daha fazla olduğu ve hastalığın teşhisi için süt numunelerinin daha uygun olduğu görülmüştür

Kaynaklar

1. Erişir M, Kandemir FM, Yüksel M. İneklerin sütündeki MDA, GSH düzeyleri ile GSH-Px, CAT aktiviteleri üzerine subklinik mastitisin etkisi. F Ü Sağ Bil Vet Derg. 2011;25(2): 67–70.
2. Pir Yağcı İ. Koyunlarda subklinik mastitis: etiyoloji, epidemiyoloji ve tanı yöntemleri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg.2008;14(1):117–122.
3. Baştan A. İneklerde meme sağlığı ve sorunları. 2.Baskı. Türkiye: Kardelen Ofset Matbaacılık Ltd. Şti; 2013.
4. Moyes KM, Larsen T, Friggens NC, Drackley JK, Ingvarstsen KL. Identification of potential markers in blood for the development of subclinical and clinical mastitis in dairy cattle at parturition and during early lactation. J Dairy Sci. 2009;92(11): 5419–5428.
5. Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A. Evcil hayvanlarda meme hastalıkları. Türkiye: Medipres Matbaacılık Ltd. Şti; 2016
6. Zaatout N (2021). An overview on mastitis-associated Escherichia coli: pathogenicity, host immunity and the use of alternative therapies. Microbiol Res. 2021; 256:126960.
7. Chakraborty S, Dhama K, Tiwari R, ve ark. Technological interventions and advances in the diagnosis of intramammary infections in animals with emphasis on bovine population—a review. Vet Q. 2019; 39(1):76-94.
8. Mirzaei A, Khorsand A, Hajibemani A. ve ark. Evaluation of leukocyte esterase test strips for rapid diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. Comp Clin Pathol. 2019; 28: 151–156.
9. Carvalho-Sombra TCF, Fernandes DD, Bezerra BMO, Nunes-Pinheiro DCS. Systemic inflammatory biomarkers and somatic cell count in dairy cows with subclinical mastitis. Vet Anim Sci. 2021; 11: 100165.

10. Van Altena SEC, De Klerk B, Hettinga KA, ve ark. A proteomics-based identification of putative biomarkers for disease in bovine milk. *Vet Immunol Immunopathol.* 2016; 174: 11–18.

11. Ezzat Alnakip M, Quintela-Baluja M, Böhme K, ve ark. The immunology of mammary gland of dairy ruminants between healthy and inflammatory conditions. *J Vet Med.* 2014; 2014: 1–31.

12. Giagu A, Penati M, Traini S, Dore S, Addis MF. Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review. *Vet Res Commun.* 2022; 46(2): 329–351.

13. Güleç A. Konya il merkezinde işlenen çiğ sütlerin mikrobiyolojik kalitesi ve somatik hücre sayılarındaki değişimin belirlenmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Türkiye: 2021.

14. Azzara CD, Dimick PS. Lipoprotein lipase activity of milk from cows with prolonged subclinical mastitis. *J Dairy Sci.* 1985; 68(12): 3171–3175

15. Caggiano N, Lorenzo Smirnoff A, Bottini JM, De Simone EA. Protease activity and protein profile in milk from healthy dairy cows and cows with different types of mastitis. *Int Dairy J.* 2019; 89: 1–5.

16. Silanikove N, Merin U, Shapiro F, Leitner G. Subclinical mastitis in goats is associated with upregulation of nitric oxide-derived oxidative stress that causes reduction of milk antioxidative properties and impairment of its quality. *J Dairy Sci.* 2014; 97(6): 3449–3455.

17. Bikker FJ, Koop G, Leusink NB. Tailor made plasmin substrates as potential diagnostic tool to test for mastitis. *Vet Res Commun.* 2014; 38: 271–277.

18. Guerrero A, Dallas DC, Contreras S. Peptidomic analysis of healthy and subclinically mastitic bovine milk. *Int Dairy J.* 2015; 46: 46–52.

19. Caggiano N, Lorenzo Smirnoff A, Bottini JM, De Simone EA. Protease activity and protein profile in milk from healthy dairy cows and cows with different types of mastitis. *Int Dairy J.* 2019; 89: 1–5.

20. Li H, Zheng H, Li L, Shen X, Zang W, Sun Y. The effects of matrix metalloproteinase-9 on dairy goat mastitis and cell survival of goat mammary epithelial cells. *PLoS one.* 2016; 11(8): 1–13.

21. Tiantong A, Eardmusic S, Arunvipas P, Lee JW, Inyawilert W. The influence of subclinical mastitis on the protein composition and protease activities of raw milk from lactating Thai-crossbred dairy cows. *Vet World.* 2023; 16(6): 1363.

22. Yang FL, Li XS, He BX. ve ark. Malondialdehyde level and some enzymatic activities in subclinical mastitis milk. *A J B.* 2011;10: 5534-5538.
23. Saleem HD, Razooqi MA, Gharban HAJ. Cumulative effect of subclinical mastitis on immunological and biochemical parameters in cow milk. *Arch. Razi Inst.* 2021; 76(6): 1629–1638.
24. Qayyum A, Khan JA, Hussain R, Avais M, Ahmad N, Khan MS. Investigation of milk and blood serum biochemical profile as an indicator of sub-clinical mastitis in Cholistani cattle. *Pak Vet J.* 2016; 36(3): 275-279.
25. Sadat A, Farag AMM, Elhanafi D, Awad A, Elmahallawy EK. Immunological and Oxidative Biomarkers in Bovine Serum from Healthy, Clinical, and Sub-Clinical Mastitis Caused by *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Infection. *Animals.* 2023;13(892):1-18.
26. El-Deeb WM. Clinicobiochemical investigations of gangrenous mastitis in does: Immunological responses and oxidative stress biomarkers. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2013; 14: 33–39.
27. Guha A, Gera S, Sharma A. Evaluation of milk trace elements, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activity of subclinical mastitis as and indicator of subclinical mastitis in riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Asian-australas J Anim Sci.* 2012; 25(3): 353-360.
28. Stuhr T, Aulrich K. Intramammary infections in dairy goats: recent knowledge and indicators for detection of subclinical mastitis. *Landbauforschung.* 2010; 60(4): 267-279.
29. Novac CŞ, Nadăş GC, Matei IA, ve ark. Milk Pathogens in Correlation with Inflammatory, Oxidative and Nitrosative Stress Markers in Goat Subclinical Mastitis. *Animals.* 2022; 12(23):3245.
30. Seligsohn D, Younan M, Larsen T, Morrell JM, Chenais E, Nyman AK. Detection of subclinical mastitis in camels (*Camelus dromedarius*) using somatic cell count, N-acetyl- β -D-glucosaminidase and lactate dehydrogenase activity. *Small Rumin. Res.* 2021;204: 106512.
31. Novac CS, Andrei S. The impact of mastitis on the biochemical parameters, oxidative and nitrosative stress markers in goat's milk: A review. *Pathogens.* 2020; 9(11):1-23.
32. Khatun M, Bruckmaier RM, Thomson PC, House J, García SC. Suitability of somatic cell count, electrical conductivity, and lactate dehydrogenase activity in foremilk before versus after alveolar milk ejection for mastitis detection. *J Dairy Sci.* 2019; 102: 9200–9212.

33. Gómez-Gascón L, Galán-Relaño A, Cardoso-Toset F, ve ark. Lactate dehydrogenase: Detecting high bacterial and somatic cells counts in goats from whole milk samples. *Small Rumin Res.* 2022; 208: 106632.

34. Strickland JM, Wisnieski L, Herdt TH, Sordillo LM. Serum retinol, β -carotene, and α -tocopherol as biomarkers for disease risk and milk production in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 2021; 104(1): 915-927.

35. Yang FL, Li XS. Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J Adv Vet Anim Res.* 2015; 2(1): 1–9.

36. Prom CM, Engstrom MA, Drackley JK. Effects of prepartum supplementation of β -carotene in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2022;105(5): 4116-4127.

37. Bouwstra RJ, Nielen M, Stegeman JA, ve ark. Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part I: Adverse effect on incidence of mastitis postpartum in a double-blind randomized field trial. *J Dairy Sci.* 2010; 93(12): 5684-5695.

38. Bouwstra RJ, Nielen M, Newbold JR, Jansen EHJM, Jelinek HF, Van Werven T. Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. Part II: Oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *J Dairy Sci.* 2010; 93(12): 5696–5706.

39. Peker Akalın P, Ergün Y, Başpınar N, ve ark. Subklinik mastitisli ineklerde süt ve süt hücrelerinde vitamin C düzeyleri. *Derg Etlik Vet Mikrobiyol.* 2016; 27(1): 21-26

40. Laliotis GP, Koutsouli P, Sotirakoglou K, Savoini G, Politis I. Association of oxidative stress biomarkers and clinical mastitis incidence in dairy cows during the periparturient period. *J Vet Res.* 2020; 64(3): 421-425.

41. Kurt S, Eski F, Mıs L, Ayvazoglu Demır P. *Staphylococcus aureus* ile doğal olarak enfekte olan klinik ve subklinik mastitisli ineklerin süt ve serumlarında oksidatif stres, bağışıklık sistemi ve mineral konsantrasyonlarının değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2021; 27: 755–762.

42. Singh M, Yadav P, Sharma A, Garg VK, Mittal D. Estimation of mineral and trace element profile in bubaline milk affected with subclinical mastitis. *Biol Trace Elem Res.* 2017; 176: 305–310.

43. Kandeel SA, Megahed AA, Constable PD. Evaluation of hand-held sodium, potassium, calcium, and electrical conductivity meters for diagnosing subclinical mastitis and intramammary infection in dairy cattle. *J Vet Intern Med.* 2019b; 33(5): 2343–2353.

44. Libera K, Konieczny K, Witkowska K, ve ark. The association between selected dietary minerals and mastitis in dairy cows-a review. *Animals*. 2021; 11(8): 1–11.
45. Hussain R, Javed MT, Khan A. Changes in some biochemical parameters and somatic cell counts in the milk of buffalo and cattle suffering from mastitis. *Pak Vet J*. 2012; 32(3): 418–421.
46. Tsukano K, Suzuki K. Serum iron concentration is a useful biomarker for assessing the level of inflammation that causes systemic symptoms in bovine acute mastitis similar to plasma haptoglobin. *J Vet Med Sci*. 2020; 82(10): 1440–1444.
47. Murakami Y, Tsukano K, Hirata H, Suzuki K. Evaluation of blood serum iron concentration as an alternative biomarker for inflammation in dairy cows. *Biol Trace Elem Res*. 2023; 1-8.
48. Pegolo S, Giannuzzi D, Piccioli-Cappelli F. Blood biochemical changes upon subclinical intramammary infection and inflammation in Holstein cattle. *J Dairy Sci*. 2023; 106(9): 6539-6550.
49. Blanco-Penedo I, Lundh T, Holtenius K, Fall N, Emanuelson U. The status of essential elements and associations with milk yield and the occurrence of mastitis in organic and conventional dairy herds. *Livest Sci*. 2014; 168: 120–127.
50. Paksoy N. Leptospirozisli sığırlarda bakır, çinko ve manganez düzeyleri. *Harran Üniv Vet Fak Derg*. 2015; 4(2): 53-56.
51. Büyükoğlu T, Aslan N (2018). Oxidative stress and effects of oxidative stress on the dairy cattle during transition period. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*. 2018; 9: 33-41.
52. Turk R, Piras C, Kovačić M, Samardžija M, ve ark. Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis. *J Proteom*. 2012; 75: 4412-4428.
53. Elifoğlu TB. Süt ineklerinde laktasyonun ilk 100 gününde şekillenen subklinik mastitislerde Somatik hücre ve toplam bakteri sayısı ile bazı antioksidan maddelerin araştırılması. Türkiye. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2020.
54. Nedić S, Vakanjac S, Samardžija M, Borozan S. Paraoxonase 1 in bovine milk and blood as marker of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Res Vet Sci*. 2019; 125: 323-332.
55. Akalin PP, Ergün Y, Başpınar N, ve ark. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione peroxidase, total glutathione and reduced nicotinamide

adenine dinucleotide phosphate in milk cells of subclinical mastitic cows. *Pol J Vet Sci.* 2019; 22: 271–278.

56. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. *MAKÜ Sağ Bil Enst Derg.* 2016; 4(1): 50-59.

57. Ozbey G, Cambay Z, Yılmaz S, ve ark. Identification of bacterial species in milk by MALDI-TOF and assessment of some oxidant-antioxidant parameters in blood and milk from cows with different health status of the udder. *Pol J Vet Sci.* 2022; 25(2): 269–277.

58. Darbaz İ, Salar S, Sayiner S, Baştan İ, Ergene O, Baştan A. Evaluation of milk glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in subclinical mastitis in Damascus goats. *Turkish J Vet Anim Sci.* 2019; 43(2): 259-263

59. Guan RW, Wang DM, Wang BB, Jiang LY, Liu JX. Prognostic potential of pre-partum blood biochemical and immune variables for postpartum mastitis risk in dairy cows. *BMC Vet Res.* 2020; 16(1): 1–11.

60. Tabakoğlu E. Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *Avkae Derg.* 2013; 3(1): 69–75.

61. Şimşek Halil, Aksakal M. Subklinik mastitisli ineklerde kan ve sütte lipid peroksidasyon ve bazı antioksidanlar üzerine E vitamininin etkisi. *Ankara Univ Vet Fak Derg.* 2005; 52(2): 71-76.

62. Ranjan R, Swarup D, Naresh R, Patra RC. Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. *Vet Res Commun.* 2005; 29: 27-34

63. Bademkiran S, Yokus B, Çakır Du, Durak Mh, Kurt D. Serum paraoxonase-1 activity in dairy cattle and its association with dystocia. *J Anim Vet Adv.* 2008; 10: 1184-1189

64. Kovačić M, Samardžija M, Đuričić D, ve ark. Paraoxonase-1 activity and lipid profile in dairy cows with subclinical and clinical mastitis. *J Appl Anim Res.* 2019; 47(1): 1–4.

65. Andrei S, Matei S, Ruginǎ D, Bogdan L, Stefǎnuț C (2016). Interrelationships between the content of oxidative markers, antioxidative status, and somatic cell count in cow's milk. *Czech J Anim Sci.* 2016; 61(9): 407–413.

66. Keskin, A. Bursa Bölgesindeki Süt Sığırı İşletmelerinde Mastitise Karşı Hipramastivac İle Aşılamanın Profilaktik Etkisi. (Doktora tezi) Türkiye: Bursa Uludag Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. 2005.

67. Mehrzad J, Dosogne H, Meyer E, Burvenich C. Local and systemic effects of endotoxin mastitis on the chemiluminescence of milk and blood neutrophils in dairy cows. *Vet Res.* 2001; 32(2): 131–144.

68. Tothova C, Nagy O, Kovac G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminants: A review. *Vet Med.* 2014; 59: 163–180.

69. Jaeger S, Virchow F, Torgerson PR, ve ark. Test characteristics of milk amyloid A ELISA, somatic cell count, and bacteriological culture for detection of intramammary pathogens that cause subclinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2017; 100: 7419–7426.

70. Kovacevic-Filipovic M, Ilić V, Vujčić Z, ve ark. Serum amyloid A isoforms in serum and milk from cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2012; 145(1-2): 120–128.

71. Pyörälä S, Hovinen M, Simojoki H, Fitzpatrick J, Eckersall PD, Orro T. Acute phase proteins in milk in naturally acquired bovine mastitis caused by different pathogens. *Vet Rec.* 2011; 168(20): 535-535.

72. Nielsen BH, Jacobsen S, Andersen PH, Niewold TA, Heegaard PMH. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Vet Rec.* 2004; 154: 361–365.

73. Katsafadou AI, Tsangaris GT, Vasileiou NGC, ve ark. O-146 Detection of cathelicidin-1 in the milk as an early indicator of mastitis in ewes. *Animal-science proceedings, 2023; 14(1): 165.*

74. Wollowski L, Heuwieser W, Kossatz A, ve ark. The value of the biomarkers cathelicidin, milk amyloid A, and haptoglobin to diagnose and classify clinical and subclinical mastitis. *J Dairy Sci., 2021; 104(2): 2106–2122.*

75. Yılmaz Ö, Rişvanlı A. İneklerde postpartum dönemdeki hastalıklarda sitokin düzeyleri. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.* 2021; 18(2): 116–121.

76. Bochniarz M, Zdzisińska B, Wawron W, Szczubiał M, Dąbrowski R. Milk and serum IL-4, IL-6, IL-10, and amyloid A concentrations in cows with subclinical mastitis caused by coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci.* 2017; 100(12): 9674-9680.

77. Gürler H, Yarım GF, Salar S, ve ark. Investigation of epidermal growth factor (EGF) levels in milk of anatolian buffaloes with subclinical mastitis. *Kocatepe Vet J.* 2019; 12(3): 254-257.

78. Holtenius K, Waller KP, Essén-Gustavsson B, Holtenius P, Sandgren CH. Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. *Vet J VET.* 2004;168(1): 65-73.

79. Hagiwara S, Mori K, Okada H, Oikawa S, Nagahata H. Acute *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle: Diagnostic parameters associated with poor prognosis. *J Vet Med Sci.* 2014; 76(11): 1431–1436.

80. Hunt KM, Williams JE, Shafii B, ve ark. Mastitis is associated with increased free fatty acids, somatic cell count, and interleukin-8 concentrations in human milk. *Breastfeed Med.* 2013; 8(1): 105-110.

81. Mavangira V, Gandy JC, Zhang C, Ryman VE, Jones AD, Sordillo LM. Polyunsaturated fatty acids influence differential biosynthesis of oxylipids and other lipid mediators during bovine coliform mastitis. *J Dairy Sci.* 2015; 98(9): 6202-6215

82. Hu H, Fang Z, Mu T, Wang Z, Ma Y, Ma Y. Application of metabolomics in diagnosis of cow mastitis: a review. *Front vet sci.* 2021; 8: 747519.

83. Lacasse P, Ollier S, Lollivier V, Boutinaud M. New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. *J Dairy Sci.* 2016; 99: 864–874.

84. Valckenier D, Piepers S, De Visscher A, Bruckmaier RM, De Vlieghe S. Effect of intramammary infection with non-aureus staphylococci in early lactation in dairy heifers on quarter somatic cell count and quarter milk yield during the first 4 months of lactation. *J Dairy Sci.* 2019; 102(7): 6442–6453.

85. Lacasse P, Zhao X, Vanacker N, Boutinaud M. Review: Inhibition of prolactin as a management tool in dairy husbandry. *Animal.* 2019; 13(S1): 35–41.

86. Karatas F, Aydin S, Kaygusuzoglu E, Yildiz H, Erulas FA, Ozkan Y. Ghrelin and orotic acid increased in subclinical mastitis. *Arch Physiol Biochem.* 2008;114(3): 178–182.

87. Soliman M, Ishioka K, Yoshida R, ve ark. Serum leptin levels during the periparturient period in cows. *J Vet Med Sci.* 2002; 64(11): 1053–1056.

88. Wylie ARG. Leptin in farm animals: where are we and where can we go? *Animal.* 2011; 5(2): 246–267.

89. Sgorlon S, Fanzago M, Guiatti D, Gabai G, Stradaoli G, Stefanon B. Factors affecting milk cortisol in mid lactating dairy cows. *BMC Vet Res.* 2015; 11(1): 1–8.

90. Gross JJ, Schwinn AC, Bruckmaier RM. Free and bound cortisol, corticosterone, and metabolic adaptations during the early inflammatory response to an intramammary lipopolysaccharide challenge in dairy cows. *Domest Anim Endocrinol.* 2021; 74: 106554.

91. Tucker HA. Symposium: Hormonal regulation of milk synthesis. Hormones, mammary growth, and lactation: A 41-year perspective. *J Dairy Sci.* 2000; 83(4): 874–884.

92. Wen G, Eder K, Ringseis R. 1,25-hydroxyvitamin D₃ decreases endoplasmic reticulum stress-induced inflammatory response in mammary epithelial cells. *PLoS one.* 2020;15(2): 1–18.

93. Leroux C, Pawlowski K, Billa PA, Pires JA, Faulconnier Y. Milk fat globules as a source of microRNAs for mastitis detection. *Livest Sci.* 2022; 263: 104997.
94. Lai YC, Habiby GH, Jasing Pathiranage CC, ve ark. Bovine serum miR-21 expression affected by mastitis. *Res Vet Sci.* 2021; 135(October 2020): 290–292.

BÖLÜM III

VİRAL BALIK HASTALIKLARINDA APOPTOZUN ÖNEMİ

The Importance of Apoptosis in Viral Fish Diseases

Altuğ KÜÇÜKGÜL¹ & Azime KÜÇÜKGÜL²

¹*Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,
Hatay, Türkiye*

E-mail: altugkucukgul@hotmail.com

ORCID: 0000-0003-4387-6814

²*Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği*

Bölümü, Tunceli, Türkiye

E-mail: akucukgul@munzur.edu.tr

ORCID: 0000-0002-0515-6667

1. Giriş

Yeryüzünün yaklaşık %70'i su alanlarından oluşmuş dolayısıyla farklı türde çok sayıda su canlısı içinde bir yaşam alanı sağlamıştır. İnsanlar bu canlılardan başta balıklar olmakla diğer canlı gruplarından da besin olarak faydalanmaktadır. Kültür koşulları altında yetiştirilen ve insan tüketimi için bu denli faydalı olan balıklar maalesef suda oluşabilecek herhangi bir olumsuzluk (su kirliliği, su parametrelerindeki ani değişimler, besinsel sorunlar, yoğun stoklama vb.) karşısında strese girdikleri zaman bu stresörün (stres yapıcı faktör) üstesinden gelmeye çalışmakta adapte olamadığında ise bitkin düşmektedir. Sonuçta immün sisteminin zayıflamasıyla hastalığa açık hale balıkların vücuduna giren patojenik bir mikroorganizmanın yerleşmesi, diğer doku ve organlara yayılması ile hastalık oluşmaktadır.

Her canlıda olduğu gibi balıklar içinde en önemli ölüm sebeplerinden birisi infeksiyöz hastalıklardır. Bilindiği gibi her bir hücre, doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis). Tüm bu olaylar zincirinin denge halinde olması (doku homeostazisi ile apoptozis/proliferasyon

dengesi) sağlığın devamı için şarttır (1). Son yıllarda, bu dengenin bozulmasıyla çoğu önemli hastalığın patogenezinde rol aldığı bildirilmiştir (2).

Birçok bakteri ve virüs patojeni içine girdiği konakta canlı kalabilmek ve konak savunasından kurtulmak için farklı stratejiler geliştirmiştir; bunlardan biri, enfekte hücrelerde apoptotik ölümü tetiklemektir (3). Apoptoz, dış ortamdan veya hücre içinden sinyallenebilen çok çeşitli uyaranlara yanıt olarak evrimsel olarak korunmuş ve genetik olarak kontrol edilen çok aşamalı bir hücre ölümü sürecidir (3). Programlanmış hücre ölümü, kaspazlar adı verilen spesifik sistein proteazların aktivasyonunun aracılık ettiği bir dizi morfolojik değişiklik yoluyla ilerler (4). Organizmada tehlike arz edecek hasarlanmış hücrelerin (enfekte hücreler, hasarlı DNA vb.) uzaklaştırılmasında rol oynayan apoptoz, gelişmede ve homeostazın sürdürülmesinde büyük öneme sahiptir (1,5,6).

Son yıllardaki araştırmalar, viral hastalıkların patogenezinde apoptotik hücre ölümünün büyük öneme sahip olduğunu göstermektedir. Viral enfeksiyonlarda, virüsler enfekte ettikleri hücrelerde kendi proteinlerini ve hatta kendi genomlarını konak hücrelere sentezleterek yeni generasyonlarını gerçekleştirirler ve bu yolla da enfeksiyon sürecinin devamlılığı sağlarlar. Organizmada, bir primitif antiviral mekanizma olan apoptotik hücre ölümü ile bu sürece karşı koymaya çalışır. Bazı virüsler, litikenfeksiyon sırasında yeni virüsün yayılması için önemli bir çıkış noktası olarak apoptozu indükleyebilir (7). Bu nedenle apoptozu kontrol eden biyokimyasal ve moleküler olayların anlaşılması, hastalıklarla mücadelede yeni yolların bulunmasına zemin hazırlayabilir.

Balıkların çevresel stres ve hücre ölümü arasındaki ilişkilerin incelenmesinde (8), balıkların göçü gibi farklı yaşam döngülerinde, üreme sisteminin gelişimi ve cinsiyetin farklılaşması sırasında (9) hatta embriyonik gelişim aşamasında (10) apoptozun rolü konulu çalışmalar sıkça araştırılmıştır. Bu derlemede ise viral balık hastalıklarında apoptozun rolü mevcut literatürler ışığında değerlendirilmiştir.

2. Balık Hastalıkları

Son yıllarda Türkiye’de kültür balıkçılığı hızlı bir gelişme göstermektedir. İstatistik rakamlarına göre, Türkiye’deki iç su alabalık üretimi, toplam balık üretiminin % 46’sını oluşturmaktadır. İç su alabalık üretiminin yaklaşık % 17’si ise, Doğu ve İç Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır (11).

Türkiye de gelişmekte olan su ürünleri sektörünü sınırlayan faktörlerin başında gelen hastalıklar; tatlı su ve deniz balıklarını, yabani, kültür ve spor balıklarını ve hatta süs balıklarını etkileyen küresel bir sorundur. Mikrobiyal hastalıklara karşı hassas olan balıklar özellikle yoğun kültür uygulamalarına tabi tutulduğunda hastalık olguları daha fazla görülmektedir. Bu durumda balıklar doğaları gereği sudaki olumsuzluktan yâda stres etkeni olabilecek her türlü unsurdan güçlü bir şekilde etkilenmektedir. Oksijen gerilimi, su sıcaklığı ve suyun tuzluluğu gibi çevresel faktörlerden kaynaklanan stres, balıkların mikrobiyal patojenlere karşı duyarlılığının artmasında önemlidir. Su ortamı da bu patojenlerin bulaşmasını kolaylaştırabilir. Ayrıca balığın filogenideki konumu nedeniyle patojenlere karşı koruma konusunda daha az gelişmiş bir bağışıklık sistemi vardır.

Balıklarda hastalık ancak konak savunmasını aşan patojenlerin kolonize olmasıyla oluşturmaktadır. İnfeksiyöz hastalık olarak tanımlanan mikroorganizmalardan ileri gelen hastalıklar bu nedenle ciddi reaksiyonlara sebep olabilmektedir. Özellikle bakteriyel ve viral etkenler, yetiştiricilik işletmeleri için çok önemli olup, ortaya çıkması durumunda ekonomik olarak tehdit edici boyutlarda zararlara sebep olabilmektedir.

2.1. Viral Balık Hastalıkları

Balıklarda az sayıda viral etken hastalık oluşturmaktadır. Ancak ortaya çıktığında da tedavi olanaklarının oldukça sınırlı olması ile ciddi sorunlara neden olmaktadır. Bu nedenle viral hastalıklar dünyada ve ülkemizde balık yetiştiricilik sistemleri için büyük risk taşımaktadır. Suda yaşayan hayvanlardaki viral çeşitlilik, viral konakçıların çeşitliliğinden ve virüslerin farklı popülasyonlarda hızlı ve türler arası bulaşmasından kaynaklanmaktadır.

Türkiye’de geniş bir dağılım gösteren bazı viral hastalıklara incelendiğinde; İnfeksiyöz pankreatik negrozis hastalığının etkeni olan virüs (IPNV) ilk kez Timur ve ark. (12) tarafından tanımlanmış, ileri tekniklerin gelişmesi ile Candan (13) tarafından RT-PCR ile IPNV’nin varlığı kanıtlanmıştır. Dünya çapında geniş bir yayılım gösteren bir diğer bulaşıcı viral hastalık Viral Hemorajik Septisemi olup levrek, alabalık, turna, kalkan vb. birçok balıktan tanımlanmıştır (14,15). %80-90 oranlarında yüksek mortalite ile seyreden hastalık Türkiye’de kültüre alınmış kalkan balığı yavrularından ve damızlıklardan izole edilmiştir (16). Bu hastalıkların hepsi ölümcül sistemik enfeksiyonlara neden olmakta ve genellikle yavru balıklarda hastalıklara sebep olmaktadır.

Patojenitesi güçlü etkenler arasında ilk sırayı alan virüsler, enfekte ettikleri hücrelerde kendi proteinlerini ve hatta kendi genomlarını konak hücrelere sentezleterek yeni generasyonlarını gerçekleştirip bu yolla enfeksiyon sürecinin devamlılığını sağlamaktadır. Enfeksiyon vücutta şekillendiği zaman konak hücre viral etkene karşı non-spesifik (deri, solunum, gastrointestinal sistem, fagositoz, interferon vb.) ve spesifik immünolojik savunma mekanizmaları (humoral ve hücresel yanıt) ile yanıt vermektedir. İnterferon, doğal öldürücü hücrelerin antiviral aktivitesini aktive edebilir veya hücrelerin ana veya erken viral mRNA moleküllerinin translasyonuna müdahale eden proteinleri sentezlemesini teşvik ederek virüs üretimini doğrudan inhibe edebilir (17). Konakçı hücrelerde yaşayan ve çoğalan patojenlere karşı fagositozun yeterli olmadığı durumlarda ise humoralimmünite tarafından fagosit sistemi aktive eden lenfokinler aracılığı ile T lenfositler sitotoksik T-lenfositleri üretilerek yüzeylerinde “viral” antijeni eksprese eden hedef hücrelere bağlanır ve spesifik olarak virüsü öldürür (18). Apoptoz (programlanmış hücre ölümü) olarak bilinen bu durum immün sistemin önemli bir komponenti olan sitotoksik T lenfositler tarafından salgılanan proteolitik enzim ile apoptozun başlatılması ve enfekte hücrenin ortamdan uzaklaştırılması esasına dayanır.

3. Apoptoz

Her hücre çevresiyle uyum içinde kalarak canlılığını sürdürmekte, uyumsuzluk durumunda ise ölmektedir. Yaşamı süresince bir organizmada gerçekleşen çeşitli patolojik ve fizyolojik uyarılar hücre ölümüne sebep olmaktadır. Mekanik yaralanmalar, çevresel faktörler, patojenik mikroorganizmalar, toksik maddeler gibi dışsal uyarılar kadar hormonlar gibi içsel uyarılarda hücre ölümlerinin nedenlerini oluşturabilmektedir (19,20).

Organizmada enfekte/zarar görmüş yada kontrolsüz çoğalmış hücrelerin kendi kendine yok edilmesi olarak bilinen apoptoz (programlanmış hücre ölümü) terimi Kerr ve ark. (21) tarafından ilk kez kullanılmıştır. Bir canlının embriyonik dönemden bu yana organ oluşumu, gelişim boyunca gösterdiği hücre ölümleri ile gerçekleşmektedir yani canlıda hemostatik bir meknizmanın sağlanması fizyolojik olarak gözlenen bir olgu olup apoptoz fizyolojik hücre ölümü (22) olarak tanımlanmaktadır. Bunun yanında hastalık olgularında, hasarlı yada zarar görmüş hücrelerin ortadan kaldırılmasında immün reaksiyonlarda koruyucu bir rol oynamaktadır (5,6).

Spesifik yolların aktivasyonu ile meydana gelen apoptoz sürecinde son aşama kaspaz enzimlerinin aktivasyonu ile hücre ölümünün gerçekleşmesidir.

Ölen hücre ilk olarak nükleer ve stoplazmik yoğunlaşma gösterir ve apoptotik cisimler olarak bilinen hücresel bileşenleri içeren küçük zarla kaplı parçacıkların salınmasına neden olur. Bu apoptotik cisimcikler, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi aktif fagositler ve çevrelerindeki hücreler tarafından ortadan kaldırılır (23,24).

İki ana moleküler yol kaspaz aktivasyonuna ve dolayısıyla dışsal ve içsel yol olarak adlandırılan apoptoza yol açar. Hücre dışı sinyaller tarafından indüklenen apoptoz mekanizması, FAS legandlı molekülün membranda bulunan kendine özgü reseptöre bağlanmasıyla başlar ve kaspas-8 aktive edilir. Aktif kaspaz-8 de, kaspaz-3 ve -7 gibi sonlandırıcı kaspazları aktifleştirir. Aktifleşen bu kaspazlar da hücresel substratları yıkararak, apoptotik hücrede görülen morfolojik ve biyokimyasal değişimleri meydana getirirler. Diğeri ise DNA hasarı, oksidatif stres vb. bir dizi stresli duruma yanıt olarak etkinleştirilen içsel yoldur. İçsel uyarı mitokondriyal dış membran geçirgenliğini (MOMP) düzenleyen B hücreli lenfoma (Bcl2) ailesi üyeleri tarafından kontrol edilip apoptoza yol açan ve engelleyen proteinlerin miktar yâda birbirlerine karşı olan oranlarında gerçekleşen değişime bağlı olarak mitokondriyal membran geçirgenliği değişir ve bu sayede sitokrom c mitokondriden salınır. Salınan sitokrom c, apoptozom adı verilen ve sonrasında kaspaz-9'u aktive edecek olan yapıyı oluşturur. Aktif kaspaz-9, kaspaz-8'i aktifleştirir ve bu sayede birbirini aktifleştirerek apoptoza sebep olan yolak etkinleştirilmiş olur. Bu sayede hücre programlı olarak ortadan kaldırılır (25).

Apoptozun düzenlenmesinde Bcl-2 ailesi, p53, kaspazlar, , sitokrom-c gibi proteinler ve mitokondriyonlar görev almaktadır.

3.1. Bcl-2/Bax Ailesi

Anti- ve proapoptotik moleküller içeren Bcl-2 protein ailesi, ortak bir ölüm yolu içerisinde kritik, hücre içi bir karar noktası oluşturur (26). Antagonistik moleküllerin (Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1 ve A1) agonistik moleküllere (Bax, Bak, Bcl-XS ve Bad) oranı, bir hücrenin proksimal apoptotik uyarıya nasıl yanıt vereceğini belirler. Bu gen ailesi çekirdek zarı ve mitokondri aynı zamanda endoplazmik retikulum zarında da bulunur ve kompleks oluşturarak çalışıp apoptozin hibisyonunu sağladığı bilinir (27).

3.2. p53

TNF reseptör ailesinin en iyi bilinen üyesi olup immün sistemde hücre ölümünü kontrol eden Fas hücre reseptörü, doğal öldürücü hücreler ve

sitotoksik T hücreleri üzerinde yer almaktadır. Molekül ağırlığı 43 kDa olup kendi reseptörüne bağlanarak aktivasyon sağlanır ve FADD reseptör molekülü ile birleşir. Sonuçta prokaspazlar aktive olur ve apoptoz başlar (28).

3.3. Kaspazlar

Apoptotik oluşumda en büyük paya sahip moleküller kaspazlardır. Sistein proteaz olan kaspazla rapoptozun ilk aşamasından son aşamasına dek her kademede rol almaktadır. Aynı zamanda hücrel substratların yıkımından sorumlu olup morfolojik değişikliklere sebep olurlar (29).

Günümüze dek sitozolde 14 farklı kaspaz tanımlanmış bunlardan 11'inin insanlarda bulunduğu 7 tanesinin ise apoptozda görev aldığı bildirilmiştir. Apoptozu başlatan kaspazlar (kaspaz-2, -8, -9 ve -10) ve sonlandıran kaspazlar (kaspaz-3, -6 ve -7), ayrıca sitokin üretimine katkıda bulunan inflamasyondan sorumlu kaspazlar (kaspaz-1 (ICE), kaspaz-4 ve -5) bulunmaktadır (30,31)

Kaspazlar katalitik olarak hücrelerde inaktifzimojenler veya prokaspazlar olarak sentezlenmekte apoptoz esnasında proteolitik kesimlerle aktif kaspazlara dönüşmektedir.

4. Viral Balık Hastalıklarında Apoptoz

Viral enfeksiyon sırasında hücre ölümünün düzenlenmesi, virüs ve konakçının hayatta kalması dengesinde önemli bir faktördür. Balıkların konak savunma mekanizmalarından olan apoptoz, enfekte yâda hasar görmüş hücrenin apoptotik yol ile ölümünün gerçekleştirilerek ortadan kaldırılması esasına dayanmaktadır. Embriyogenez, yaşlanma, tümoral oluşumlarda gerileme esnasında gözlenen normal doku döngüsünde yer alan fizyolojik bir süreç olarak bilinen apoptozu, viral enfeksiyonlar gibi patolojik uyarılar da tetikleyici faktör olabilir (32,33).

Virüs ile enfekte hücrelerde gözlenen apoptozun viral replikasyon üzerinde enfekte hücreyi ortadan kaldırması pozitif; yeni nesil virüsleri bırakma ve yayma yolu için apoptozu kullanması negatif etki olarak bilinmektedir (34). Viral enfeksiyon sırasında mitokondri aracılı içsel (kaspaz-9'un aktivasyonu) ya da Fas ve TNF- α gibi ölüm reseptörleri aracılı dışsal uyarımlar (kaspaz-8'in aktivasyonu) ile inaktifkaspazların aktive edilmesiyle apoptoz uyarılır (35-37) ve enfekte olmuş hücrelerde apoptozun indüklenerek eliminasyonu sağlanır. Virüs tarafından ölüm reseptörü aracılı apoptozun düzenlenmesi, esas olarak enfekte bireylerin hücre yüzeyindeki ölüm reseptörlerinin veya bunların ligandlarının

düzenlenmesi ve hücrelerin ölüm reseptörü aracılı apoptoza duyarlılığının artması yoluyla gerçekleşir. Sonuç itibariyle, virüs çoğalmak için üreme hızını arttırma yâda anti-apoptotik genler vasıtasıyla apoptozu geciktirme vb. yollar kullanarak konak savunmasından kurtulmaya çalışır (39,39).

Virüsler, hücre ölüm yolunu inhibe ederek veya apoptozun başlangıcından önce replikasyonu tamamlayarak konakçı apoptozundan kaçmak için bir dizi strateji benimseyebilir. Zou ve ark. (40), virüsün apoptoz ile etkileşimini değerlendirmiş, Ksanvakal ve ark (41) ise konak-virüs etkileşimlerinde içsel veya Bcl-2 aracılı apoptozun rolünü araştırmışlar, virüsün enfekte ettiği hücrenin kendi bcl-2 üretimini indüklediğini göstermişlerdir. Bir diğer çalışmada, bir DNA virüsü Epstein-Barr virüsünün bir apoptoz inhibitörü olan bcl-2'ye benzer moleküller üreterek apoptoz sinyalini bozduğu bildirilmiştir (42). Bu nedenle son zamanlarda araştırmacılar viral hastalıkların tedavisinde anti-apoptotik yolların ortadan kaldırılmasını kapsayan çalışmalar yürütmektedir.

Memelilerde viral enfeksiyon sonucu konağın verdiği yanıt apoptoz yoluyla enfekte hücrelerin temizlenmesidir. Benzer yanıt balıklarında virüsün patogeneziinde apoptozun önemli bir yeri olduğu yönündedir (43). Yapılan bir çalışmada, Miest ve ark. (44) Cyprinid herpes virüsü 3 (CyHV-3) ile enfekte olmuş sazanların pronefroz, dalak ve solungaçlarında apoptozla ilişkili proteinleri (p53, Kaspaz 9, Apaf-1, IAP, iNOS) kodlayan genlerin ekspresyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar enfeksiyonun 14. gününde CyHV-3 enfeksiyonu sırasında içsel yolun pro-apoptotik proteinlerini (Apaf-1, p53 ve Kaspaz 9) kodlayan genlerin ekspresyonundaki artışa bağlı pronefroz meydana geldiğini, diğer organlarda ise sadece Apaf-1 ekspresyonunun arttığını raporlamışlardır. Elde ettikleri sonuçlar göstermiştir ki genetik apoptoz yolunun indüksiyonu yalnızca pronefrozda görülmüştür. Benzer bir çalışmada yine apoptozun enfeksiyonun son günlerinde gözlemlendiği rapor edilmiştir (45). Bu sonuçlardan CyHV-3 ile enfekte sazanlarda replikasyonun; solungaç, dalak ve pronefrozda proapoptotik gen ekspresyonunu ilk günlerde uyarılmadığı ve anti-apoptotik yanıtın baskılandığı anlaşılabilir. Santi ve ark. (46), alabalıklarda hastalık yapan infeksiyöz pankreatik nekrozis virüsünün (IPNV) VP5 olarak adlandırılan küçük, yapısal olmayan bir proteini kodladığını belirlemişlerdir. Imatoh ve ark. (47) VP5'in apoptozdaki rolünü rekombinant IPNV suşları kullanılarak hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak değerlendirmişler enfekte hücre kültürlerinde hepatik, bağırsak ve pankreas dokularında apoptoz belirteçleri bulunduğunu ve balıklarda apoptozu indüklediğini rapor etmişlerdir.

5. Sonuç

Balık hastalıkları içinde önemli paya sahip olan viral hastalıklarda; etken etiyojisi, etken ve konak ilişkileri, savunma mekanizmaları vb. araştırılması balıkçılık endüstrisine önemli katkılar sağlayacaktır.

Apoptoz normal doku döngüsünün fizyolojik bir sürecidir. Bunun yanında balıklarda patojeniteleri güçlü etkenlerde (özellikle ölümlerin çoğundan sorumlu olan viral etkenler) apoptozun indüklenmesinde önemli rol oynamaktadır. Her bir virüs belirli bir hücreyi enfekte etmektedir. Enfekte hücrede yeni nesil viryonu kopyalayarak yayılmaktadır. Virüsler kendileri için verimli olan proteinleri kodlayarak savunma mekanizması sağlarlar. Ancak hedef organizma, bağışıklık, inflamatuvar süreç ve enfekte hücrelerin ölümü viral enfeksiyonun boyutunu sınırlamaktadır. Daha önceki literatürler göstermiştir ki; bazı virüslerin (CyHV-3, SVCV gibi) antiviral proapoptotik tepkiyi ortadan kaldıracak mekanizmalar geliştirmesi diğer bir ifade ile konakçı hücre ile virüs arasındaki savaşta hücrenin, viral replikasyonu sınırlamak amacıyla apoptozun indüksiyonu yoluyla yanıt vermesi hastalıkla ilişkili patolojileri açıklanması açısından önem teşkil etmektedir.

Kaynaklar

1. Erdoğan BB (2003): Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4: 165-174.
2. Kerr J F R; Winterford C M; Harmon B V (1994). Apoptosis; its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer*, 73 (8): 2013-2026.
3. Rojas V; Galanti N; Bols NC; Jiménez V; Paredes R; Marshall SH (2010). *Piscirickettsia salmonis* induces apoptosis in macrophages and monocyte-like cells from rainbow trout. *Journal of Cellular Biochemistry*, 110(2): 468-476.
4. Fan TJ; Han LH; Cong RS; Liang J (2005). Caspase family proteases and apoptosis. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 37: 719-727.
5. Vaux DL; Flavell RA (2000). Apoptosis genes and autoimmunity. *Current Opinion in Immunology* , 12:719-724.
6. Roshal M; Zhu Y; Planelles V (2001). Apoptosis in AIDS. *Apoptosis*, 6: 103-116.
7. Guo Y; Shen C; Cheng A; Wang M.; Zhang N; Chen S; Zhou Y; (2009). Anatid 520 herpesvirus 1 CH virulent strain induces syncytium and apoptosis in duck embryo 521 fibroblast cultures. *Veterinary Microbiology*, 138: 258-265.

8. Takahashi K; Okamoto N; Kumagai A; Maita M; Ikeda Y; Rohovec JS (1982). Epizootics of erythrocytic inclusion body syndrome in coho salmon cultured in seawater in Japan. *Journal of Aquatic Animal Health*, 4: 174-181.

9. Santos Y; Pazos F; Barja JL (1999). *Flexibacter maritimus*, causal agent of flexibacteriosis in marine fish. G Oliver (Ed.), ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish, International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen, Denmark: 1–6.

10. Cole LK; Ross LS (2001). Apoptosis in the developing zebrafish embryo. *Dev. Biol.*, 240:123-142.

11. Anonim 2011. Su Ürünleri İstatistikleri Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı. (Erişim tarihi: 20.12.2016).

12. Timur G; Timur M; Kubiay A et al (1993). Bazı Alabalık İşletmelerinde Görülen Pankreatik Nekrozis Hastalığı Üzerine Histopatolojik ve Elektron Mikroskopik Çalışmalar. Doğu Anadolu Bölgesi I. Su Ürünleri Sempozyumu. Erzurum.

13. Candan A. (2002). First report on the diagnosis of infectious pancreatic necrosis (ipn) based on reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 22(1): 45-48.

14. Jensen NJ; Bloch B; Larsen JL (1979). The ulcussyndrome in cod (*Gadus morhua*). A preliminary virological report. *Nordisk Veterinaermedicin*, 31: 436-442.

15. Winton JR; Batts WN; Nishizawa T; Stehr CM (1989). Characterization of the first North America isolates of viral haemorrhagic septicaemia virus. *Fish Health Newsletter*, 17 (2).

16. Kalayci G; Incoglu S; Ozkan B (2006). First isolation of Viral haemorrhagic septicaemia (VHS) virüs from turbot (*Scophthalmus maximus*) cultured in the Trabzon coastal area of the Black Sea in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 26: 157-161.

17. Joklik N K (1985). Interferons. See Ref. 34, s. 291-307

18. Sissons J G P; Oldstone MBA (1985). Host response to viral infections. See Ref. 34: 265-79.

19. Wendelaar Bonga SE; Van Der Meij JCA. (1989). Degeneration and death, by apoptosis and necrosis, of the pavement and chloride cells in the gills of the teleost *Oreochromis mossambicus*. *Cell Tissue Res*. 255: 235–243.

20. Cohen JJ. (1993). Apoptosis. *Immunol Today*, 14: 126-130.

21. Kerr J.F.R; Wyllie AH; Currie AR (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics., *Br. J. Cancer*, 26: 239–257.

22. Bellamy COC; Malcomson RDG; Harrison DJ; Wyllie AH (1995). Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis. *Semin Cancer Biol*, 6: 3-16.

23. Marek CJ; Erwig LP (2009) Clearance of apoptotic cells - mechanisms and consequences In: Yin XM, Dong Z, eds. *Essentials of Apoptosis*, s. 261–282, New Jersey: Humana Press.

24. Wickman G; Julian L; Olson MF (2012). How apoptotic cells aid in the removal of their own cold dead bodies. *Cell Death Differ*. 19:735-742.

25. Gordy C; He YW (2012). The crosstalk between autophagy and apoptosis: Where does this lead? *Protein and Cell*, 3(1): 17-27.

26. Oltvai ZN, Milliman CL and Korsmeyer SJ (1993) Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 609 – 619.

27. Bender LM; Morgan MJ; Thomas LR; Liu ZG; Thorburn A (2005). The adaptor protein TRADD activates distinct mechanisms of apoptosis from the nucleus and the cytoplasm. *Cell Death Differ*, 12: 473-481.

28. Curtin JF; Cotter TG (2003). Live and let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cellular signalling*, 15(11): 983-992.

29. Slee EA; Adrain C; Martin SJ (2001). Executioner caspases-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis, *The Journal of Biological Chemistry*, 276 (10): 7320-7326.

30. Cohen 1993;

31. Riedl SJ; Scott FL (2009). *Caspases: Activation, Regulation, and Function*, Yin XM; Dong Z *Essentials of Apoptosis: A Guide for Basic and Clinical Research*, Humana Press, USA, s. 3-24.

32. Rojko JL; Fulton R M; Renanza L J; Williams L L; Copelan E; Cheney C M; Reichel GS; Neil JC; Mathes LE Fisher T G; Lloyd M W (1992). Lymphocytotoxic strains of feline leukemia virus induce apoptosis in feline T4-thymic lymphoma cells. *Lab. Invest*. 66: 418-426.

33. Vasconcelos AC; Lam K (1994). Apoptosis induced by infectious bursal disease virus. *J. Gen. Virol*. 75: 1803–1806.

34. Galluzzi L; Brenner C; Morselli E; Touat Z; Kroemer G (2008). Viral control of mitochondrial apoptosis. *PLoS Pathog.*, 4: e1000018.

35. Ashkenazi A; Dixit V M (1998). Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281: 1305-1308.
36. Roulston A; Marcellus RC; Branton PE (1999). Viruses and apoptosis. *Annu Rev of Microbiol*, 53: 577-628.
37. Reed J C (2000). Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*, 157: 1415-1430.
38. O'Brien V (1998). Viruses and apoptosis. *J. Gen. Virol.* 79: 1833-1845.
39. Everett H; McFadden G (1999). Apoptosis: an innate immune response to virus infection. *Trends Microbiol*, 7: 160-165.
40. Zho X; Jiang W; Liu Z; Liu S; Liang X (2017). Virus infection and death receptor-mediated apoptosis. *Viruses*, 9: 316.
41. Kvensakul M; Caria S; Hinds MG (2017). The Bcl-2 family in host-virus interactions. *Viruses*, 9: 290.
42. Fitzsimmons L; Kelly GL (2017). EBV and apoptosis: The viral master regulator of cell fate? *Viruses*, 9: 339.
43. Leu JH; Lin SJ; Huang JY; Chen TC; Lo CF (2013). A model for apoptotic interaction between white spot syndrome virus and shrimp. *Fish Shellfish Immunol.* 34: 1011-1017.
44. Miest JJ; Adamek M; Pionnier NPM; Harris S; Matras M; Rakus KL; Irnazarow I; Steinhagen D (2015). Differential effects of alloherpesvirus CyHV-3 and rhabdovirus SVCV on apoptosis in fish cells. *Veterinary Microbiology* 176: 19-31.
45. Rakus KL; Irnazarow I; Adamek M; Palmeira L; Kawana Y; Hirono I; Kondo H; Matras M; Steinhagen D; Flasz B; Brogden G; Vanderplassen A; Aoki T (2012). Gene expression analysis of common carp (*Cyprinus carpio* L.) lines during Cyprinid herpesvirus 3 infection yields insights into differential immune responses. *Dev. Comp. Immunol.* 37: 65-76.
46. Santi N; Sandtrø A; Sindre E; Haichen Song H; Honge JR; Thub B; Wuf JL; Vakhariad VN; Evensen Ø (2005). Infectious pancreatic necrosis virus induces apoptosis in vitro and in vivo independent of VP5 expression. *Virology* 342: 13-25.
47. Imatoh M; Hirayama T; Oshima S. (2005). Frequent occurrence of apoptosis is not associated with pathogenic infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) during persistent infection. *Fish and Shellfish Immunology*, 18: 163-177.

BÖLÜM IV

FERMENTE SÜT ÜRÜNLERİ

Fermented Dairy Products

Şeyma Nur ERCAN¹ & Şinasi AŞKAR²

¹*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi,*

Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çankırı, Türkiye

E-mail: seymanurd06@gmail.com

ORCID: 0000-0002-1533-4973

²*Çankırı Karatekin Üniversitesi Eldivan Sağlık Hizmetleri*

Meslek Yüksekokulu Çankırı, Türkiye

E-mail: sinasia@gmail.com

ORCID: 0000-0002-7836-3798

1. Giriş

Memeli hayvanlar ve insanlar yavrularının büyümesi için süt salgırlar. İnsanlar memeli hayvanların kendi yavruları için ürettikleri sütü çok eski zamanlar beri kullanmaktadırlar. İnek, koyun, keçi, manda, deve gibi hayvanlarından sütünden yararlanılmaktadır (1). Süt ürünleri genel olarak dengeli ve besleyici besinler olarak kabul edilir ve sıklıkla sağlıklı bir beslenmenin önemli bileşenleri olarak dahil edilir (2). Sütün bileşimi hayvanın cinsine, genetik yapısına, mevsime ve beslenme şekline göre değişiklik göstermektedir (Tablo 1). Süt ortalama %87.3'ü su, %3.5'i yağ, %3.4'ü protein, %0.7'si kül ve %5'i de karbohidrattır (1).

Tablo 1. Keçi, koyun, inek ve insan sütünün ortalama bileşimi (2)

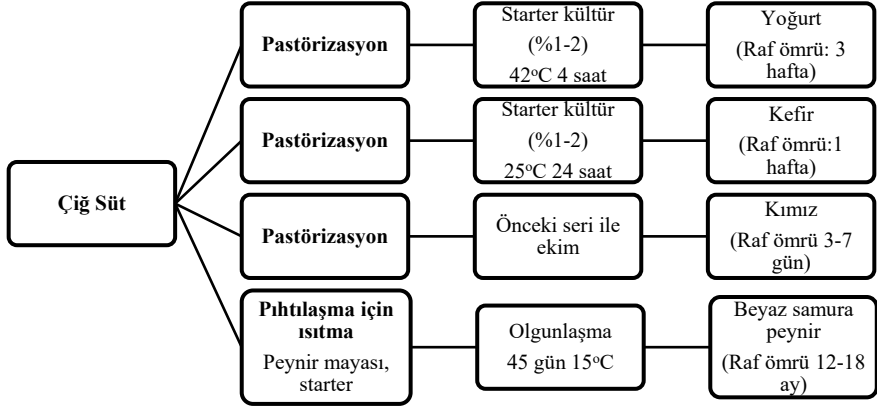
	Keçi	Koyun	İnek	İnsan
Enerji (kcal/100 mL)	70	105	69	68
Yağ (%)	3.8	7.9	3.6	4.0
Laktoz (%)	4.1	4.9	4.7	6.9
Protein (%)	3.4	6.2	3.2	1.2
Kalsiyum (mg/100 g)	134	193	122	33
Fosfor (mg/100 g)	121	158	119	43
A Vitamini (IU)	185	146	126	190
D Vitamini (IU)	2.3	0.18 (µg)	2.0	1.4

Sütün bileşimindeki birçok maddenin sağlık üzerine olumlu etkileri vardır:

- Bütirik asit ve Sfingolipidler: Kolon kanseri riskini azaltma
- Konjuge linoleik asit: Bağışıklık sistemini düzenleme
- Stearik asit: Kalp hastalığı riskini azaltma
- Laktoz: Kalsiyumun emilimini kolaylaştırır
- Kalsiyum: Kemik erimesini önler (3)

2. Sütün Fermantasyonu

Fermantasyon, dünyadaki en eski besin hazırlama yöntemlerinden biri olup besinleri korumak için mikroorganizmalardan yararlanılmaktadır. Fermantasyon sırasında mikroorganizmalar, fermente olabilen karbohidratları organik asit, karbondioksit ve alkol gibi ürünlere parçalarlar (4). Fermantasyon besinlerin, özellikle de çabuk bozulabilen besinlerin raf ömrünü uzatır ve gıdanın organoleptik özelliklerini, proteinlerin ve karbohidratların sindirilebilirliğini, vitamin ve minerallerin biyoyararlanımını artırır . En eski kayıtlar, insanların 2000 yıl öncesine kadar ‘ekşi süt’ aldığını gösteriyor. Fermente süt ürünlerinin insanlar üzerindeki faydalı sağlık etkisi, probiyotik kavramı üzerine yaptığı çalışmalarla Nobel ödüllü Elie Metchnikoff tarafından popüler hale getirildi (5). Sütün fermentasyonundaki başlıca rol oynayan mikroorganizmalar laktik asit bakterileridir ve süt şekeri laktozu laktik aside dönüştürerek ortamın asitliğini artırmaktadır. Bununla birlikte laktik asit bakterileri antimikrobiyal bakteriyosinler salgılayarak da asitleşmeyi sağlar ve bozulmaya neden olan patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engeller. En yaygın bulunan laktik asit bakteri cinsleri Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus ve Lactococcus’tur (6).

Şekil 1. Fermente Süt Ürünlerinin Hazırlanmasındaki Adımlar (7)

3. Fermente Süt Ürünlerinin Sağlık Üzerine Etkisi

Süt bazlı fermente süt ürünlerinin çoğu laktik asit bakterilerinin fermantasyonu sonucu üretilmektedir. Laktik asit bakterilerinin sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmektedir (8). Fermente süt ürünlerinin antidiyabetik, hipotansif, hipokolesterolemik ve antimikrobiyal etkileri olduğu bildirilmiştir. Fermente süt ürünlerinde bulunan bakteri türleri ve suşları antioksidan aktivite göstererek insan sağlığını olumlu yönde etkileyebilmektedir (9). Sütün içindeki laktozun laktik aside dönüşmesiyle laktoz intoleransı olan bireylerinde süt ürünlerini kullanılabilmesi sağlamaktadır. Fermente süt ürünleri, protein ve yağ gibi besin öğeleri starter kültürlerle parçalandıkları için daha besleyici ve sindirimleri süte göre daha kolaydır (10).

Yağ asitleri, vitaminler ve mineral içeriklerinin yanı sıra bu ürünler, bağışıklık tepkilerini modüle edebilen ve bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve işlevselliğini etkileyebilen biyoaktif peptitler ve canlı mikroorganizmalar içerir (11). İnsan mikrobiyotası, trilyonlarca mikroorganizma tarafından temsil edilen ve sağlığın korunmasında önemli bir rol oynayan karmaşık ve dinamik bir topluluktur. Son araştırmalar farklı sağlık bozukluklarında hastalığa özgü mikrobiyotanın olduğunu bildirmektedir (12). Sağlıklı yetişkinlerin mikrobiyotası esas olarak Firmicutes ve Bacteroidetes filumlarından anaerobik bakterilerle temsil edilir. Firmicutes filumunda Clostridium, Enterococcus, Lactobacillus ve Faecalibacterium cinsleri baskınken, Bacteroides ve Prevotella gibi diğerleri Bacteroidetes filumunu en iyi temsil eden cinslerdir. Hepsi, her bireyin spesifik mikrobiyal bileşimine bağlı olarak farklı oranlarda mevcuttur. Mikrobiyotanın bozulması ve değişmesi farklı patolojilerle ilişkili olabilmektedir.

(13). Fermente süt ürünleri ile kanser riski arasındaki ilişkini incelendiği bir meta analizde fermente süt ürünleri tüketmenin kanser riskini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Kanser türlerine göre yapılan alt analizlerde de mesane kanseri, kolorektal kanser ve yemek borusu kanseri riskini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (14).

3.1. Yoğurt

En çok bilinen fermente süt ürünü olan yoğurt, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophiles* ile laktik asit fermantasyonu sonucu oluşan pıhtılaşmış bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. Birden fazla makro ve mikro besin ögesi kaynağı olan yoğurt zengin bir besindir (15). Yoğurdun besin değerinin süttten çok farkı yoktur ancak folik asit gibi bazı B grubu vitaminler yoğurttta daha fazla miktarda bulunmaktadır (1). Yoğurt proteinlerinin %80'i kazein %20'si whey proteinlerinden oluşur. Yoğurt, zengin B₁₂ vitamini, fosfor, kalsiyum, riboflavin kaynağıdır (16) (Tablo 2).

Tablo 2. Tam yağlı ve yarım yağlı yoğurdun besin bileşimi (17)

Bileşenler	Yoğurt, homojenize, tam yağlı* (süt yağı ≥ % 3.8)	Yoğurt, homojenize, yarım yağlı* (% 2 > süt yağı ≥ % 1.5)
Enerji	69 kcal	49 kcal
Su	86,39 g	89,02 g
Protein	4,53 g	4,27 g
Yağ	3,80 g	1,76 g
Kolesterol	10 mg	6 mg
Karbonhidrat	4,24 g	3,91 g
Laktoz	4,28 g	3,38 g
Fosfor, P	110 mg	104 mg
Kalsiyum, Ca	132 mg	130 mg

*Bileşen değerleri gıdanın yenilebilir 100 g'ı içindir.

Yoğurt peptidleri, kalsiyum ve magnezyum gibi minerallerin insülinotropik etkileri, tip 2 diyabet riskini azaltmak için olumlu etki yapabilir. Ayrıca, yoğurdun düşük glisemik yükü, protein ve lipid içeriği, dokusu ve asiditesi de tip 2 diyabet insidansını azaltabilir (18). Yapılan bir meta analizde fermente süt ürünlerinin özellikle yoğurdun tip 2 diyabet riskini azalttığı gösterilmiştir (19). Prospektif kohort çalışmaların meta-analizinin sonucunda, daha yüksek yoğurt

tüketiminin, daha düşük yoğurt tüketimiyle karşılaştırıldığında daha düşük tip 2 diyabet riski ile ilişkili olduğunu bulunmuştur (20). Schwingshackl ve ark. (2016) yaptığı meta analizde yoğurt tüketiminin vücut ağırlığı artışı, bel çevresi, fazla kilolu olma riskini ve abdominal obezite riskini azalttığı bildirmiştir (21). Kalsiyum ve proteinler gibi besin öğeleri, probiyotikler ve yoğurdun tokluk hissi üzerine olumlu etkileri vücut ağırlığının korunmasında etkili olabilir (22). Yoğurdun diğer süt ürünleriyle karşılaştırıldığında kardiyovasküler hastalık riskini ve kardiyovasküler hastalık biyobelirteçlerini azaltabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (23). Bağırsak mikrobiyotasının obezite, insülin direnci, kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalıklar üzerinde etkisi olduğuna gösteren çalışmalar artmaktadır. Yoğurt tüketimi, bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyerek bu hastalıkların görülme oranını azaltabilmektedir (24).

3.2. Kefir

Kefir, pürüzsüz, hafif köpüklü gövdeli, beyazımsı renkli, viskoz ve kendinden gazlı bir içecektir. Kafkas Dağları kökenli olup inek, koyun, keçi veya diğer süt türlerinin fermantasyonu ile üretilir (5). Kefir üretimi geleneksel ve endüstriyel olmak üzere iki yolla yapılabilmektedir. Geleneksel yöntemde kefir taneleri doğrudan pastörize edilmiş ve soğutulmuş süte eklenir ve 25 °C'de yaklaşık 24 saat karıştırılarak inkübe edilir. Karnabahar benzeri kefir taneleri bakteri ve mayalardan oluşan polisakkarit matrisi ile çevrilidir. Bu tanelerdeki laktik asit bakterileri ve mayalar sütü fermente ederek laktik asit, CO₂, az miktarda alkol ve aromatik maddeleri oluşturur. Daha sonra kefir taneleri süttten ayrılır ve oda sıcaklığında kurtularak saklanabilir. Endüstriyel üretimde ise starter kültürler kullanılmaktadır. 25 °C'de 20-24 saat fermantasyondan sonra ürün, soğutma sıcaklıklarında 20 güne kadar saklanabilir. Kefirde minimum miktarda laktik asit ve alkol bulunur (genellikle %2'yi aşmaz) (25). Kefirin besinsel ögesi bileşimi büyük ölçüde sütün bileşiminden, kullanılan tanelerin kökeni ve bileşiminden, fermantasyon süresi/sıcaklığından ve saklama koşullarından etkilenir. Bileşimine bakıldığında %90'ı su, %6'sı şeker, %3.5'i yağ, %3'ü protein ve %0.7'si küldür (26).

Kefirdeki yüksek probiyotik seviyeleri bağırsak mikrobiyotasını düzenleyebilir ve belirli sitokinler üzerindeki etkilerinin aracılık ettiği antiinflamatuvar bir etki gösterebilir. Ayrıca kefirde bulunan *Lactobacillus plantarum*, peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimleri sentezleyerek antioksidan etki gösterir (27). Kefirin antibakteriyel, antidiyabetik, antihipertansif ve hipokolesterolemik gibi sağlık üzerine olumlu etkileri vardır. Kefirin

antibakteriyel özellikleri, fermantasyon işlemi sırasında üretilen organik asitler, H_2O_2 , asetaldehit, CO_2 ve bakteriyosinlerin doğal etkisi dahil olmak üzere çeşitli faktörlerin birleşimiyle ilişkilidir. Hipokoleterolimik etkisini laktik asit bakteri tarafından kolesterolün bağlanması ve kolesterol emiliminin azaltılması veya probiyotik bakteriler tarafından üretilen propiyonat, hidroksimetilglutaril CoA (HMG-CoA) redüktaz aktivitesini inhibe ederek kolesterol üretimini azaltması sonucu olabileceği bildirilmektedir (28).

3.3. Peynir

Peynir, yağ, protein, kalsiyum ve B vitamini içeriği yüksek olan fermente süt ürünüdür. Peynir üretimi sırasında süt, peynir mayası, starter kültür kullanılmaktadır. Peynirin vitamin ve mineral içeriği ile beraber biyoaktif peptitler sağlık üzerindeki yararlı etkilerin sağlanmasında rolü vardır (29). Laktik asit bakterileri peynir yapımı sürecinde önemli rol oynamaktadır. Laktik asit bakteri peynir proteinleri daha kısa peptitlere ve amino asitlere parçalayabilen proteinazları ve peptidazları içermektedir. bu parçalanma sonucu oluşan peptitler, amino asitler ve bunların türevleri, son peynirde doku ve lezzetin geliştirilmesine katkıda bulunur. Ayrıca, bu peptitlerin spesifik sekanslarının, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu ve antiproliferatif aktiviteye ek olarak antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, immünomodülatör ve analjezik/opioid aktivite dahil olmak üzere biyolojik özellikler sergilediğini gösterilmiştir (30). Peynir tüketimi ve kardiyovasküler hastalık riskinin incelendiği bir çalışmada tip 2 diyabet, kalp yetmezliği, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon ve iskemik felç arasında nedensel olarak ters ilişkiler olduğu gösterilmiştir (31). Chen ve ark. (2017) daha fazla peynir tüketiminin, koroner kalp hastalığı riskinde orta derecede azalma ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (32). Yapılan bir meta analizde peynir dahil süt ürünleri tüketiminin tip 2 diyabet riskiyle ters ilişkili olduğunu göstermiştir (20).

3.4. Kımız

Geleneksel olarak kısrak sütünün fermantasyonu sırasında oluşan hafif alkollü bir içecektir. Kökeni Asya'daki göçebelere gelen kımız, halen Kazakistan, Moğolistan, Kırgızistan ve Rusya gibi batı ve orta Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilmektedir (33). Kısrak sütünü inek, koyun, keçi gibi hayvanların sütüyle karşılaştırıldığında daha fazla laktoz, daha az protein, yağ ve mineral içeriğine sahiptir. Kımız oluşumundaki başlıca mikroorganizmalar, laktozu laktik asite dönüştüren laktik asit bakterileri ve şekerli karbondioksit

ve etil alkole dönüştüren mayalardır. Kımız, laktik asit fermantasyonu ve alkol fermantasyonu olmak üzere iki ana fermantasyona uğramaktadır. Bu değişiklikler kendine özgü ekşi, alkollü bir tat üretir. Bu içecek genellikle yaklaşık %2 alkol, %0,5-1,5 laktik asit, %2-4 laktoz ve %2 yağ içerir (34). Kımız ilk kez Moğollar tarafından tüberküloz, ülser ve hepatit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Kımızın böbrekler, karaciğer, endokrin bezleri, kan yapıcı organlar, sindirim, sinir, bağışıklık ve kalp-damar sistemleri üzerinde olumlu etkilerinin yanı sıra anemi, avitaminoz, mide bulantısı gibi rahatsızlıklara iyileştirici etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (35).

4. Sonuç

Fermente süt ürünlerinin sağlık üzerine olumlu etkileri olduğu düşünülerek eski çağlardan beri tüketilmektedir. Fermente süt ürünlerinin içerdiği mikroorganizmalar laktozun sindirimini kolaylaştırma, patojenlere karşı direnç sağlama, immün sistemin düzenlenmesi ve kanser riskini azaltma gibi birçok sağlık yararı sağlamaktadır. Fermente süt ürünlerinin yararlı etkileri içerdikleri mikroorganizmalar beraber yağ asitleri, vitaminler ve mineral içeriğinden kaynaklanmaktadır. Özellikle vücut ağırlığının düzenlenmesi, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, kanser gibi hastalıklar üzerinde yararlı etkileri olabileceğini gösterilmiştir. Fermente süt ürünlerinin tüketilmesinin fonksiyonel sağlık yararları olduğu bildirilen çalışmalar olmasına rağmen tüketim miktarları, dozu, kullanılan starter kültürlerle ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Baysal A. Beslenme. 13. Baskı. Türkiye: Hatipoğlu Yayınevi, 2011.
2. Pereira PC. Milk nutritional composition and its role in human health. Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.). 2014;30(6):619–627.
3. Demirgöl F, Sağdıç O. Fermente Süt Ürünlerinin İnsan Sağlığına Etkisi . Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi. 2018;13:45-53.
4. Kim B, Hong VM, Yang J, et al. A review of fermented foods with beneficial effects on brain and cognitive function. Preventive Nutrition and Food Science. 2016;21(4):297.
5. Altay F, Karbancıoğlu-Güler F, Daskaya-Dikmen C, Heperkan D. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics. International Journal of Food Microbiology. 2013;167 (1):44–56.

6. Widyastuti Y, Febrisiantosa A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food and Nutrition Sciences*. 2014;5 (04):435.

7. Petrova P, Ivanov I, Tsigoriyna L, et al. Traditional Bulgarian Dairy Products: Ethnic Foods with Health Benefits. *Microorganisms*. 2021;9(3):480.

8. Zukiewicz-Sobczak W, Wroblewska P, Adamczuk P, Silny W. Probiotic lactic acid bacteria and their potential in the prevention and treatment of allergic diseases. *Central-European Journal of Immunology*. 2014;39 (1):104.

9. Ohsawa K, Uchida N, Ohki K, Nakamura Y, Yokogoshi H. *Lactobacillus helveticus*-fermented milk improves learning and memory in mice. *Nutritional Neuroscience*. 2015;18 (5):232–40.

10. Ansorena D, Astiasaran I. Fermented foods: Composition and health effects encyclopedia of food and health. Oxford: Academic Press, 2016.

11. Severyn CJ, Bhatt AS. With probiotics, resistance is not always futile. *Cell Host Microbe*. 2018;24:334–336.

12. Duvallet C, Gibbons SM, Gurry T, Irizarry RA, Alm EJ. Meta-analysis of gut microbiome studies identifies disease-specific and shared responses. *Nat. Commun*. 2017;8:1784.

13. Eckburg PB, Lauber CL, Costello EK, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308, 1635–1638.

14. Zhang K, Dai H, Liang W, Zhang L, Deng Z. Fermented dairy foods intake and risk of cancer. *Int. J. Cancer*. 2019;144: 2099-2108.

15. Eales J, Lenoir-Wijnkoop I, King S, et al. Is consuming yoghurt associated with weight management outcomes? Results from a systematic review. *International Journal of Obesity*. 2015;40 (5):731–46.

16. McGregor R, Poppitt S. Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence. *Nutrition & Metabolism*. 2013;10 (1):46.

17. Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı. <http://www.turkomp.gov.tr/database?type=compare> Erişim tarihi 29 Eylül, 2019.

18. Chen M, Sun Q, Giovannucci E, et al. Dairy consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated metaanalysis. *BMC Medicine*. 2014; 12: 215.

19. Gijsbers L, Ding EL, Malik VS, de Goede J, Geleijnse JM, Soedamah-Muthu SS. Consumption of dairy foods and diabetes incidence: A dose-response meta-analysis of observational studies. *Am. J. Clin. Nutr*. 2016;103:1111–1124.

20. Aune D, Norat T, Romundstad P, Vatten LJ. Dairy products and the risk of type 2 diabetes: A systematic review and dose-response meta-analysis of cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2013;98 (4):1066–83.

21. Schwingshackl L, Hoffmann G, Schwedhelm C, et al. Consumption of Dairy Products in Relation to Changes in Anthropometric Variables in Adult Populations: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies. *PLoS ONE*. 2016;11:e0157461.
22. Jacques PF, Wang H. Yogurt and weight management. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014; 99 (5): 1229S–1234S.
23. Abreu S, Moreira P, Moreira C, et al. Intake of milk, but not total dairy, yogurt, or cheese, is negatively associated with the clustering of cardiometabolic risk factors in adolescents. *Nutrition Research*. 2014;34 (1): 48–57.
24. Marette A, Picard-Deland E. Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *Am J Clin Nutr*. 2014;99(5 Suppl):1243S-7S.
25. Guzel-Seydim Z, Kök-Tas T, Greene AK. 2010. Kefir and koumiss: microbiology and technology. Yildiz, F. (Ed.), *Development and Manufacture of Yogurt and Functional Dairy Products*. U.S:CRC Press, 2010:143–163.
26. Sarkar S. Biotechnological innovations in kefir production: a review. *Br Food J*. 2008;110:283–295.
27. Companys J, Pedret A, Valls RM, Solà R, Pascual V. Fermented dairy foods rich in probiotics and cardiometabolic risk factors: a narrative review from prospective cohort studies. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61(12):1966-1975.
28. Rosa DD, Dias MMS, Grzeškowiak ŁM, Reis SA, Conceição LL, Peluzio MDCG. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutr Res Rev*. 2017;30(1):82-96.
29. Şanlıer N, Başar Gökçen B, Ceyhun Sezgin A. Health benefits of fermented foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(3):506-527.
30. Santiago-López L, Aguilar-Toalá JE, Hernández-Mendoza A, Vallejo-Cordoba B, Liceaga AM, González-Córdova AF. Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *J Dairy Sci*. 2018;101(5):3742-3757.
31. Hu MJ, Tan JS, Gao XJ, Yang JG, Yang YJ. Effect of Cheese Intake on Cardiovascular Diseases and Cardiovascular Biomarkers. *Nutrients*. 2022;14:2936.
32. Chen GC, Wang Y, Tong X, et al. Cheese consumption and risk of cardiovascular disease: A meta-analysis of prospective studies. *Eur. J. Nutr*. 2017;56:2565–2575.

33. Abdel-Salam AM, Al-Dekheil A, Babkr A, Farahna M, Mousa HM. High fiber probiotic fermented mare's milk reduces the toxic effects of mercury in rats. *North American Journal of Medical Sciences*. 2010;2(12):569.

34. Oğuzhan P, Yangılar F, Çelik P. Eşsiz bir içeceğimiz: kıımız. *Erzincan University Journal of Science and Technology*. 2013; 6 (1) , 223-234 .

35. Mu Z, Yang X, Yuan H. Detection and identification of wild yeast in Koumiss. *Food Microbiology*. 2012;31(2):301–8.

BÖLÜM V

KÖPEKLERDE TOTAL KALÇA PROTEZİ UYGULAMALARI

Applications of Total Hip Replacement in Dogs

Ziya YURTAL¹ & Kadri KULUALP² & Ekin REYHANOĞLU³

¹ *Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye
E-mail: ziyayurtal@gmail.com
ORCID: 0000-0001-6080-1860*

² *Dokuz Eylül Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye
E-mail: kadri.kulualp@deu.edu.tr
ORCID: 0000-0002-5877-0054*

³ *Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye
E-mail: ekindengur@outlook.com
ORCID: 0009-0006-3399-877X*

1. Giriş

Lokomotor sistemin bir parçası olan kalça eklemi, pelvik ekstremitelerin hareketinden sorumludur. Hareket etmede görevli lokomotor sistem kaslarının büyük çoğunluğu gövdenin arka tarafında bulunur. (1) Kalçaların fiziksel yapısı kısmen çevresel faktörlerden, kısmen de bilinmeyen sayıda gen tarafından yönetilen genetik faktörlerden etkilenir. (2) Kalça ekleminin genel fonksiyonunu kaybetmesi durumunda eklem hareketinin yeniden kazandırılmasını amaçlayan birçok cerrahi prosedür tanımlanmıştır. Bunlardan total kalça protezi (TKP), sadece normal uzuv fonksiyonunu korumakla

kalmayıp ağrıyı da ortadan kaldırarak eklem mekaniğini yeniden sağlayan cerrahi bir prosedürdür. (3,4) TKP insanlarda 1951'den beri uygulanmaktadır. (3) Köpeklerde ise ilk olarak 1957 yılında uygulandığı bildirilmiştir. (5) Büyük ırk yetişkin köpeklerde birçok koksofemoral eklem patolojisinin tedavisinde TKP'nin etkili bir yöntem olduğu gösterilmiştir. (6)

Total kalça protezi, femur başının ve asetabulumun, üretilen özel implantlar ile yer değiştirmesidir. Mevcut total kalça protez sistemleri genel olarak sementli, sementsiz veya hibrit (sementli ve sementsiz implantların kombinasyonu) olarak kategorize edilebilir. Sementli total kalça protez sistemlerinde, implant ve kemik arasında arayüz olarak polimetil metakrilat kullanılır. Sementsiz total kalça protez sistemlerinde ise, kullanılan implant sistemine göre bastırarak oturtma, kilitli vidalı fiksasyon veya vidalı implantlar kullanılır. (4)

2. Tarihçe

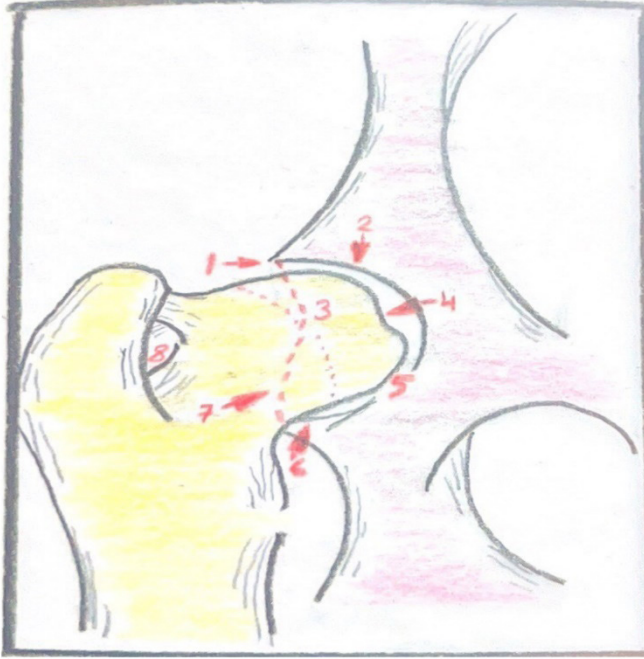
Total kalça protezi, köpeklerde 30 yılı aşkın süredir uygulanmaktadır. İlk büyük çaplı TKP uygulaması, Richard Canine II Total Hip Prosthesis'dir. 1990 yılında sementli modüler total kalça sistemi uygulanmış ve klinik olarak başarılı olunmuştur. Daha sonra yüzeyi porlarla kaplı sementsiz modüler sistem geliştirilmiş ve sement uygulamaları sonucu ortaya çıkan komplikasyonların önüne geçilmeye çalışılmıştır. Zürih Üniversitesinden Dr. Slobodan Tepic ve Pierre Montavon 1993'ten beri uygulanan Zürih Tipi Sementsiz Total Kalça Protezi Sistemini geliştirerek veteriner cerrahide sementsiz TKP uygulamasına alternatif geliştirmişlerdir. (7)

3. Kalça Eklemi Anatomisi

Yassı kemiklerin en büyüğü, kalça kemiğidir. Kalça kemiğini os ilium, os pubis ve os ischii kemikleri oluşturur. Os coxae'nin kraniodorsalinde yer alan kemiğe os ilium, kraniioventralinde yer alan kemiğe os pubis ve kaudoventralinde yer alan kemiğe os ischii denir. Bu kemiklerin korpuslarının birleştiği bölgede, çanak şeklinde, içi eklem kıkırdağı ile kaplı bir çukurluk oluşur. Asetabulum adı verilen yuva kaput femoris ile eklem yapmaktadır.(8,9) Bazı ırklarda asetabulum derinliği değişkendir. Örneğin; Boxer ve Labrador Retriever'larda derinlik sığ iken, St. Bernard ve Berner dağ köpeklerinde derin bir asetabulum bulunmaktadır. Alman çoban köpekleri ve Rottweiler'larda ortalama bir derinlik vardır. (9)

Köpeklerin pelvik büyüme plaklarının fizyolojik kapanma süreleri; tuber koksa'da 12-24 ay, tuber ischii'de 8-10 ay, pubiste 5 ay, asetabulumda ise 3-6 ay arasında değişir. (9,10)

Kaput femorisi korpus femorise bağlayan kemik bölümü kollum femoris'tir. Femurun kollumu ile femoral shaft arasındaki açı 135° 'dir. Anteversiyon açısı ise ortalama 10° ($0-20^{\circ}$) dir. Anteversiyon açısı doğumda sıfırdır ve yaşın büyümesi ile birlikte artar. (10) Kalça kemiğinin anatomisi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1: Kalça Ekleminin Morfolojik Görüntüsü . 1-Kranial efektif asetabular kenar 2-Dorsal asetabular kenar 3-Kaput femoris 4-Fovea kapitis 5-Asetabulum 6-Kaudal asetabular kenar 7-Kollum femoris 8-Fossa trochanter

Kalça ekleminin eklem kapsulası kollum femorise kadar uzanır. Asetabulumun çevresinde kıkırdak yapıda labrum asetabulare vardır ve kaput femorise hareket kolaylığı sağlar. (8) Eklem bağlarını Ligamentum capitis ossis femoris (Ligamentum teres) ve Ligamentum transversum asetabuli oluşturur. Kalça eklemi, kaput femoris ve asetabulum bölümlerinden oluşur. Ligamentum capitis ossis femoris'in fovea kapitise bağlandığı yer hariç, bütün yüzey hiyalin kıkırdak ile kaplıdır. Eklem kapsülü çok dayanıklı bir yapıdır. Kalça eklemi

çok sayıda güçlü kaslarla kaplıdır. Bu kaslar, musculus gluteus superficialis, musculus gluteus medius, musculus gluteus profundus, musculus piriformis, musculus tensor fasciae latae, musculus sartorius ve musculus pectineus'tan oluşmaktadır. (9)

Kalça eklemının vaskülarizasyonunu, arteria circumflexa femoris medialis ve lateralis ve az miktarda da arteria glutea caudalis sağlar. Arka ekstremitiyi a.iliaca externadan ayrılan a.femoralis besler. Bu damara vena femoralis ile nervus femoralis'in nervus saphenus'u eşlik eder.(9)

4. Kalça Protezinin Endikasyonları

Total kalça protezi, başta kalça displazisi olmak üzere, kronik travmatik kalça çıkıkları, başarısız eksizyon artroplastileri, ciddi şekilde parçalanmış femur başları, femur başının avasküler nekrozu, başarısız Toogle-Pin ameliyatları, başarısız dartroplasti ameliyatları, başarısız triple pelvik osteotomi (TPO) ameliyatları, femur boynu kırığının kaynamaması, asetabulumun yanlış kaynaması ve osteoartrit gibi kalça displazisi dışındaki durumların neden olduğu dejeneratif eklem hastalığı olan köpeklerde güvenilir bir tedavi seçeneği olarak kullanılmıştır. (3-5,11-13)

5. Kalça Protezinin Kontrendikasyonları

Kalça displazisi olan ancak ağrısız bir şekilde normal hayatına devam eden köpekler kalça protezi için uygun aday değillerdir. Kalça displazisi ve eşlik eden arka bacak nörolojik disfonksiyonu olan köpekler, dejeneratif miyelopati, intervertebral disk hastalığı, ön çapraz bağ kopukları, patella luksasyonları, spinal tümörler, asetabular hipoplazi, kas kontraktürleri, kas atrofileri veya diğer nörolojik durumlar açısından mutlaka değerlendirilmelidir. (3-5,13) Nörolojik problemler ekarte edildiğinde ya da tedavi edildiğinde kalça protezi uygulanabilir. Hasta, ön çapraz bağ kopuğu gibi topallığa sebep olabilecek diğer ortopedik patolojiler açısından da muayene edilmelidir. Bununla birlikte sistemik ya da lokal enfeksiyonu olan hayvanlarda protez işlemi ancak enfeksiyon kontrol altına alındıktan sonra uygulanmalıdır. TKP, asetabulum ve femoral shaft yapısı uygun olmayan köpeklerde de kontrendikedir. (3)

6. Kalça Protezi Çeşitleri

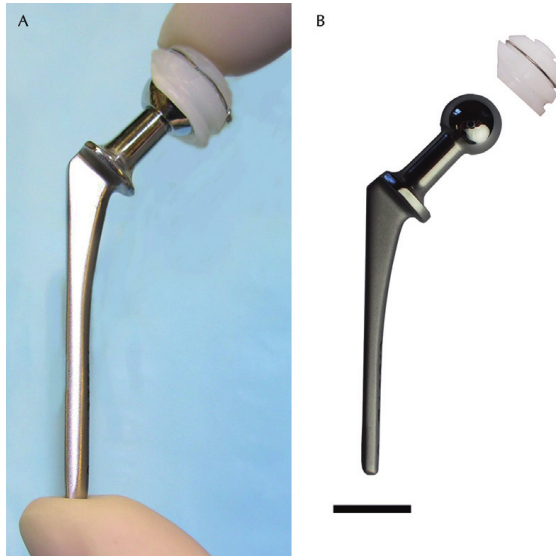
Kullanımda olan ve literatürde bildirilen sonuçlara sahip en yaygın TKP sistemleri Universal Total Kalça Protezi, Micro Total Kalça Protezi, Zürih

Tipi Sementsiz Total Kalça Protezi, Geleneksel Köpek Kalça Protezi Sistemi, Biyolojik Fiksasyon Sistemleri ve Sementli Fiksasyon Sistemlerinden oluşur. (5)

Sementli kalça protezi sistemleri bazı hastalarda, femur boyutunun büyük olması, zayıf kemik kalitesi veya ileri yaş nedeniyle tercih edilebilir. Aynı şekilde, çok küçük köpeklerde ve kedilerde, kap ve gövdenin sement ile sabitlenmesi, cerraha implant boyutlarını belirlerken kolaylık sağlar. (5)

Sementsiz total kalça protez sistemleri veteriner cerrahide son 20 yıldır kullanılmakla birlikte insan ortopedisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. (6) Sementsiz total kalça protez sistemleri, polimetilmetakrilat (PMMA) kullanımı sonucu ortaya çıkan ekstraosseöz sement granülom oluşumu, aseptik gevşeme ve partikül hastalığı gibi bir takım komplikasyonları ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiştir. (6,14,15)

Micro Total Kalça sistemi, yalnızca çimentolu bileşenlerden oluşur ve implant boyutları küçük ırk köpekler ve kediler için uygundur. Mikro TKP, ağırlığı 12 kg'ın altında ve 2,5 kg kadar küçük olan köpeklerde ve kedilerde yapılabilir. (Şekil 2) (5) Nano TKP, mevcut en küçük implanttır ve protezin sabit bir kafası vardır. (16)



Şekil 2: Mikro TKR implantı (5)

Zürih Tipi Sementsiz TKP, 1990'ların sonlarında Zürich Üniversitesi'nde geliştirilmiştir. Zürich tipi protez sisteminde, femoral komponentin uzun eksenli boyunca kilitli vidalı implantasyon sistemi, asetabular komponenti için ise

asetabulumuna bastırarak oturtulan poröz yapılı bir implant kullanılır. (Şekil 3) (4,5,17) Femoral aparatı kortekse sabitlemenin mantığı, anında fiksasyonu sağlamak ve femurda oluşan stresi en aza indirmektir. (5)

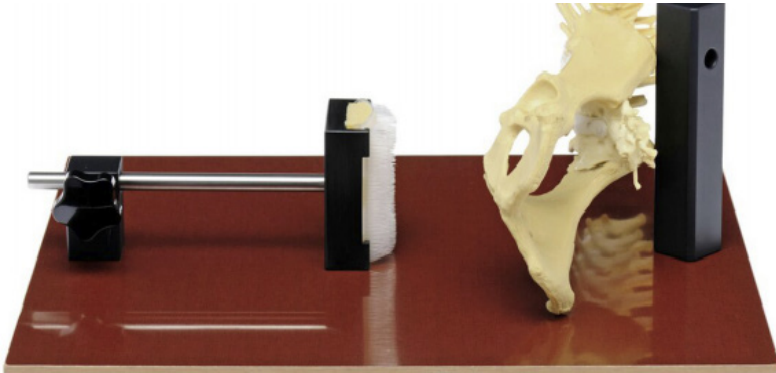


Şekil 3: Zürih Tipi Sementsiz TKP (4)

7. Cerrahi Öncesi Değerlendirme Ve Preoperatif Hazırlık

Hastalardan öncelikle anamnez alınır ve fizik muayene ile birleştirilir. Kalça kaynaklı periyodik topallığı, egzersiz intoleransı, normal lokomotor işlevinde değişiklikleri veya azalmış aktivite ile birlikte ağrısı olan hayvanlar, TKP için aday olarak kabul edilebilir. Büyüme plaklarının kapandığından emin olmak için protez yapılacak hayvanların en az 10 aylık olmaları gerekir. Üst yaş sınırı ise yoktur. Geriatrik hastaların sağlık durumları iyi olmalıdır. Genel fizik muayenenin yanı sıra, her hastaya tam bir ortopedik muayene yapılmalıdır. Kalçanın en büyük fleksiyon açısını, en büyük ekstansiyon açısını ve tam içe ve dışa rotasyon derecesini belirlemek için hareket alanı değerlendirilmelidir. Muayene esnasında ağrı oluşup oluşmadığı yakından takip edilmelidir. (3) Asetabulum ve femoral shaftı tüm yönleriyle değerlendirmek için çok yönlü

radyografisi alınmalıdır. Alınan bu grafiler ile var olan başka patolojiler de ortaya konulabilir. Laboratuvar analizlerinden; tam kan, serum biyokimyası ve idrar muayenesi yapılmalıdır. (3,4,13) Bununla birlikte bukkal mukozal kanama zamanına bakılmalıdır. Ölçülen implant ebatları ve bunların bir boy küçük olanları hazırda tutulmalıdır. Vida olarak ise bikortikal vidalar tercih edilmelidir. (4) Operasyona uygun olan köpeklerin kalçaları 24 saat önce tıraş edilmelidir. Böylelikle dermatolojik bir problem, cerrahi enfeksiyon ile karıştırılmamış olur. (3) Bölge geniş olarak son kaburgaya kadar tıraş edilir. Anüse tütün kesesi ağzı dikişi atılır. Ekstremitenin distali su geçirmeyen cerrahi örtü ile sarılır. Alkol bazlı bir antiseptik ile bölge temizlenir. Ameliyathane personelinin sınırlı sayıda tutmaya, cerrahi işlem esnasında az konuşarak odaklanmaya ve gerekli oldukça vakum kullanmaya özen göstermek gerekmektedir. (4) Hasta masaya özel olarak geliştirilen bir zemin üzerine yanal olarak yatırılır. Konumlandırma cihazı pelvisi stabilize eder ve implantların geri çekilmesi, oyulması ve implantasyonu sırasındaki hareketi engeller. Bu yatış pozisyonu özellikle asetabular bileşenin yerleştirilmesi ve hizalanması sırasında önemlidir. (Şekil 4) (5)



Şekil 4: TKP uygulanması esnasında kullanılan düzenek (4)

8. Cerrahi Prosedür

Bastırarak geçirilen sementsiz bir kap ve gövde kullanılacaksa, önce asetabular kemik yatağı hazırlanır ve asetabular kap implante edilir, ardından femoral bileşenin hazırlanması ve implantasyonu yapılır. Zürih tipi protez sisteminde önce femur hazırlanır, ardından asetabular hazırlık ve implantasyon yapılır. Her iki bileşen de sementliyse, önce femur, ardından asetabulum hazırlanır. Kap daha sonra sementlenir ve ardından femoral gövde yapıştırılır. (5)

Femur başının çıkarılması: Cerrah, hastanın ventraline gelecek şekilde pozisyon alır. (18) Deriye trochanter majorun 5 cm kadar dorsalinden başlayarak femoral shaft eksenini boyunca kraniyolateral bir ensizyon atılır. Biceps kasının fasyası kesildikten sonra biceps kaudale retrakte edilir. Fasya lata, tensor fasya lata kasını koruyarak kesilir. Fasyal kesi, tensor fasya lata ve gluteus süperfisiyalis kasının arasından devam ettirilir. Gluteus profundusun lateral kenarı eklem kapsülasından ayrılır. Gluteus profundus kasına parsiyel tenotomi yapılır. Eklem kapsülası açığa çıktıktan sonra T ya da H şeklinde bir ensizyon atılır. (4,5) Daha sonra femur başı ortaya çıkarılır ve ligamentum teresten ayrılır. (18) Femur 90° eksternal rotasyon yapacak şekilde döndürülür. Bir yardımcı bacağa diz kapağı kısmı yukarı bakacak şekilde bastırır ve sabit pozisyonda tutar. Femur başı ile trochanter major arasında kalan kısım bir ronjur kullanılarak çıkartılır ve salınımlı bir testere ile trochanter minörün hemen proksimalinden femur başı ostektomisi gerçekleştirilir. (5) Femur boynundaki eklem kapsülasının kaudal kısmını korumak için testere 5-10 derece eğimli olarak tutulmalı ve işlem esnasında serum fizyolojik ile soğutulmalıdır. Daha sonra femur başı çıkartılır ve ölçüm için bir kenara ayrılır. (4) Femoral kaputun ostektomisi sementli ve sementsiz kalça protezinde aynıdır. (5)

Femoral shaftın hazırlanması: Cerrah, hastanın sırtına gelecek şekilde pozisyon alır. Hohmann ekartörü ile femur yukarıya kaldırılır. Kanal oyucu femurun endosteal boşluğuna kaudolateral olarak yerleştirilir. Endosteal boşluğa yerleştirilen oyucu yarım rotasyonlarla ileri geri hareket ettirilir ve kanal hazırlanır. Osteofitler ronjur kullanılarak temizlenir. Daha sonra femoral komponent hazırlanan kanala yerleştirilir. (4)

Asetabulumun hazırlanması: Cerrah, yeniden hastanın ventraline gelecek şekilde pozisyon alır. Bacak nötral pozisyona getirilerek gluteal kaslar dorsale, femur ise kaudale retrakte edilir. Asetabulum içindeki dokular temizlenir. Asetabulum açığa çıktıktan sonra normal ebattan 1-2 ebat küçük oyucu 45°'lik açı ile yerleştirilir. Kalça protezinin daha iyi oturtulması için asetabulumun kraniyal ve kaudal kenarları korunmalıdır. (4) Bununla birlikte oyucunun asetabulumu kolaylıkla oturtulabilmesi için özellikle ventral ve kaudal yerleşimli osteofitik üremeler yönünden değerlendirilir ve eğer varsa temizlendikten sonra oyucu yerleştirilir. Oyucunun yalpalamasını engellemek için shaft kısmından sıkı bir şekilde tutulmalıdır. Doğru bir asetabular kemik yatağının hazırlanması, iki aşamalı bir oyma tekniği kullanılarak gerçekleştirilir. Başlangıç oyucuları tek numaralıdır (19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33 mm) ve nihai oyucular çift numaralıdır (20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34 mm). (5) Subkondral kemik görülünceye kadar oyma işlemine devam edilir. İçeride yumuşak doku kalmamasına dikkat

edilmelidir. Osteotaksisi sağlamak amacıyla medial duvarın kortikal kemiğine matkap ile delik açılabilir. Daha sonra asetabular komponent açılan yuvaya oturtulur. (4) Asetabular yuva oluşturulurken, sementli protez uygulanacaksa kullanılacak asetabular komponentin oyucudan bir ebat küçük olmasına dikkat edilmelidir. (5)

Her iki bileşenin implantasyonunu takiben, uygun boyun uzunluğuna sahip bir proteze femur başı monte edilir. Eklem hareket açıklığı değerlendirilir. Eklem hareket açıklığı ve stabilitesi yeterliyse operasyon alanı bolca yıkanır. Kemik sementi kullanılmışsa, eklem ve komşu dokular incelenir, sement kalıntısı varsa çıkarılır. Yara eklem kapsülünden başlayarak katmanlar halinde kapatılır. Gluteus profundus kasının kesilmiş tendonu dikkatli bir şekilde yeniden dikilir. Vastus lateralis kası, disseke edildiği yere veya gerekirse gluteus profundus kas tendonunun ventral kenarına dikilir. Üstteki dokular katmanlar halinde kapatılır. (5)

9. Postoperatif Bakım

Ameliyattan sonra 6 hafta boyunca koşma, atlama, oynama veya merdiven çıkma gibi aktiviteler sınırlandırılmalıdır. Daha sonra kısa bağlanmak koşuluyla yürüyüşler yaptırılabilir. 3 ay sonraki kontrollerde normale dönüldü ise kısıtlama kaldırılabilir. Diğer arka bacağı ampute olan vakalarda yardımcı yürüyüşler önerilir. Kediler zıplamaya engel olacak şekilde muhafaza edilmelidir ve ameliyattan 6 hafta sonra kısıt kaldırılabilir. (5)

10. Komplikasyonlar

Köpeklerde TKP ile ilişkili komplikasyonlar intraoperatif, kısa ve uzun dönem olarak sınıflandırılabilir. İntraoperatif komplikasyonlara femoral kırıklar, aşırı kanama ve asetabular kap yerleştirmede başarısızlık; kısa dönem komplikasyonlara koksofemoral luksasyonlar, geçici nöropraksi, femoral kırıklar ve asetabulum kırıkları; uzun dönem komplikasyonlara ise septik gevşemeler, koksofemoral luksasyonlar, implant başarısızlığı ve femoral kırıklar örnek olarak verilebilir. (6,14) TKP sonrası, septik veya aseptik implant gevşemesi, luksasyon, enfeksiyon, periprostetik femoral kırıklar ve implant başarısızlığı gibi komplikasyonlar izlenirse cerrahi revizyon gerekir. (12)

11. Sonuç

Sementli veya sementsiz implant kullanma kararı ameliyattan önce verilmekle birlikte cerrahın deneyimi, tercihi ve kemik morfolojisine

göre değişir. Kalça eklemindeki çoğu patolojik durumda ekleme normal fonksiyonunun yeniden kazandırılması hali TKP'yi diğer cerrahi prosedürlere göre üstün kılmaktadır. Deneyimli bir cerrah tarafından uygulandığında başarı şansı yüksektir. Ancak ülkemizde temin edilebilirliğinin zor olması, uygulanabilirliğinin kolay olmaması ve bununla birlikte maliyet açısından yüksek olması dezavantajları olarak görülmektedir.

Kaynaklar

1. Pamuk, K., & Yaprakçı, M. V. Köpeklerde Total Kalça Protezi Uygulamaları. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri-Cerrahi-Özel Konular, 2017,3(2), 135-139.
2. Dennis, R. Interpretation and use of BVA/KC hip scores in dogs. In Practice, 2012,34(4), 178-194.
3. Olmstead, M. L. Total hip replacement. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 1987, 17(4), 943-955.
4. Hummel, D. Zurich cementless total hip replacement. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 2017,47(4), 917-934.
5. Peck, J. N., Liska, W. D., DeYoung, D. J., & Marcellin-Little, D. J. Clinical application of total hip replacement. In *Advances in small animal total joint replacement* (2013), (pp. 69-107). Wiley-Blackwell.
6. Hummel, D. W., Lanz, O. I., & Werre, S. R. Complications of cementless total hip replacement. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology, 2010,23(06), 424-432.
7. Çetinkaya MA. Köpeklerde Total Kalça Eklemi Protezi. Erişim: https://www.tavsiyedyorum.com/makale_3418.htm. 2009. Erişim Tarihi: 20.01.2021
8. Bahadır A. ve Yıldız H. Veteriner Anatomi-I Hareket Sistemi, Ezgi Kitabevi Bursa; 2004.p.28.
9. Başa A. Köpek Yavrularında Kalça Displazisinde Tanı Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2012.
10. Aslanbey D. Veteriner Ortopedi ve Travmatoloji, Medipres Yayıncılık Ankara; 2002.p.25.
11. Pozzi A, Kowaleski MP, Dyce J, Johnson KA. Treatment of traumatic coxo-femoral luxation by cemented total hip arthroplasty. Vet Comp Orthop Traumatol. 2004;17(4):198-203.
12. Carvajal, J. L., Kim, S. E., & Pozzi, A. Use of a cerclage cable-plate system to stabilize a periprosthetic femoral fracture after total hip replacement in a dog. Veterinary Surgery, 2019,48(3), 437-443.

13. Gifford, A. B., Lotsikas, P. J., Liska, W. D., Israel, S. K., Rochat, M. C., Saunders, W. B., ... & Dyce, J. Total hip replacement in dogs with contralateral pelvic limb amputation: A retrospective evaluation of 13 cases. *Veterinary Surgery*, 2020,49(8), 1487-1496.
14. Bergh MS, Gilley RS, Shofer FS, et al. Complications and radiographic findings following cemented total hip replacement. *Vet Comp Orthop Traumatol* 2006; 19: 172–179.
15. Marcellin-Little DJ, DeYoung BA, Doyhens DH, et al. Canine uncemented porous-coated anatomic total hip arthroplasty: results of a LT prospective evaluation of 50 consecutive cases. *Vet Surg* 1999; 28: 10–20.
16. Ireifej S, Marino D, Laughin C. Nano total hip replacement in 12 dogs. *Vet Surg* 2012;41:130–135.
17. Bourne RB, Rorabeck CH, Burkart BC, et al. Ingrowth surfaces. Plasma spray coating to titanium alloy hip replacements. *Clin Orthop Relat Res* 1994;(298):37–46.
18. Vezzoni A. Zurich cementless total hip replacement surgical technique. Kyon Inc; 2014. 1.3.

BÖLÜM VI

KEDİ VE KÖPEKLERDE GASTROİNTESTİNAL SİSTEM ULTRASONOGRAFİSİ

Gastrointestinal System Ultrasonography in Cats and Dogs

Esmâ KİSMET¹ & Erdem GÜLERSOY²

*Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye*

¹E-mail: esmakismett@gmail.com,

ORCID: 0000-0002-2906-074X

²E-mail: egulersoy@harran.edu.tr,

ORCID: 0000-0001-8511-0150

1. Giriş

Gastroenteritis, mide ve bağırsak yollarının yangısını tanımlamak için kullanılan geniş bir terimdir. Gastroenteritis köpeklerde ve kedilerde akut başlayan kusma, anoreksi ve diyarenin yaygın bir nedeni olsa da pankreatit, azotemi, hepatit ve intestinal obstrüksiyon gibi benzer klinik bulgulara neden olabilen diğer durumlardan ayırt edilmelidir. Ek olarak gastroenteritis, virüs ve bakteri gibi enfeksiyöz ajanlar ile birlikte parazit, toksin, immun yetmezlik ve metabolik bozukluklar dahil olmak üzere çok çeşitli altta yatan nedenlere bağlı ortaya çıkabilir. Kapsamlı bir anamnez ve klinik muayene, altta yatan bir nedeni ortaya çıkarmaya yardımcı olsa da genellikle etiyolojik etmen tanımlanmaz. Bu nedenle tam kan sayımı, biyokimyasal profilendirme ile birlikte idrar analizini içeren sistemik değerlendirme çoğu zamanda gereklidir. Bu noktada, daha ileri ve non-invaziv diagnostik bir araç olan ultrasonografi, özellikle abdominal değerlendirmede, parankimal organların muayenesi için ön plana çıkmaktadır. Bu kapsamda gastrointestinal sistem ultrasonografisi diğer

organların ultrasonografik muayenesine göre daha az değerlendirilse de gelişen ultrason cihazları ile birlikte yeni problemler, gastrointestinal sistemin daha detaylı değerlendirilmesine imkan vermiş ve gastrointestinal sistem ultrasonografisine olan ilgi artmıştır (1).

2. Gastrointestinal Sistem Anatomisi

Gastrointestinal (GI) sistem yemek borusu, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak, pankreas, mezenter ve ilgili lenf düğümlerini içerir.(1) Son yıllarda, bu işlevlerden sorumlu mekanizmaların ve etkileşimlerin belirlenmesinde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. GI sistemin birincil işlevleri sindirim, emilim, atılım ve korumadır. Bu fonksiyonlar, ağızdan anüse kadar farklı rollere sahip bir dizi organ aracılığıyla elde edilir.(2) Mide, GI sistemin en geniş kısmıdır ve proksimal olarak kardiyak açıklık yoluyla yemek borusu ile ve distal olarak pilorus yoluyla duodenum ile bağlantı kurar. Diğer üç gastrik bölge tipik olarak şu şekilde tanımlanır: proksimal genişleyebilir fundus, distal huni benzeri antrum ve fundus ile antrum arasındaki mide korpusu. İnce bağırsak, pilorusun distalinden başlar ve üç bölümden (duodenum, jejunum ve ileum) oluşur. Mide ve ince bağırsak esas olarak sindirim ve emilimden sorumludur ve bu işlem hem fiziksel (örneğin, midede retropulsasyon) hem de kimyasal (örneğin, ince bağırsakta safra ve enzimler) mekanizmaları içerir. Kalın bağırsak öncelikle dışkı materyalinin kurutulması ve sıkıştırılması ile eliminasyondan önce sigmoid kolon ve rektumda depolanması ile ilgilidir.(1)

Mide, yemek borusu ile ince bağırsak arasında yer alan ve yiyecekler için bir depolama rezervuarı ve yiyecekleri daha sonra ince bağırsağa girecek daha küçük bileşenlere karıştırmak ve öğütmek için bir depo olarak işlev gören bölümdür.(2) Mide kas tabakaları, glandüler kısımlar ve mukozal bariyerden oluşur. Kas tabakaları gıdayı daha küçük parçacıklara ayırır ve pilorik sfinkter aracılığıyla ince bağırsağa doğru hareket ettirir. Midenin parietal hücreleri (hidroklorik asit salgılamak için), şef (chief) hücreleri (pepsinojen salgılamak için) ve mukus üreten hücreleri (aynı zamanda bikarbonat salgılayan) içeren glandüler kısımları da aynı derecede önemlidir. Normalde gastrik mukozal bariyer hidroklorik asit ve sindirim enzimlerini lümen içinde tutar ve plazma bileşenlerinin mideye kaybını önler. Gıda parçacıkları küçük parçalara ayrıldıktan sonra yeterli bileşenler, pilorik sfinkterden geçerek duodenum olarak bilinen ince bağırsağın başlangıcına geçerler.(1,2)

Kedi ve köpeklerin ince bağırsakları besinlerin sindirimi ve emiliminde görev alır ve duodenum, jejunum, ileuma ayrılır. İnce bağırsağın mukozası salgı

ve emilim işlevlerinde rol oynar ve enterosit adı verilen tek bir epitel hücre tabakası içerir. İnce bağırsağın uzunluğu boyunca mukozaya, ince bağırsağın yüzeyini genişleten, bağırsak lümenine doğru parmak benzeri çıkıntılar olan villuslar şeklinde oluşur. Mikrovilluslar daha sonra besinlerin sindirimi ve emilimi için mevcut yüzey alanını daha da artırmak üzere “fırça sınırı” oluşturur. Fırça sınırı içindeki enzimler, daha büyük gıda moleküllerinin daha küçük, daha kolay emilebilir parçacıklara sindirilmesine yardımcı olur. Emilim, spesifik taşıma mekanizmaları veya pinositoz yoluyla gerçekleşebilir. Epitel hücreleri ayrıca elektrolitlerin, suyun emilimi ve salgılanması ile de ilgilidir. (3) Enterositler birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanarak hücreler arasındaki emilimi sınırlandırır ve besin maddelerinin interstisyumdan bağırsak lümenine geri akışını önler. Enterositler kripte (villusun tabanı) başlar ve yaklaşık 2 ila 5 günlük bir yaşam süresiyle döküldükleri bağırsak lümenine doğru göç ederler. Sağlıklı, sağlam bir mukozal astar bağırsağın bütünlüğü için önemlidir. Bu tabakayı bozan her türlü iltihaplanma önemli bağırsak hastalıklarına yol açabilir. GI sistem kendisine sunulan sıvının yaklaşık %99’unu emer; bu nedenle herhangi bir hasar asit baz ve sıvı dengelerinde önemli değişikliklere neden olabilir.(4,5)

Gastrointestinal sistem ile ilgili bozukluklar ve hayvan sahibi şikayetleri (anoreksi, kusma, diyare ve kaşeksi gibi) kliniklere başvurunun yaygın bir nedenidir.(6) GI sistemin değerlendirilmesinde detaylı bir anamnez ve klinik bulguların yanı sıra fiziksel muayene önemli rol oynar. Fiziksel muayeneye önce inspeksiyonla başlanır, daha sonra sırasıyla; oskültasyon, palpasyon ve perküsyon uygulanır. İlk aşama olan inspeksiyon için gereken ilk şart iyi bir aydınlatmadır. (7) Hayvanın dış görünüşü, duruşu, vücut kondisyon skoru, çevreye olan ilgisi, davranışları, patolojik olgu varsa yeri, şekli, büyüklüğü, simetrisi, çöküklük olup olmaması, mukozaları ve renk değişimleri, dehidrasyon, hipovolemi, GI kanaması (melena, hematokezya ve hematemez gibi), fitik olup olmaması gibi özellikler bu kısımda kontrol edilir.(8) Abdominal çöküklük kilo kaybının bir sonucu olabileceği gibi asimetri ise büyük kitlelerin sonucunda görülebilir. İkinci aşama oskültasyondur. Oskültasyon normalde muayenenin sonunda yapılır ancak, bağırsak peristaltizmi perküsyon ve palpasyondan etkilenerek arttığı için, ikinci aşamada oskültasyon yapılmalıdır. Bu aşamada bağırsaktaki peristaltik sesler dinlenilir.(7) Peristaltik aktivite, mide ve ince bağırsakta rutin olarak gözlemlenebilir ancak kolon için aynı durum geçerli değildir. Mide için normal peristaltik aktivitenin dakikada 3 ila 5 kontraksiyon olduğu bildirilmiştir. (9) Bu seslerin artması bağırsak peristaltizminin arttığını gösterir ve ishal,

parsiyel veya tam ileus gibi durumlarda görülür. Bağırsak peristaltizminin azaldığı ve intestinal obstrüksiyon durumlarında ise bu sesler azalır veya hiç duyulmayabilir. Üçüncü aşama ise perküsyondur. Perküsyonu takiben gelen son aşama ise abdominal palpasyondur. Abdomen muayenesinde palpasyon hem yüzeysel hem de derin olarak yapılır. İlk başta bütün katmanlar yüzeysel olarak palpe edilir. Yüzeysel palpasyon sırasında parmaklar bastırılmaz, karın hafifçe kontrol edilir. Sonrasında derin palpasyona geçilir. Derin palpasyonda parmaklar daha çok bastırılır. Ağrı, asites ve kitle varlığı kontrol edilir.(7) Hastanın ağrıya tepki verdiği bir bölge varsa, o bölgenin detaylı muayenesi yapılır. Bunların yanında GI sistem muayenesinde kullanılan, yapısal lezyonlarına ve anormal GI motilitesine neden olan hastalıkları, tanısal görüntüleme teknikleri (radyografi ve ultrasonografi gibi rutin ve endoskopi, manyetik rezonans gibi daha ileri) kullanılarak potansiyel olarak saptanabilir.(9,10)

3. Gastroenteritis

Gastroenteritis, mide ve bağırsak yollarının iltihabını belirtmek için kullanılan geniş bir terimdir. Köpeklerde ve kedilerde akut başlangıçlı kusma, anoreksi ve ishalin yaygın bir nedenidir ancak pankreatit, azotemi, hepatit ve bağırsak tıkanıklığı gibi benzer klinik belirtilere neden olabilecek diğer sorunlardan ayırt edilmelidir. Gastroenteritin çeşitli nedenleri vardır ve altta yatan nedeni belirlemek çoğu zaman mümkün değildir. Çeşitli enfeksiyöz ajanlar GI sistemi etkileyebilir. Gastroenteritis gelişimine virüsler, bakteriler, parazitler, protozoalar ve mantarların neden olduğu rapor edilmiştir. Beslenme bozukluğu, toksinler, immun supresyon ve metabolik bozukluklar dahil olmak üzere çok çeşitli altta yatan nedenlere bağlı gastroenterit gelişebilir. Kapsamlı bir anamnez ve fiziksel muayene, altta yatan bir nedeni ortaya çıkarmaya yardımcı olabilir, ancak genellikle rutin klinik muayeneler ile belirli bir neden ortaya konamaz. (10) Akut başlangıçlı GI semptomlar, veterinerlik pratiğine başvurma yaygın bir nedendir.(8) Çok yaygın olmasına rağmen, kedi ve köpeklerde akut kusma ve/veya ishalin üstesinden gelmek zor olabilir. Kapsamlı bir anamnez, gastroenteritin altında yatan nedeni belirlemek için kritik önem taşır. Sorular hastanın mevcut beslenme şekli, beslenme şeklindeki son değişiklikler ve olağandışı gıdalara, yabancı maddelere, çöplere veya toksinlere maruz kalma ile ilgili olabilir. Hemorajik gastroenterit (HGE) veya parvoviral enterit gibi ciddi vakalarda, ciddi sıvı kayıpları ve asit-baz bozuklukları nedeniyle hastalarda hipovolemi ve şok belirtileri görülebilir. (8,9,10)

4. Gastroenteritis İçin Tanısal Metotlar

4.1. Anamnez

Hasta geçmişi veya anamnez verisi, fiziksel muayene ve kan analizi gibi temel muayeneler, klinik belirtileri birincil GI veya ekstra gastrointestinal bir duruma ikincil olarak sınıflandırmak için genellikle yeterli bilgi sağlar. Kedi ve köpeklerde akut GI belirtilerin yönetimi bazen zor olabilir. Altta yatan bir ekstra-gastrointestinal durum ekarte edildikten sonra, klinisyen klinik belirtilerin ciddiyetini değerlendirmeli ve uygun bir tanısal ve terapötik yaklaşıma karar vermelidir. Ayrıca anamnestik veri kapsamında sorulan sorular, hastanın mevcut gıdası, beslenme rutinindeki değişiklik ve alışılmadık yiyeceklere, yabancı maddelere, çöplere veya toksinlere maruz kalmasıyla da ilgili olabilir. Diğer hayvanlarla temas da dahil olmak üzere hastanın yaşam alanı hakkında bilgi edinmek ve maruz kalan diğer hayvanların benzer belirtilere sahip olup olmadığını öğrenilmesi de gastroenteritin etiyolojisinin tespitinde önemli bilgi sağlayabilir. (9,10)

4.2. Fiziksel Muayene

Gastroenterit gelişmiş hastalarda kapsamlı bir fiziksel muayene yapılmalıdır. Bu kapsamda değerlendirilmesi gereken parametreler vücut kondisyon skoru, dehidratasyon varlığına veya yokluğu, hipovolemi varlığı veya yokluğu, oral mukoza zarlarında solgunluk veya sarılık, abdominal palpasyon, rektal muayene ve rektal sıcaklıktır. Kötü vücut kondisyonu, dehidrasyon, hipovolemi, ateş, solgun/sarı mukozalar, anormal abdominal palpasyon (ağrı, kitle ve asites gibi) ve GI kanaması (melena, hematokezya ve hematemez gibi) önemli bulgulardır ve bunların varlığı klinik yönetim gerektirir. Ayrıca daha ciddi bir şekilde etkilenmiş hayvanlarda hastalarda ciddi sıvı kayıpları ve asit-baz bozuklukları nedeniyle hipovolemi ve şok belirtileri de tespit edilebilir. (11)

4.3. Laboratuvar Muayenesi

Tam kan hücresi sayımı veya packed cell volüm (PCV) ölçümü ve kan frotisi değerlendirmesi, serum biyokimyası – albümin, üre, kreatinin, karaciğer enzim aktivitesi bilirubin, kolesterol ve glikoz – ve elektrolit ölçümü, temel laboratuvar çalışmasının bir parçasıdır. Genç hayvanlar, eksik aşılama protokolü, hemorajik kusma ve/veya ishal ve nötropeni gibi şüpheli vakalarda dışkı materyali üzerinde Parvovirus yönünden hızlı tanı test kitleri ile veya polimeraz zincir reaksiyonu ile araştırma tanı paneline dahil edilmelidir. Parvoviral enterit

gibi daha spesifik durumlar dışında gastroenterit olgularının çoğunda genellikle bu laboratuvar testlerinin sonuçları normaldir ve gastroenterite neden olan patojeni belirlemeye klinik olarak yardımcı olmayabilir. (12)

4.4. Görüntüleme Teknikleri

Kapsamlı bir anamnez alındıktan, ayrıntılı bir fizik muayene yapıldıktan ve rutin analizler tamamlandıktan sonra, hasta ciddi anormalliklerin varlığına bağlı olarak komplike olmayan veya komplike GI belirtilere sahip olarak sınıflandırılabilir. İlki semptomatik olarak yönetilebilirken, ikincisi durumunda daha fazla araştırma ve/veya özel yönetim gerekli görülür. Akut gastroenterit vakalarında dışkı kültürü yaygın olarak önerilmez. Bazı hastalarda kesin tanı koymak ve cerrahi hastalığı ekarte etmek için karın ultrasonografisi ve/veya karın radyografisi de gerekli olacaktır.(8) Gastrointestinal sistem hastalığı bulguları olan bir hayvana hem radyografi hem de ultrasonografi planlansa bile, ultrasonografiden önce öncelikle göğüs ve karın radyografilerinin alınması ve bunların incelenmesi sıklıkla tavsiye edilir. Bunun başlıca nedeni, tek başına radyografilerin belirli GI hastalıkları ile kombinasyon halinde ortaya çıkabilen önemli torasik lezyonlarının değerlendirilmesine olanak tanınmasıdır. Ayrıca, tüm karın sadece bir veya iki radyografide gösterildiğinde, karın organlarının yer değiştirdiğini anlamak, ultrason taramasına göre genellikle daha kolaydır. Ultrasonografi, örneğin çalışma için uygun akustik pencereleri seçerken organların yer değiştirmesi hakkında önceden bilgi sahibi olunarak kolaylaştırılabilir. Alternatif olarak, bir hastalığın temel ayırıcı bulgularının görüntülenmesi için, ayırıcı tanıya yardımcı spesifik bir tanısal görüntüleme yöntemi seçilebilir. (10,12) Genel bir kural olarak, birincil olarak bağırsak lümenini etkileyen anormallikler radyografi ile teşhise en uygunken, birincil olarak GI duvarını veya ekstraluminal yapıları etkileyen lezyonlar ultrasonografi ile tanıya en uygun olanıdır. (13)

Ultrasonografi, yüksek hassasiyet ile birçok yaygın hastalığı teşhis etmek için kullanılabilir. Plastik, kumaş ve ahşap gibi maddeler, veterinerlik bakımında görüntüleme yöntemlerinde ilk başvuru olan yöntem olmaya devam eden düz film X-ışını gibi radyografik testlerle tipik olarak görüntülenemez. Melbourne Üniversitesi Veteriner Kliniği ve Hastanesi, 2006 yılında, tarama radyografisi ve ultrasonografinin gastrointestinal yabancı cisimleri belirlemedeki etkinliğini karşılaştıran bir çalışmada (14), ultrasonografinin çalışmaya dahil edilen yabancı cisim varlığından şüpheli 16 pet hayvanının tamamında gastrointestinal yabancı cisim tanımladığı, buna rağmen radyografik olarak bu hayvanların sadece 9'unda

yabancı cisimlerin belirlenebildiği bildirilmiştir. Ober ve arkadaşları tarafından 2008'de yapılan benzer bir çalışma, ultrasonografinin, özellikle bir köpeğin ekstremitesindeki tahta kıymıkla ilgili olarak, yabancı cisimleri bulmada %100 özgüllük oranına sahip olduğunu göstermiştir.(15)

Tarama radyografisi ve kontrast radyografisi, uzun yıllardır küçük hayvan GI yolunu incelemek için kullanılan başlıca tanısal görüntüleme teknikleri olmuştur. Çeşitli kontrast radyografik teknikler geliştirilmiştir ve çok çeşitli GI bozukluklarındaki radyografik bulgular, onlarca yıldır fazla kullanımla belgelenmiştir; bununla birlikte, GI kanalının kontrastlı radyografisi potansiyel olarak zaman alıcı bir prosedürdür ve genellikle birden fazla görüntüleme gerektirir ve optimal yorumlama deneyimi gerektirir. Optimal koşullar altında bile, birçok GI durumu için radyografinin duyarlılığı ve özgüllüğü sınırlıdır; örneğin, mide ve pankreası etkileyen lezyonlar sıklıkla saptanmaz. Gastrointestinal sistemin değerlendirilmesinde kontrast radyografinin üstün rolü artık endoskopi ve ultrasonografi tarafından sorgulanmaktadır. (13)

Küçük hayvanlarda gastrointestinal hastalıkların teşhisi için ultrasonografinin artan bir şekilde kullanılmasına yönelik bir eğilim vardır ve ultrasonografi, birçok veteriner merkezi ve kliniğinde GI kontrast radyografinin yerini almıştır. Ultrasonografi, kontrast radyografiden daha az zaman alıcı olması ve iyonlaştırıcı radyasyon kullanımını içermemesi gibi pratik avantajlar sunar, ancak optimal GI ultrasonografi nispeten yüksek çözünürlüklü ekipman ve özel bir operatör gerektirir. (15)

Ultrasonografi, küçük hayvan pratiğinde önemli bir teşhis aracı olduğu gibi, abdominal ultrasonografi ise küçük hayvanlarda abdominal yapıların çoğunu incelemek için kullanılır. Anamnez, fiziksel muayene ve diğer teşhis testleri ile elde edilen bilgileri destekleyen hızlı, invaziv olmayan bir tekniktir. Ultrasonografi doğası gereği spesifik değildir, ancak ultrason kılavuzluğunda invaziv prosedürlerle tanı elde etmek için araçlar sağlar. (16) Deneyimli ultrasonografi uzmanlarının ellerinde abdominal ultrason, birçok durumda GI kontrast çalışmalarına duyulan ihtiyacın yerini alarak hastaya zaman, para tasarrufu sağlar. Radyasyona maruz kalmasını önler.(17) Ultrasonografi, kusmaya neden olabilecek bir dizi bozukluğun tanısal çalışmasında yararlı olabilmektedir. Ultrasonografi ile tespit edilebilecek problemler arasında karaciğerin belirli rahatsızlıkları (örneğin, enflamatuar hastalıklar, apse, siroz, neoplazi, damar problemleri) ve safra kesesi ve safra yolları (kolesistit, safra taşı, safra kanalı tıkanıklığı), GI yabancı cisimler, bağırsak ve gastrik duvar kalınlaşması, bağırsak kitleleri, instususepsiyon, böbrek bozuklukları, pankreatit

ve diğerleri vardır. Ultrason rehberliğinde birçok bölgede iğne aspirasyonları ve/veya yapılabilir. Ultrasonografi, bağırsak ve pankreas ve lenf düğümleri gibi yardımcı organları etkileyen morfolojik lezyonlar için hassas ve çok yönlü bir modalite olduğunu kanıtlamaktadır ve GI sistemin farklı anatomik bölgelerinin tespitinde de radyografi ve endoskopiye alternatif olarak kullanılabilir.(13)

5. Ultrason Ve Ultrasonografinin Veteriner Hekimlikte Kullanımı

Ultrasonografinin küçük hayvan veteriner hekimliğinde kullanımı, neredeyse beşeri tıp alanında tanı amaçlı tıbbi ultrasonografi kullanımı kadar eski bir geçmişe sahiptir. 1960'lerden başlayarak, ultrasonografiler, insanlarla aynı nedenlerin çoğu için hayvanlarda klinik olarak endike olmuştur. Küçük hayvan veteriner ultrasonografisi, tüm veterinerlik tıbbi alanını büyük ölçüde etkilemiştir. 1966'da piyasaya sürülmesinden bu yana önemi hafife alınmaz. İnsan ultrasonografi uzmanlarının yüksek kaliteli teşhis muayeneleri yapmak için insan vücudunun anatomisini erkeklerde veya kadınlarda farklı etnik kökenlerde daha yaygın olan patolojileri öğrenmesi gerektiği gibi, veterinerlik ultrasonografi uzmanları da, yalnızca inceledikleri türün anatomisini ve fizyolojisini değil, aynı zamanda türe özgü tüm patolojileri de bilmelidir. Hayvan bakımı için çok önemli olduğu kadar zorlu bir alandır. Küçük hayvanlarda tıbbi bakımı önemli ölçüde iyileştiren ultrasonografi, insan ultrasonografisinininkine benzer teşhis yeteneği ve birçok faydası olan, büyüyen bir görüntüleme yöntemidir.(19)

Ultrasonografi hızlıdır, invazif değildir ve veteriner hekimlerin teşhis ve tedavi yeteneklerini büyük ölçüde artırabilir. Veteriner ultrasonografisi, küçük bir farkla, insan tıbbındaki benzer ekipman ve protokolleri kullanır. Ultrasonografi, veteriner hekimliği alanında temel bir görüntüleme yöntemi haline gelmekte ve popüleritesi her geçen yıl artmaktadır. Ultrasonun veteriner hekimlikte teşhise yardımcı olarak ilk kez koyunlarda gebeliğin saptanması için kullanılmıştır. (20)

Veteriner ultrasonografi birçok farklı durumda kullanılmaktadır. Veteriner kliniklerinde, kapsamlı bir tarama aracı olarak hizmet ettiği için, ultrasonografi genellikle nedeni bilinmeyen herhangi bir kronik hastalık süreci için endikedir. Genel veterinerlik uygulamalarında ultrason istemenin en yaygın endikasyonu, kronik olarak yükselmiş karaciğer enzimleridir. (14) Ne yazık ki, bir kitle tanımlanmadıkça, yükselmiş karaciğer enzimlerinin nedeni genellikle kesin değildir. Veteriner hekimlikte ultrasonografinin diğer birincil kullanımı ise neoplazmaların tanımlanması ve daha spesifik olarak kanser evrelemesidir. (21,22) Diğer yaygın endikasyonlar ise üriner sistem bozuklukları,

gastrointestinal hastalık, endokrin bozukluklar, neoplazi, travma, idiyopatik ateş ve immün aracılı hastalıkların muayenesidir.(20)

Tanısal ultrasondaki son gelişmeler, bilgisayar endüstrisindeki eşzamanlı gelişmelerden ve ekipman tasarımını önemli ölçüde etkileyen bileşen parçalarının boyutlarındaki azalmadan kaynaklanmıştır. Ultrason makineleri şu anda çok çeşitli boyutlarda mevcuttur. Pille çalışan elde taşınan ultrason tarayıcıları mevcuttur. (23) Başlangıçta küçük hayvanlarda kullanılması amaçlanmış olsa da, bu tür ekipman artık filler (24,25) ve gergedan (26) dahil olmak üzere çiftlik, vahşi ve tutsak nesli tükenmekte olan türlerin üreme yönetimine yönelik koruma projelerinde giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bu cihazların tümü, B ve M modu gerçek zamanlı görüntüleme yeteneğine sahiptir. Ek olarak bir çoğu artık renkli akış Doppler'i de dahil ederek, yapılabilecek incelemelerin kapsamını arttırmaktadır. Tüm ultrason cihazları, bireysel görüntülerin yakalanmasına ve gösterilmesine izin verir. Bilgisayar teknolojisini tıbbi ultrasonla birleştirmek, verilerin daha uygun bir şekilde görüntülenmesine yardımcı olabilir. Bununla birlikte, gelişmiş son işlevleri, operatöre görüntü kalitesini optimize etme konusunda daha fazla olanak vermiş, dolayısıyla çok daha üstün görüntülerin ve Doppler izlerinin üretilmesine olanak sağlamıştır. (27) Ayrıca, üç boyutlu görüntülerin gerçek zamanlı olarak izlendiği dört boyutlu ultrason artık mevcuttur.

İnsanlar üzerinde ultrasonografi kullanımına benzer şekilde, veteriner ultrasonografi uzmanının bir muayene sırasında mümkün olan en iyi çözünürlüğü elde etmek için problemleri sık sık değiştirmesi gerekebilir bu hazırlıkta önemli bir faktördür. Planlanmış bir ultrason muayenesine alınacak olan hayvanlar, mümkün olduğunca ideal olarak aç bırakılmalıdır. (28)

Ultrasonografi için özel olarak ayrılmış bir ultrason makinesi, özellikle kafes kenarına taşınabilen taşınabilir bir ultrason makinesi şiddetle tavsiye edilir. Taşınabilir bir makine mevcut değilse, özel ultrason makinesi triyaj/görüntüleme alanında yerleştirilmiş halde kalmalıdır. Hasta makineye değil, makine hastaya getirilmelidir. B modu bir mikro dışbükey eğrisel prob, ultrasonografi için idealdir. Frekans ayarları tipik olarak 5MHz (köpekler > 20 kg) ila 7MHz (köpekler ve kediler \leq 20kg) arasındadır. Hayvanlarda transrektal veya transkütan ultrason taraması için, prosedür tamamen non-invaziv olduğundan ve iyi tolere edildiğinden, hiçbir sedasyon gerekmez. Ultrason muayeneleri tipik olarak hastanın tüyelerinin traş edilmesini gerektirmez fakat karın ultrasonu uygulanan bir hayvanın tüylerin içinde hapsolmuş havanın etkilerini ortadan kaldırmak ve ses dalgası iletkenliğini artırmak için ksifoidden pubise kadar karın

bölgesinin tamamen tıraş edilmesi görüntüyü daha net, temiz görüntülememizi sağlar. Tüyler ayrılabilir ve tarama bölgesi üzerine alkol uygulanabilir. Kalın tüy yapısı nedeniyle görüntü kalitesi düşükse (örneğin bazı Kuzey köpek ırkları) veya daha fazla ayrıntı isteniyorsa, tüyleri tıraş etmek ultrasonografik görüntüyü iyileştirebilir. Alkol genellikle tek akustik iletim maddesidir. Alkol bazlı el jelleri kullanılabilir. Ultrason ileten jel tek başına kullanılabilir veya görüntü kalitesini artırmak için alkol uygulandıktan sonra uygulanabilir; görüntü alımını engelleyebilecek hava kabarcıklarının oluşumunu önlemek için jel cilde karşı düzleştirilmelidir. Hastalar ayakta, sternal veya lateral (sol veya sağ) yatar pozisyonda taranabilir. Yan yatar pozisyonda taranan hastalar, ultrasonografi muayenelerinin altta kalan bölgelerine erişmek için sternal pozisyona döndürülebilir. (28,29)

6. Gastrointestinal Sistemin Ultrasonografik Muayenesi

Gastrointestinal sistemin görüntülenmesi, veteriner hekimliğin önemli bir parçasıdır ve insanların ultrasonografi uzmanları yetkin değildir. Gastrointestinal sistem mide, duodenum, jejunum, ileum, sekum ve kolondan oluşur. Bu bölgelerin görüntülenmesi gaz ve artefakt nedeniyle zor olabilir, ancak doğru teşhis için bu görüntüleme yöntemi oldukça önemlidir. Abdominal ultrason bakılan hayvanların aç bırakılmaları halinde daha iyi görüntüleme sağlanır.(30, 31) Mide duvarı ve bağırsaklardaki değişikliklere adenokarsinom, lenfoma, polipler, kronik gastrit, üremik gastrit ve ülserler neden olabilir. (32) İnce bağırsaklar histolojik katmanların 4'ünü de göstermelidir: seroza, muskularis, submukoza ve mukoza.(31) İnce bağırsak ayrıca yabancı bir cisimden kaynaklanan basit bir tıkanıklık için ortak bir yerdir.(22) Kolon çok daha ince katmanlara sahiptir ve hava artefaktı nedeniyle lümen tipik olarak görünmez. Gastrointestinal sistemin ultrasonografik olarak görüntülenmesi sırasında invajinasyon da teşhis edilebilir. (28,31)

Ultrasonografik muayeneden önce anamnezin alınması, klinik patolojik verilerin değerlendirilmesi ve klinik muayenenin yapılması gerekmektedir. Böylece ultrasonografi için uygun organ seçilmiş olur. Tanıda ultrasonografi yanında radyografi de gerekli olabilmektedir. Örneğin, intestinal obstrüksitelerde kontrast radyografi kullanımı ultrasonografiye göre intestinal pasajın tespitinde daha önemli olsada her ikisinin kombinasyonu daha detaylı bilgi sağlayabilir. Kusma veya abdominal ağrı gibi gastrointestinal kanalla ilgili klinik semptomlar gösteren küçük hayvanlarda, abdominal ultrasonografi, radyografi ve gastrointestinal kanalın kontrast maddeler verilerek incelenmesi tanıda yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte ultrasonografi de belli başlı

bağırsak lezyonları için faydalı bir tanı aracıdır. Köpek ve kedi GI sisteminin normal ve anormal ultrason görünümüne aşinalık, GI hastalığının teşhisinde belirgin bir avantaj sağlar. Gaz tam görüntülemeyi engellese de, birçok durumda ultrason şüpheli hastalığı doğrulayabilir veya ekarte edebilir. GI sistemin ultrasonunun karın radyografilerine olan ihtiyacı ortadan kaldırmadığına dikkat edilmelidir. İki görüntüleme yöntemi tamamlayıcıdır ve her biri ayrı ayrı bilgi sahibi olmamızı sağlar. GI sistemin ultrasonla değerlendirilmesi, bağırsak duvar kalınlığı ve katmanları, motilitenin değerlendirilmesi ve lenf nodüllerinin ve periton gibi önemli bitişik yapıların görüntülenmesi hakkında bilgi sağlar. (17)

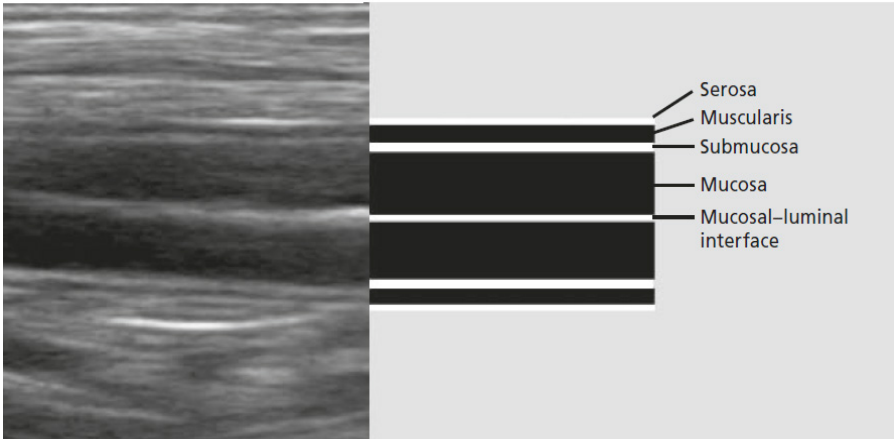
Teknikler ve yaklaşımlar hastanın yapısına ve pozisyonuna göre bir miktar değişiklik gösterir. Hastanın dorsal yatar pozisyonda taranması GI kanalının nispeten tam olarak değerlendirilmesini sağlar, ancak mide ve bağırsağın ayrı bölümlerinde gaz ve sıvıyı yeniden dağıtmak için sağ ve sol lateral yatar pozisyon gerekli olabilir. Sağ lateral kostalar arası pencereler, derin göğüslü köpeklerde pilorus ve proksimal duodenumun görüntülenmesinde genellikle yardımcı olur. Ayakta duran köpek veya kedinin ventral karnının taranması, pilorus ve mide gövdesinin daha iyi görüntülenmesini sağlayabilir. Çoğu hastada, mide, ince bağırsaklar ve kolon duvar kalınlığı ve katmanlarının daha iyi görüntülenmesi için yüksek frekanslı bir dönüştürücü (7.5 MHz veya daha yüksek) kullanılır. Sektör veya konveks probalar, bu problemlerin daha küçük temas alanları nedeniyle interkostal pencereler için en iyileridir. Mide, probu karaciğer konumundan sola doğru kaydırarak bulunur. Karaciğerin kaudalinde görülür. Duvar katmanları tanımlanabilir. Bağırsak için özel bir teknik yoktur. Mideden anüse kadar takip edilemez. Probu hayvanın solunda (sağ yan yatma) ve sağ tarafında (sol yana yatma) bir “kale” şeklinde kaydırmak, görünür döngülerin değerlendirilmesine ve bağırsak katmanlarının tanımlanmasına olanak tanır. Köpek midesine karaciğerin hemen kaudalinde, ksifoid seviyesinde erişilebilir. Kedilerde mide fundusu ve gövdesi sol taraflı yapılardır ve pilorus daha orta hatta yer alır. Her iki türde de, sol taraftaki dorsal fundus ventral olarak sağa, pilorusa doğru takip edilmelidir. (31)

Birçok hastada, intraluminal gaz sadece yakın duvarın görüntülenmesine izin verir. Reverberasyon artefaktı ve gölgelenme, ekojenik gaz arayüzünün derinliklerinde uzanarak lümeni ve proba uzak duvarları maskeler. Derin göğüslü olmayan köpeklerde veya hepatomegalisi olan köpeklerde, pilorus genellikle ventral abdominal pencereden proksimal duodenuma kadar takip edilebilir. Kedilerde, pilorik-duodenal bileşke de dahil olmak üzere midenin tüm kısımları yaygın olarak görülür. Köpeklerde inen duodenum sürekli olarak sağ lateral karın duvarı boyunca, sağ böbreğin hemen ventralinde veya medialinde

ya da lateralinde yer alır. Köpekte, inen duodenumun çapı daha büyüktür ve komşu jejunal segmentlere göre kranialden kaudale doğru daha doğrusal bir yol izler. Kedi duodenumu orta hata daha yakındır ve jejunum ile aynı çaptadır. Baryum kontrast çalışmalarında sıklıkla görülen “inci dizisi” işaretini temsil edecek şekilde bölümlere ayrılmış görünebilir. Her iki türde de, duodenal papilla proksimal duodenuma giren küçük bir fokal nodül olarak görüntülenir. Jejunal bağırsak halkaları karın boyunca bulunur. (17)

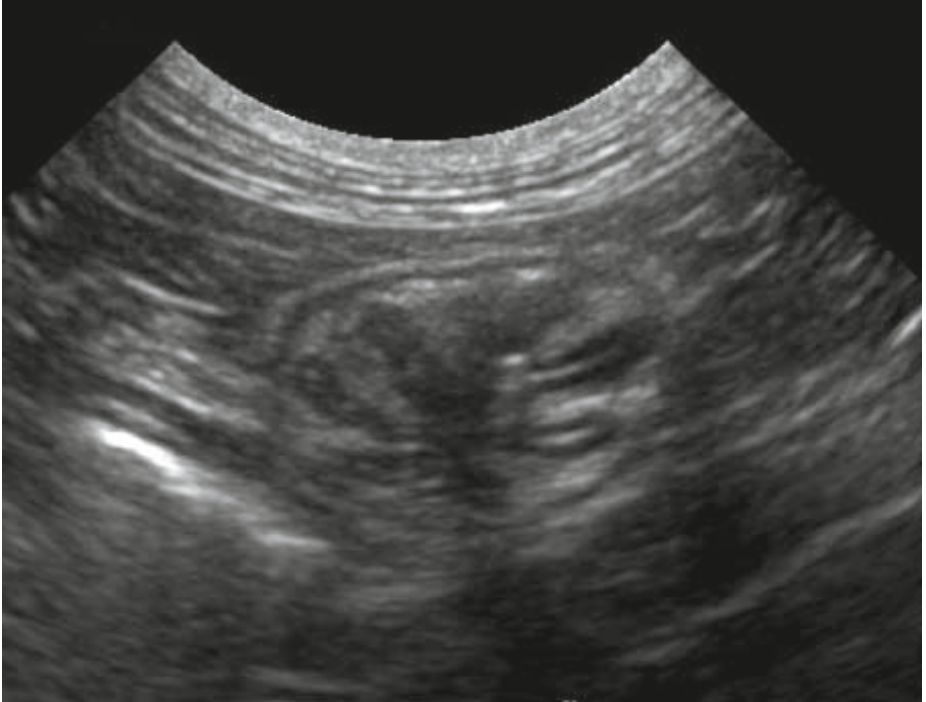
7. Normal Ultrasonografik Görünüm

Mide ve bağırsak duvarında beş farklı katman görülür. Merkezde parlak hiperekoik bir mukozal-luminal arayüz görülür. Bu ara yüzün periferinde hipoekoik mukozal tabaka ve ardından ince bir hiperekoik submukoza bulunur. Periferik olarak devam eden ince bir hipoekoik muskularis tabakasını en dıştaki hiperekoik seroza izler (Şekil 1). Mukozal tabaka normalde ince bağırsaktaki diğer tabakalardan daha kalındır. Midede ise muskularis tabakası mukozal tabakaya eşit kalınlıktadır. Duvar katmanları en iyi yüksek frekanslı bir prob ile incelenir. Bağırsaklar ve mide için normal duvar kalınlıkları yayınlanmıştır. Köpekte duodenal ve jejunal kalınlık vücut ağırlığına bağlıdır. Tüm duvar kalınlığı ölçümleri iç mukozal arayüzden serozanın dış tarafına kadar alınır. Duvar kalınlığını değerlendirmek, lümenin bazen mukozadan ayrılmasının zor olduğu kollabe midede zor olabilir. (17,20,31)



Şekil 1. Uzun eksenli boyunca normal bir ince bağırsak segmentinin ultrasonografisi (solda) ve diyagramı (sağda). Gastrointestinal sistemin normal duvarı, kalın bağırsakta ve düşük çözünürlüklü ekipmanlarla anlaşılması daha zor olan beş katmana sahiptir. (17)

Mide duvarı ölçümleri yapılırken, kalınlıkta yapay artıştan kaçınmak için rugal kıvrımlar arasında ölçüm yapmak önemlidir. Normal ancak kasılmış midede duvar yanığıyla kalınlaşmış olarak görülebilir. (17) Mide bazen boştur ancak genellikle gaz, sıvı veya ingesta içerir. Gıda kümeleri peristaltizm ile hareket eden hipoekoik yapılar olarak görünür. Gerçek kitle lezyonlarının aksine, zaman içinde seri muayeneler yapıldığında yiyecekler devam etmez. Mide boşken, belirgin rugal kıvrımlar görülebilir. Bunlar özellikle kedide belirgindir ve bir tekerleğin parmaklıklarını andırır. Genellikle boş olan ince bağırsaklar sıvı veya gaz ve bazen de ingesta içerebilir. Fekal materyal ve gaz tipik olarak kolonu doldurarak duvar ölçümlerini zorlaştırır. Kedilerde terminal ileum genellikle kolona girerken görülebilir. İleum, kedi bağırsağının diğer kısımlarına göre daha belirgin bir muskularis ve submukoza tabakasına sahiptir ve enine kesitte görüldüğünde bir “vagon tekerleğini” andırır (Şekil 2). (33) GI hareketliliği peristaltik dalgaların sayılmasıyla değerlendirilebilir. Tipik olarak, mide ve ince bağırsaklar dakikada yaklaşık üç ila beş kasılma geçirir. (1)



Şekil 2. Boş midenin normal vagon tekerleği görünümü. Bu görüntü fundusun rugaların en belirgin olduğu bölgeyi göstermektedir. (17,33)

7.1. İntestinal Duvar Kalınlığı

Daha yüksek çözünürlüklü ekipmanla, genellikle gastrointestinal duvarların beş ayrı katmanını belirlemek mümkündür (sağ üstteki şemaya bakın). Dıştan lüminal yüzeylere doğru bu katmanlar seroza, muskularis, submukoza, mukoza ve mukozal-lüminal arayüzdür. Mukoza normalde muskular tabakadan daha kalındır. Görüntü kalitesi düşükse (teknik veya hasta faktörlerinden dolayı) tek tek duvar katmanlarını belirlemek mümkün olmayabilir. Genellikle mevcut ekipmanla elde edilen görüntü kalitesine aşına olmak önemlidir, böylece teknik faktörlerden kaynaklanan belirsiz katman yapısı patolojik olarak yanlış yorumlanmaz. Mide ve barsak segmentleri kısa ve uzun eksenleri boyunca incelenmeli ve duvar tabakası, lümen içeriği, duvar kalınlığı, duvar simetrisi ve hareketliliği açısından değerlendirilmelidir. Değişiklikler tanımlanırsa, yaygın mı yoksa odaklar halinde mi oldukları not edilmelidir. Gastrointestinal sistemin duvarları serozadan lümen yüzeyine kadar ölçülmelidir. İdeal olarak, duvar kalınlığının olduğundan fazla tahmin edilmesini önlemek için ilgilenilen segment kısa eksenini boyunca görüntülenmelidir. Tablo 1’de normal gastrointestinal duvar kalınlığı bilgileri verilmiştir. (34)

Tablo 1. Kedi ve köpeklerde mide ve barsak bölümlerinin normal duvar kalınlıkları (17,34)

GI Segmenti	Köpek (mm)	Kedi (mm)
Mide	3-5	1.1-3.6
Duodenum	2-6	1.3-3.8
Jejunum	2-4.7	1.5-3.6
Ileum		2.5-3.2
Kolon		1.1-2.5

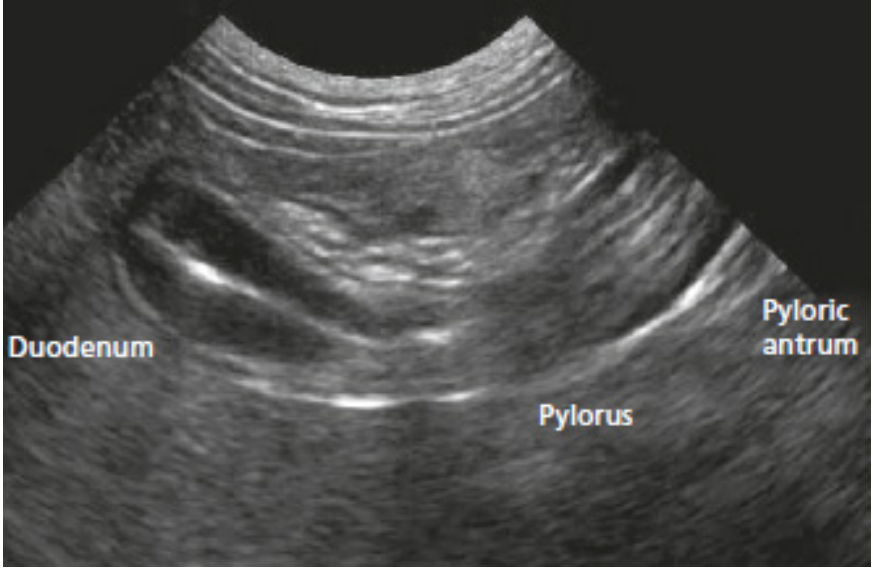
7.2. İntestinal Lümen İçeriği

Gastrointestinal lümen boş olabilir veya gaz, sıvı, içerik (ingesta) içerebilir. Farklı luminal içeriklerin her biri, sırasıyla gaz, sıvı, ingesta ve mukus paternleri olarak bilinen farklı bir ultrasonografik görünüme sahiptir. Gaz veya gıda varsa, proba uzak olan duvar akustik gölgeleme ile kapatılabileceğinden, yalnızca proba en yakın duvarı değerlendirmek mümkün olabilir. (34)

7.3. Midenin Ultrasonografik Görüntüsü

Mide, karaciğerin hemen kaudalinde yer alır ve sagittal tarama düzleminde en kolay şekilde bulunur. Kaudalde, sol pankreatik uzuv ve transvers kolon

ile yakından ilişkilidir. Mide fundusu sol kraniyal kadranda yer alır ve dalak başını sınırlar. Köpeklerde midenin luminal uzun eksen, pilor orta hattın sağında olacak şekilde omurgaya dik olarak yönlendirilmiştir. Kedilerde mide daha köşeli bir şekle sahiptir ve pilorik antrum orta hatta konumlandırılmıştır (Şekil 3).(34)



Şekil 3. Birçok vakada piloru, pilorik antrum ile proksimal duodenum arasındaki kısa bir bölge olarak değerlendirmek mümkündür. (17,34)

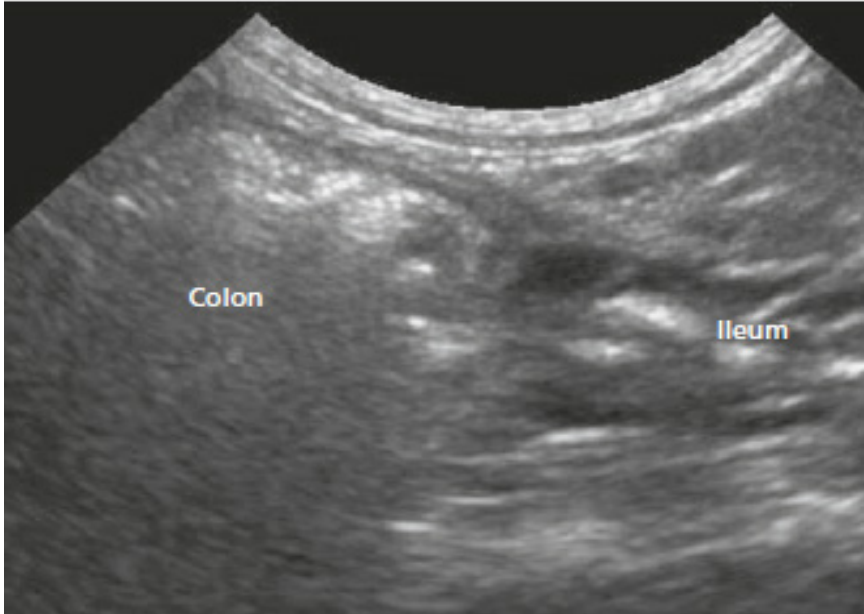
Midenin görünümü büyük ölçüde lümen içeriğinin türüne ve miktarına bağlıdır. Boşsa, özellikle kedilerde katlanmış ya da tekerlek gibi görünebilir. Ruga kıvrımları en çok fundusta belirgindir ve pilorik antruma doğru küçülür. Pilor, proksimal duodenum ile pilorik antrum arasında kısa bir bölge olarak tanımlanabilir. (35)

7.4. İnce Barsakların Ultrasonografik Görüntüsü

İnen duodenum ve distal ileum tutarlı bir pozisyonda tanımlanabilir ancak geri kalan ince bağırsak segmentleri karın boyunca dağılmıştır. Bu nedenle, ayrıntılı bir inceleme sağlamak için dönüştürücüyü karın üzerinde sistematik olarak hareket ettirmek gerekir (örneğin, menderes şeklinde). Normal ince bağırsak kıvrımları belirgin bir katmanlaşmaya sahiptir. Uzun eksen boyunca bakıldığında paralel katmanlara sahip tübüler ve kısa eksen boyunca kahve

çekirdeği şeklinde görünürler. Bunun istisnası, özellikle kedilerde, kısa eksen boyunca bakıldığında bir araba tekerleği görünümüne sahip olan terminal ileumdur. Aç bir hastada, az miktarda gaz veya sıvı bulunabilmesine rağmen, ince bağırsak kıvrımları tipik olarak mukoza paterni gösterir. Aç kalmış bir hastada, az miktarda gaz veya sıvı bulunabilmesine rağmen, ince bağırsak kıvrımları tipik olarak mukozal yapıdadır. (34,35)

İnen duodenum, sağ kraniyal karında düz bir seyir gösteren en dorsal ince bağırsak kıvrımı olarak tanımlanabilir. Pilor ve inen duodenumun gazla dolma olasılığı daha düşük olduğundan, hastayı sağ lateral yatar pozisyonda alttan muayene etmek yararlıdır. Bununla birlikte, derin göğüslü köpeklerde, en kraniyal kısımların görüntülenmesi için sol lateral yatış pozisyonunda hasta ile sağ interkostal bir yaklaşım gerekebilir. Köpeklerde, duodenal duvar kalınlığı ince bağırsak segmentlerinden 1 mm daha fazla olabilir. Bazen, duodenal papilla, normal köpeklerin ve kedilerin proksimal duodenal duvarında yuvarlak hiperekoik yapılar olarak görülebilir. Terminal ileum, hasta sol yan yatış pozisyonundayken sağ dorsal kadranda, kostal arkın biraz kaudalinde, ileosekokolik bileşkenin yakınında tanımlanabilir. Sekum kedilere kıyasla daha fazla gaz içerdiğinden ileosekokolik bileşkenin tanımlanması köpeklerde genellikle daha zordur (Şekil 4). (34)



Şekil 4. Bir kedide ileosekokolik birleşimin normal ultrasonografik görünümü. (17,34)

7.5. Kalın Barsaklar

Kalın bağırsağın ultrasonografik görünümü, lümeninde bulunan büyük miktarda gazın neden olduğu akustik gölgelenme veya yankılanma artefaktları ile karakterizedir. Bu nedenle, genellikle yalnızca proba en yakınındaki duvarı değerlendirmek mümkündür. Kalın bağırsağın duvarları ince bağırsağinkilerden daha ince olduğundan, her vakada tek tek katmanları görüntülemek mümkün olmayabilir. İleokaekolik bileşke, görünür olduğunda, sağ dorsal batında görülebilir ve buradan çıkan kolon kranial olarak takip edilebilir. Transversal kolon midenin kaudalinde konumlanır ve inen kolon sol karın duvarı boyunca kaudalde takip edilebilir. Rektumun intrapelvik konumu bu segmenti ultrason muayenesi için daha az uygun hale getirir. (34,35)

8. Gastrointestinal Sistemin Anormal Ultrasonografik Bulguları

8.1. Mide

Midenin anormal konumuna değinecek olursak karaciğerle olan yakın ilişkisi nedeniyle midenin konumu karaciğerin boyutundan etkilenir ve mikrohepatia vakalarında daha kranialde, hepatomegali olduğunda ise daha kaudalde bulunabilir. Diyafragma rüptürü vakalarında da mide daha kranial konumda olabilir, ancak küçük diyafragma defektleri ultrasonografik olarak gözden kaçabilir, bu nedenle radyografi bu durumun teşhisi için önemini korumaktadır. Gecikmiş mide boşalması, hayvanlar 12 ila 18 saat boyunca aç bırakıldıktan sonra daha büyük miktarlarda sıvı veya gıdanın varlığı ile karakterize edilir. Pilorik çıkış tıkanıklıklarında kronik gastrik distansiyon görülebilir. Altta yatan nedene bağlı olarak, ek özellikler arasında mukozal hipertrofi, fokal bir kitle veya çevresel olarak kalınlaşmış bir muskularis tabakası (3 mm'yi aşan) yer alabilir.(35) Bununla birlikte, gecikmiş mide boşalması mekanik obstrüksiyon yokluğunda da gözlenebilir (örneğin, stresli hayvanlarda veya gastritli hastalarda). Yabancı cisimler materyallerine ve şekillerine bağlı olarak değişken bir görünüme sahiptir. Sıklıkla güçlü yansıtıcı bir yüzeye (doğrusal veya kavisli) ve güçlü distal akustik gölgelenmeye sahiptirler, ancak gaz veya yiyecekler görülmelerini engelleyebilir. Mide ülserleri, non-steroidal anti-enflamatuvar ilaçların uygulanmasından sonra mide neoplazisine sekonder olarak görülebilir. Genellikle pilorik bölgede tespit edilirler ve genellikle normal duvar katmanının kaybı ile birlikte fokal gastrik kalınlaşma ile karakterize edilirler. Mukozal tabakada bir krater ve hiperekoik odaklar (gazı temsil eden) tanımlamak mümkün olabilir. Yaygın duvar kalınlaşmasına gastrite (örn. hipertrofi, eozinofili, üremi) neden olabilir ve genellikle kalınlaşmış rugalar eşlik

eder. Mukozal mineralizasyonun neden olduğu üremik gastropati vakalarında çok hiperekoik bir mukozal-luminal arayüz gözlenebilir.(36)

Mide duvarının kalınlığı midenin doluluk derecesine göre değişir ve mide tamamen boşsa normal kalınlığı aşabilir. Enflamatuvar hastalıkları veya neoplazisi olan hayvanlarda, normal tabakalaşma kaybıyla veya kaybı olmadan duvar kalınlaşması meydana gelebilir. (37) Genel bir kural olarak, bölgesel kitleler ve 10 mm'yi aşan ciddi duvar kalınlaşması, özellikle duvar tabakasının kaybı ve lokal lenf yumrularının büyümesi ile birleştiğinde neoplaziyi düşündürür. İnflamatuvar hastalıklar, her bir tabakanın ekojenitesi değişebilse de, genellikle hafif ila orta şiddette simetrik duvar kalınlaşması ve korunmuş tabakalanma ile karakterizedir. Bununla birlikte, enflamatuvar değişiklikler ve neoplazi arasında bir miktar örtüşme vardır. Örneğin, kitle benzeri gastrik bölgelere sahip infiltratif neoplazi (tam olarak lenfosarkom) diffüz kalınlaşmaya neden olabilir. Bu nedenle kesin tanı için sitoloji veya histopatoloji gerekir. En yaygın görülen gastrointestinal tümörler adenokarsinomlar (köpekler) ve lenfosarkomlardır (kediler). Leio miyomları, köpek gastrointestinal sisteminin en sık görülen iyi huylu tümörleridir.(38)

8.2. İnce Barsak

İnce bağırsak ileusu (bağırsak içeriğinin normal taşınmasındaki bir bozukluk olarak tanımlanır), büyük bir gaz, sıvı veya inješta birikimi ile karakterizedir. İleus generalize veya fokal olabilir ve mekanik obstrüksiyona (örn. yabancı bir cisim) veya fonksiyonel sebeplere (örn. peritonit) bağlı olabilir. Akut mekanik obstrüksiyonda sekonder ileus ile obstrüksiyon önünde geçici bir peristaltik artışı olabilir.(39) Genellikle peristaltik artar veya bulunmaz. Midede olduğu gibi, yabancı cisimler değişken bir görünüme sahip olabilir ve yabancı cisimleri doğrudan gözde canlandırmak her zaman mümkün değildir, çünkü gaz veya sindirim sistemi tarafından gizlenebilir. Linear yabancı cisimler, kıvrımlı, dalgalı bağırsak kıvrımları ile bağırsak plikasyonuna neden olabilir. İntussusepsiyonlar en sık olarak genç hastalarda ortaya çıkar ve gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde bulunabilir, ancak ileokolik invajinasyonlar en yaygın olanıdır. Bağırsak invajinasyonları belirgin, çok katmanlı bir görünüme sahiptir.(40)

8.3. Anormal Barsak Duvarı

Gastrik durumlarda olduğu gibi, tümörlerin ultrasonografik görünümü ile enflamatuvar hastalık arasında büyük bir örtüşme vardır, ancak bağırsak neoplazisi

genellikle 10 mm'yi aşan lokal duvar kalınlaşması ve duvar tabakasının kaybıyla sonuçlanır. Tipik olarak, lenfositik-plazmasitik enterit veya inflamatuvar barsak hastalığı gibi inflamatuvar durumlar, esas olarak mukozal ve submukozal tabakaları içeren ince bağırsaklarda hafif ila orta derecede kalınlaşmaya neden olur. En yaygın olarak, bağırsak katmanları korunur, ancak görünümleri hiperekoik odaklarla değişebilir.(41) Hiperekoik mukozal çizgiler, sıklıkla protein kaybettiren enteropati ile görülen lenfanjiektazi ile ilişkilendirilmiştir. Ancak bazı iltihabi hastalık vakalarında görünüm ve duvar kalınlığı normal olabilir. İnce bağırsak duvarlarının dalgalanması genellikle pankreatit, şiddetli bağırsak iltihabı, peritonit veya infiltratif neoplazi ile ilişkilidir. Değişmiş duvar katman kalınlığı ise genellikle köpek inflamatuvar bağırsak hastalığı ile ilişkilidir. Bu tip köpeklerin ultrasonografik muayenesinde duodenal mukozasında genel olarak yaygın bir ekojenite artışı ve ek olarak fokal hiperekoik benekler sıklıkla tespit edilebilir.(42)

8.4. Kalın Barsak

İleosekokolik bileşke invajinasyonun en sık görüldüğü yerdir. Kalınlaşmış ve düzensiz bir kolon duvarı göstermek mümkün olsa da, kolonoskopi kolit tanısı için ultrasonografiden daha duyarlıdır. Kolon duvarında kitleler nispeten nadirdir, ancak kolorektal polipler ve kötü huylu neoplazmlar oluşabilir.(34,43)

9. Sonuç

Son yıllarda ultrasonografi, farklı gastrointestinal hastalıkların teşhisi için diagnostik bir araç olarak giderek daha fazla önem kazanmıştır. Bir yandan ultrason teknolojisindeki gelişmeler ve diğer yandan çeşitli gastrointestinal bozukluklarda tespit edilebilen sonografik bulgulara artan aşinalık, gastrointestinal sistemde ultrasonografik uygulama alanını genişletmiş ve muayene sıklığını arttırmıştır. Endikasyon yelpazesi, özellikle beşeri hekimlikte, sadece apandisit, divertikülit veya barsak obstrüksiyonu gibi akut durumları değil aynı zamanda bir dizi subakut ve kronik hastalığı da kapsamaya başlamıştır. Ultrasonun (bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntülemeye benzer şekilde) mide ve barsakların transmural enflamatuvar veya neoplastik değişiklikleri değerlendirme yeteneği, endoskopi ve kontrast radyografiye göre en önemli avantajlarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu avantaj, doğru ve hızlı tanıya ve hastalık sürecinin izlenmesine önemli ölçüde katkıda bulunur. Ultrason, bağırsak duvarı katmanları hakkında bilgisayarlı tomografiden daha

ayrıntılı bilgi sağlar. Diğer avantajlar arasında geniş kullanılabilirlik, non-invaziv kullanım ve minimum cihaz ve hasta hazırlığı sayılabilir.

Veteriner pratiğinde gastroenteritis, tüm ırk ve yaştan kedi ve köpeği etkileyebilir. Gastroenteritis gelişimine yavrularda parazitik ajanlara maruz kalma ve yabancı cisimlere affinite predispozisyon sağlarken erişkin kedi ve köpeklerde böbrek, karaciğer veya kalp yetmezliği gibi metabolik bozukluklara neden olan durumlar daha ön plana çıkar. Tüm dünyada veteriner fakültesi hastanelerine ve özel kliniklere başvuru nedenleri arasında gastroenteritisin yüksek insidansı göz önünde bulundurulduğunda gastrointestinal ultrasonografi, avantajları dolayısıyla ilerleyen zamanlarda daha da önem kazanacaktır.

Kaynaklar

1. Cheng LK, O'Grady G, Du P, Egbuji JU, Windsor JA, Pullan AJ. Gastrointestinal system. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. 2010;2(1):65-79.
2. Hunter PJ, Borg TK. Integration from proteins to organs: the Physiome Project. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 Mar;4(3):237-243.
3. Silverstein D, Hopper, K. Small animal critical care medicine-E-Book. Elsevier Health Sciences. In: Silverstein, DC Hopper K Editors. 2nd ed. 2014, Saunders Elsevier, pp 622-626.
4. Simpson KW, Birnbaum N: Fluid and electrolyte disturbances in gastro-intestinal and pancreatic disease. In DiBartola SP, Editor: Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice, 3rd ed. St Louis, 2006, Saunders.
5. Center SA: Fluid, electrolyte, and acid-base disturbances in liver diseases. In DiBartola SP, Editor: Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice, ed 3, St Louis, 2006, Saunders.
6. Stogdale L. Canine & Feline Gastroenterology. Can Vet J. 2014;55(2):155.
7. Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of Veterinary Internal Medicine. In Ettinger SJ, Feldman EC Editors. ed 7, St Louis, 2010, Saunders Elsevier.
8. Florence Vessieres, David Walker, Managing acute gastrointestinal signs in cats and dogs: part 1, 2016, <https://www.vettimes.co.uk>
9. Şahal M, Arslan HH. Kedi ve Köpeklerde Sindirim Sistemi Organlarının Ultrasonografik Muayenesi. Kafkas Üniversitesi Vet.Fak.Derg 2005;11(1):77-82
10. Trotman TK. Gastroenteritis. Small Animal Critical Care Medicine 2015:6226.[Erişim tarihi 25 Mayıs 2023]

11. Spielman BL, Garvey MS. Hemorrhagic gastroenteritis in 15 dogs. *Journal (USA)*, 1993.
12. Ralphs SC, Jessen CR, Lipowitz AJ Risk factors for leakage following intestinal anastomosis in dogs and cats: 115 cases (1991–2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2003;223(1):73-77.
13. Christopher R. Lamb MA, Recent Developments In Diagnostic Imaging Of The Gastrointestinal Tract Of The Dog And Cat, *Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice* 1999;29(2):307-342.
14. Tyrrell D, Beck C. Ultrasound versus radiography in the structure of gastrointestinal foreign bodies in small animals. *Veterinary Radiology Ultrasound* 2006;47(4):404-408.
15. Ober CP, Jones JC, Larson MM, Lanz OI, Were SR. Comparison of ultrasound, computed tomography and magnetic resonance imaging in the detection of acute wooden foreign bodies in canine manus. *Veterinary Radiology Ultrasound* 2008;49(5):411-418.
16. Mantis P. Making sense of the grey: a basic introduction to abdominal ultrasonography of the dog and cat. *Irish Veterinary Journal* 2010;63(8):503-510.
17. Larson MM, Biller DS. Ultrasound of the gastrointestinal tract. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 2009;39(4):747-759.
18. Lamb CR, Stowater JL, Pipers FS. The first twenty-one years of veterinary diagnostic ultrasound: A bibliography. *Veterinary Radiology Ultrasound* 1988;29(1):37-45
19. Griffin S. Feline Abdominal Ultrasonography: What's Normal? What's Abnormal? The Diseased Gastrointestinal Tract *Journal of Diagnostic Medical Sonography* 2015;31(3):160–167
20. Lindahl IL. Postpartum in sheep with ultrasound *Nature* 1966;212(5062):642–643.
21. Mattoon JS, Pollard R, Wills T, Nyland TG. Ultrasoundguided aspiration and biopsy procedures. In: Mattoon JS, Nyland TG, eds. *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. 3rd ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders; 2014:50-77.
22. Medan MS, Abd El-Aty AM. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. *Journal of Advanced Research* 2010;1(2):123–128.
23. Egan M, Ionescu A. The pocket echocardiograph: a useful new tool?. *European Journal of Echocardiography* 2008;9(6):721-725.

24. Hildebrandt TB, Göritz F, Pratt NC, Brown JL, Montali RJ, Schmitt DL, Hermes R. Ultrasonography of the urogenital tract in elephants (*Loxodonta africana* and *Elephas maximus*): an important tool for assessing female reproductive function. *Zoo Biology*: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association 2000;9(5):321-332.

25. Hildebrandt TB, Göritz F, Pratt NC, Brown JL, Montali RJ, Schmitt DL, Hermes, R. Ultrasonography of the urogenital tract in elephants (*Loxodonta africana* and *Elephas maximus*): an important tool for assessing female reproductive function. *Zoo Biology*: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association 2000;19(5):321-332.

26. Roth TL, O'Brien JK, McRae MA, Bellem AC, Romo SJ, Kroll JL, Brown JL. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian cycle and early pregnancy in the Sumatran rhinoceros (*Dicerorhinus sumtrensisi*). *Reproduction* 2001.

27. MacEachern KE, Roberts BL, Mihm M, Dickie A. Ovarian imaging in the mare using three-dimensional ultrasound 2002.

28. Mattoon JS, Berry CR, Nyland TG. Abdominal ultrasound scanning techniques. In: Mattoon JS, Nyland TG, eds. *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. 3rd ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders; 2014:94-127.

29. Boysen S. Small animal point of care ultrasound techniques. *Vet Ireland J*,7 2017;613-619.

30. Hoskins PR, Martin K, Thrush A.(Eds.). *Diagnostic ultrasound: physics and equipment*. CRC Press 2019.

31. Nyland TG, Neelis DA, Mattoon JS. Gastrointestinal tract. In: Mattoon JS, Nyland TG, eds. *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. 3rd ed. St. Louis, MO: Elsevier Saunders; 2014:468-500.

32. Moon ML, Biller DS, Armbrust LJ. Ultrasonographic appearance and etiology of corrugated small intestine. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 2003;44(2):199-203.

33. Goggin JM, Biller DS, Debey BM, Pickar JG, Mason D. Ultrasonographic measurement of gastrointestinal wall thickness and the ultrasonographic appearance of the ileocolic region in healthy cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 2000;36(3):224-228.

34. Agthe P. Ultrasonography of the gastrointestinal tract and associated organs in dogs and cats. *In practice* 2009;31(4):182-188.

35. Kurtz AB, Hertzberg BS. *The Requisites*. In: Middleton WD Editor. *Ultrasound*, 2nd ed. St Louis: Mosby; 2004.

36. Hindi A, Peterson C, Barr RG. Artifacts in diagnostic ultrasound. *Reports in Medical Imaging* 2013;29-48.
37. Grogan SP, Mount CA. *Ultrasound Physics and Instrumentation* 2021.
38. Burkitt JM, Drobatz KJ, Saunders HM, Washabau RJ. Signalment, history, and outcome of cats with gastrointestinal tract intussusception: 20 cases (1986–2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2009;234(6):771-776.
39. Patsikas MN, Papazoglou LG, Papaioannou NG, Savvas I, Kazakos GM, Dessiris AK. Ultrasonographic findings of intestinal intussusception in seven cats. *Journal of Feline Medicine & Surgery* 2003;5(6):335-343.
40. Griffin S. Feline abdominal ultrasonography: What's normal? What's abnormal? The diseased gastrointestinal tract. *Journal of feline medicine and surgery* 2019;21(11): 1047-1060.
41. Hoffmann KL. Sonographic signs of gastroduodenal linear foreign body in 3 dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 2003;44(4):466-469.
42. Penninck D, d'Anjou MA. Gastrointestinal tract. In: Penninck D, d'Anjou MA (eds). *Atlas of small animal ultrasonography*. 2nd ed. Iowa. Wiley-Blackwell; 2015.p.259–308.
43. Gaschen L, Kircher P, Stüssi A, Allenspach K, Gaschen F, Doherr M, Gröne A. Comparison of ultrasonographic findings with clinical activity index (CIBDAI) and diagnosis in dogs with chronic enteropathies. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 2008;49(1):56-64.

BÖLÜM VII

HAYVAN HAKLARI AÇISINDAN YAPAY ET: VEGANİZM BAKIŞAÇISIYLA

Artificial Meat in terms of Animal Rights: from a Veganism Perspective

Güzin Yasemin TUNÇAY

*Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Çankırı, Türkiye*

E-mail: gyasemintuncay@gmail.com

ORCID: 0000-0003-4872-1096

1. Giriş

Yapay et, laboratuvar ortamında üretilen ettir ve yapay et ile (kesin bilgiye sahip olmadığımız için, gelecekte sağlığa olası etkilerini göz arda edecek olursak) artan dünya nüfusuna bir protein kaynağı sağlanacağı, yanı sıra ekosisteme yararlı olacağı ve hayvan refahını da koruyacağı düşünülmektedir (1, 2, 3). Günümüzde hayvanların da insanlar gibi içsel değeri olduğu düşüncesi yaygınlaşmıştır. Bunun için hayvanların insanlar için bir yararı olması ya da nesli tükenme tehlikesi altında olması beklenmemektedir. Veganizme göre de hayvanların içsel değeri vardır ve hayvanlar insanlar tarafından ne şekilde olursa olsun kullanılması etik kabul edilememektedir (4, 5, 6, 7). Bu yazıda da yapay et konusu hayvan hakları ve veganizm bakış açısıyla ele alınacaktır.

2. Hayvan Hakları

Hayvan hakları ile ilgili birçok hukuki düzenleme bulunmaktadır (8). Bu hukuki düzenlemeler bireysel olarak korunmasından ziyade tür olarak hayvanın korunmasını içermektedir (9). Amaç doğadaki hayvan türlerinin yok olmasına ve dünyanın ekolojik dengenin bozulmasına engel olmaktır (10). Hayvan hakları denildiğinde bazen de kedi, köpek gibi ev hayvanları akla gelmektedir. İnsanın hayvanlara karşı yaklaşımları küçük yaşlarda oluşmaya başlar. Çocuklara doğa ve hayvan sevgisi aşılanmaya çalışılırken sevilen bu hayvanlar genellikle kedi,

köpek gibi evcil hayvanlar olmaktadır. Çocuk ufak yaşta et yemek istemezse bile sonrasında ölü bir hayvanı yediğini fark ettiği zamana gelinceye kadar bu beslenme şekline alışmış ve benimsemiş olur. Böylece çoğu insanın kültürel bir öğretisi olarak hayvanlara karşı birbiriyle çelişen iki farklı yaklaşımda bulunmaktadır (11). Vahşi hayvanlar ve ev hayvanlarının yanı sıra gene evcil olan ancak ayrı bir kategoride değerlendirilen, yenilen hayvanlara örnek inek, keçi, koyun gibi hayvanları vermek mümkündür. İnsanlar çoğu zaman farkında olmadan hayvanları sevilen ve yenilen olarak ayırmaktadır. Köpekler bir doğum günü hediyesi olarak verilebilirken, jambon haline gelecek olan bir hayvanın (inek, dana, domuz gibi) hediye olarak düşünülmesi mümkün değildir. Kimse o hayvanların (domuzlar en az köpekler kadar zeki olduğu halde) hayatları konusuna kafa yormaz (12). İnsanların hayvanlara karşı gelişen bu yaklaşımların temelinde türçülük tutumu yatmaktadır. Türçülük kavramı ilk kez Dr. Richard Ryder tarafından 1970 yılında kullanılmıştır (13). Türçülük, bir türün kendi biyolojik türünün çıkarlarını diğerlerinin üstünde tutmak ve diğer türe ilişkin önyargılı ve/veya yanlı davranılmasıdır (11, 14). Türçülükte insan, insan dışı varlıklara değer vermemekte ve onlar üzerinde tahakküm uygulamakta, birer köle ya da mal olarak görmektedir. Diğer varlıkların yanında insan merkezde ve üst konumdadır (insan merkezci) ve insanlar canlı, cansız varlıklara karşı herhangi bir etik sorumluluk hissetmez (14, 15).

Hayvan hakları savunurken özellikle vurgulanan nokta, insan hakları ve hayvan hakları arasında bir karşılaştırmanın yapılmadığıdır. Hayvan haklarından söz edilirken, insan hakları ihmal edilmemekte, iki ayrı haklar olarak değerlendirilmektedir. Bazı durumlarda da insana öncelik verilmesi hayvanlara önem verilmediği anlamına gelmemektedir. Francione bunu şu şekilde açıklamaktadır. “Hayvanın çıkarlarını etik açıdan önemsemek, eşit gözetilme ilkesini uygulamak anlamına gelmektedir. Bu insan ve hayvanların “aynı” olduğu düşüncesi anlamına gelmemekte, nasıl ki bütün insanlar aynı değilse” Hayvan hakları savunuculuğu; hayvanlara, insanlara tanınan bütün hakların verilmesi anlamına gelmemektedir. Olağanüstü hallerde insana öncelik verilmesi akla yatkın bir tutum olarak kabul edilmektedir. Örneğin yanan bir evden sadece bir bireyi çıkarabilmekte, içeride biri insan, diğeri de köpek olan iki canlıdan insana öncelik verilmesi gerekir ve bunun yapılması köpeğe önem verilmediği anlamına gelmez. O kişi ister tanıdığımız biri olsun ya da olmasın bu sezgi her zaman geçerliliğini korumaktadır (16).

Hayvan hakları konusunda günümüzde geldiğimiz noktada araştırmalarda hayvan deneyleri yapılmadan alternatif yöntemlerimin kullanılması için çalışılmaktadır. Buna ilişkin örnekler her geçen gün artmaktadır (17, 18).

3. Hayvan Hakları Açısından Veganizm

Veganlık diğer adı ile Veganizm sekonder hayvansal (yoğurt, yumurta, süt ve süt ürünleri gibi) ürünler dahil hiçbir hayvansal ürünün tüketilmemesi, deri, ipek vs. gibi hayvanlardan elde edilmiş eşyaların kullanılmamasıdır. Bunun dışında veganlar hayvansal ürün içeren hiçbir şeyi kullanmazlar (hayvansal yağ içeren sabun ya da yumurta, süt içeren çikolata, kek gibi). Hayvan deneyleri yapılmış malzemeleri de kullanmayı tercih etmezler (temizlik ve kozmetik ürünler gibi). Veganizm, bir dünya görüşü ve bir yaşam tarzıdır (5, 6, 19, 20, 21, 22, 23). Veganizm, hayvanları hakları açısından önemli bir yaklaşım ve tutum olarak görünmektedir. Çünkü hayvanlar, sadece et üretimi aşamasında değil, sekonder hayvansal ürünlerin (yumurta, süt gibi) üretiminde de kullanılmaktadırlar (Vejetaryenler ise sekonder hayvansal ürün tüketmektedirler). Bunun yanı sıra hayvan başka birçok alanda (rodeolar, hayvan dövüşleri, hayvanat bahçeleri, polis köpekler gibi) kullanılmaktadır (24).

Veganizm, hayvan haklarını savunmak için geliştirilen toplumsal hareketler arasında en bağımsız olanıdır. İnsanlar on binlerce yıldır hayvanları kullanmışlar ve etlerini tüketmişlerdir (12). Başta vejetaryenlik sonrasında da veganizm savunulmuştur. Vejetaryenlikten, veganizme doğru evrimleşen görüşün temelinde hayvanların görmüş olduğu kötü muamele etkili olmuştur. Hayvanlara kötü muamelenin hiçbir zaman hoş görülmemesine rağmen, “insancıl” (ya da insani) olarak kesilen hayvanların yenilebileceği görüşü kabul görmüştür. Halbuki burada bir insan değil, bir hayvan söz konusudur ve buradaki eylem insan için iyi ancak hayvan için iyi değildir. Bütün canlılar için iyi olan bir durum “iyicil” kavramı ile ifade edilebilir. İyicil kavramı Türk Dil Kurumu sözlüğünde (25) hayırsever, iyi huylu olarak tanımlanmıştır. Dolayısıyla insancıl ya da insani kesim kavramı hayvanları kapsayan bir kavram değildir.

Veganizme göre sorun olarak kabul edilen husus hayvanların kullanım şekli değil, kullanımın kendisidir (7, 10, 12, 26, 27). Veganizm, hayvanların ne şekilde, ne koşulda olursa olsun insanlar tarafından kullanımına karşıdır. Bu kapsamda “karnizm” kavramından söz etmek gerekir. Karnizm, etin ve hayvansal ürünlerin nereden, nasıl geldiği üzerine düşünülmemesidir. İnsanlar bunların bir hayvandan geldiğini bilmektedir. (10, 12, 26). İnsanların hayvanlara karşı sözü edilen iki yaklaşımın (sevilen ve yenilen hayvanlar) temelinde de karnizm yatmaktadır. Çünkü insanlar inek, dana, keçi gibi hayvanları, kedi köpek gibi hayvanlara göre daha az görmektedir. Et paketli olarak satın alınır ve bu paketli halleri (insan az sıklıkla bir etin kesişine şahit olmaktadır) hayvana mümkün olduğu kadar az benzeyen parçalara bölünmüştür (12).

Et talebinin yanı sıra insanların farklı özelliklere sahip et talep etmelerinin yansması da yine hayvanlara olmaktadır. Buna yumuşak ve açık pembe renkte et talep edilmesi örnek verilebilir. Bunun için buzağular dar bölmelerde tutulmakta ve böylece hareket edememekte ve kas gelişimi olmamakta ve eti yumuşak olmaktadır. Etin açık pembe olması hayvanın anemik olması ile mümkündür, bunun için de buzağularına tamamıyla sıvı gıda, yağsız süt tozu, vitamin, mineral ve büyüme hızlandıran maddeler verilmektedir. Etin rengi tadını etkilememekte, aksine demir eksikliği işaret etmektedir. Buzağuların anneden ayrılması da ayrı bir konu olup süt endüstrisi ile ilgilidir. Bir ineğin sütünün sağılabilmesi için belirli aralıklara gebe bırakılmaktadır. Bu şekilde yoğunlaştırılmış gebelik ve süt sağılma döngüsü sonunda inekler yorulmaktadır. Bundan sonra o inek mezbahaya gönderilmektedir. Diğer çiftlik hayvanları (keçi, tavuk, domuz gibi) da benzeri uygulamalara maruz kalmaktadırlar (11, 16, 28).

Hayvanların kullanılması ya da öldürülmesi konusuna bir çiftliğin ya da bir bahçenin penceresinden bakıldığında hayvan haklarının ne kadar dar fikirli ve kentsel bir bakış açısı olduğu anlaşılmaktadır. Bu bakış açısı sadece doğal çevre ile bağın tam olarak kopması sonucunda başarılı olur. Normal koşullarda doğadaki hayvanlar insanlar için bir tehdit oluşturmamaktadır çünkü insan türünün doğaya olan üstünlüğü tartışılmayacak bir noktaya gelmiştir. Kentte yaşayan bir insanın hayvanlarla arasında bir çıkar çatışması yoktur. Ancak bir çiftçi bunun tersini söyleyecektir. Bir hububat (bir veganın yiyebileceği) tarla farelerini parçalayan bir biçerdöverle toplanmaktadır. Çiftçinin traktörünün tekerleği bir dağ sıçanını ezebilir. Ne yemeyi tercih edersek edelim hayvanların öldürülmesi büyük olasılıkla kaçınılmaz olmaktadır (12). Veganlar da insan kaynaklı, engel olunamayan nedenlerden dolayı hayvanların öldüklerinin farkındadırlar. Bu noktada artık yaşamak için o sebze için o tahılı yemek zorunda olduklarını düşünmektedirler. Veganlar açısından özellikle üzerinde durulan konu insanların bilinçli olarak hayvanlara zarar vermeleri ve onlar üzerinde tahakküm uygulamalarıdır (22).

4. Yapay Et

Yapay et üretim gerekçesi GDO (genetiği değiştirilmiş organizmalar) ile aynı olup artan dünya nüfusunu doyurabilmektir. Gelecekte dünyanın kaynaklarının artan dünya nüfusuna yetmeyeceği öngörülmektedir (29, 30, 31). Yapay et, yeni bir konu olup sağlık, hayvan refahı ve sürdürülebilirlik konular

kapsamında tartışılmaktadır (32). Şu andaki çalışmalara göre yapay etin ticari olarak kullanıma sunulması için en az 10 yıl gerekmektedir (33). Bu süre içinde yapılan araştırmalarla konu hakkında daha ayrıntılı bilgi sahibi olunacağı düşünülmektedir.

Literatürde yapay et üretimi için birden fazla yöntemden söz edilmektedir. Kültürlenmiş et ya da *in vitro* et olarak adlandırılan ilk yöntemde hücre laboratuvar ortamında çoğaltılmaktadır. Bu yöntem en çok kullanılan yöntemdir ve bunun için hayvandan alınan kas dokusundan kök hücre elde edilir ve kök hücrenin büyümesi sağlanmaktadır (1, 2, 32, 34). Bu yöntem, kök hücrenin biyoreaktör adı verilen büyük bir varil içindeki tuzlu, vitaminli, şekerli ve proteinli et suyun içerisine batırılarak yapılmaktadır. Sıcaklık da ayarlanarak hücrenin bölünerek çoğalması sağlanmaktadır. Bu işlem doğayı farklı bir şekilde taklit etmek, yani doğal olarak hayvanın vücudunda gelişen kas dokusunu, hayvanın istenmeyen kısımlarını elimine ederek, yapay olarak dışarıda çoğaltılması olarak görülmektedir (34).

İkinci yöntem genetiği değiştirilmiş etlerden elde edilen ettir. Bu yöntemde hayvanın genomları laboratuvarında değiştirilmekte ve bundan elde edilmektedir. İnsan yapımı ettir ve bu yöntem ile elde edilen et Modifiye Edilmiş Et (Modified Meat) olarak adlandırılmaktadır (1, 2, 32, 34). Bu yöntemde sıcak bakılmamaktadır, ancak güvenli bir yöntem olduğunu düşünülmektedir (34).

Üçüncü yöntem, bitki, mantar ve alglerden elde edilen ettir. Bu yöntem ile elde edilen etin protein miktarının da yüksek olması sağlanabilmektedir (32, 35). Bu et vegan ve vejeteryenler için bir protein kaynağı olarak da görülmektedir (35). Buna göre bu etin şu anda satışta olan mercimek, soya fasulyesi gibi ürünlerden yapılan et ile benzer olduğu söylenebilir. Bazıları et görünümlü tüketime hazır, bazıları da hazır çorbalarda olduğu gibi toz halindedir. Bu ürünün içine su, tercihe göre yağ, salça gibi malzemeler eklenerek harcı hazırlanmakta ve bu şekilde pişirilmektedir.

Hayvanın klonlanması ile elde edilen et de dördüncü yöntem olarak gösterilmiştir. Burada da insan yapımı söz konusu olduğu için et yapay et olarak nitelendirilmektedir (32).

Literatüre bakıldığında yapay et üretim yöntemleri olarak çoğunlukla ilk iki yöntemden söz edildiği ve bunlara göre değerlendirmelerin yapıldığı görülmektedir. Ancak hangi yöntem ile üretilmiş olursa olsun yapay et, her şekilde çevre dostu, sürdürülebilir ve artan nüfusu doyurmaya yetecek uygun bir alternatif olarak görülmektedir. Bunun yanı sıra konu hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu da ifade edilmektedir (1, 2, 32, 34, 33).

Özellikle ilk iki üretim yöntemi göz önünde bulundurularak yapay et ile geleneksel et arasında farklılıklar olduğu bildirilmiştir. Öncelikle yapay et üretiminin daha az maliyetli olacağı düşünülmektedir. Bunun dışında, yapay et geleneksel ete göre daha soluk renklidir. Bu tüketici için olumsuz etki yaratacağı düşünüldüğü için çözüm olarak üretim sürecinde şeker pancarı gibi doğal boya ya da hayvanın kanında ayrıştırılan hemoglobinin kullanılmaktadır. Yapay et, steril olarak üretildiği için raf ömrünün geleneksel ette göre daha uzun olacağı, yanı sıra paketlenme ve raf ömrüne ilişkin daha fazla araştırmaya ihtiyaç da olduğu ifade edilmektedir. Bunun dışında yapay et üretiminde daha az hayvan kesimi, buna bağlı daha küçük karbon ayak izi, daha az su tüketimi, daha az pestisit maruz kalma riski, daha az atık oluşumu söz konusudur. Bu da yapay ete sürdürülebilirlik özelliği vermektedir (31, 33).

Geleneksel et üretiminde hayvan hakları ve refahı konusu tartışılırken yapay ette de mevzuat ve toplumsal algı ile kaygılarla ilgili tartışmalar olacaktır (33). Ancak konu daha ayrıntılı olarak düşünüldüğünde geleneksel et de olsa, yapay et de olsa, ikisi de biyoetik kapsamında değerlendirilebilecek bir konudur. Yapay et ile hayvan haklarının korunacağı, ekosisteme verilen zararın azaltılacağı, dolayısıyla sürdürülebilir bir protein kaynağının sağlanmış olacağı ön görülmektedir (1, 2, 3, 31).

Sürdürülebilir beslenme kavramı da özellikle son 10 yıl sözü edilmeye başlanan yeni bir kavramdır. Sürdürülebilir beslenme “Ekosistemi, biyoçeşitliliği ile gelecek nesillerin de gıda güvenliğini ve yaşam kalitesini koruyacak şekilde olan beslenme” olarak tanımlanmaktadır (36). Sürdürülebilir beslenme kavramı, Elmacıoğlu (37) tarafından “vücudun gereksinim duyduğu kadar besin öğelerinin alınımı” şeklinde; Donini ve ark. (38) göre ise sürdürülebilir beslenme az yağlı, tahıl, meyve, sebze ve balık ağırlıklı, nadiren de etin tüketildiği bir beslenme şeklidir. Sürdürülebilir beslenmenin belirleyicileri; sağlıklı, dengeli ve yeterli beslenme, çevresel açıdan sürdürülebilir, kültürel, düşük maliyetli ve erişilebilir olmasıdır (36). Buna göre “Yeterli ve Dengeli Beslenme”, “Yavaş Beslenme” ile “Vegan/Vejetaryen Beslenme” sürdürülebilir beslenme kapsamında değerlendirilebilir (5, 6, 36, 37, 38, 39, 40).

Sağlıklı ve dengeli beslenmede de amaç sağlıklı beslenmenin yanı sıra ekosistemi korumaktır. Bu beslenmede ne çok ne de az yenilmekte; gerektiği kadar, gereken dengede tüketilmektedir. Yemek yemek için yaşamak değil, yaşamak için yemek yemek görüşü benimsenmektedir. Dolayısıyla sınırlı dünya kaynakları gerekmediği sürece kullanılmaz (41).

Yavaş beslenme, Yavaş Şehir (Sakin Şehir, Cittaslow, Slow City) hareketi kapsamında ele alınan bir kavramdır (40). Yavaş Şehir hareketinin amaçları yerel

el sanatların ve mutfağın, doğanın, gelenek ve göreneklerin korunması, bunların gelecek nesillere aktarılması, yenilenebilir enerji kaynakları kullanılması ve sürdürülebilir tüketimin sağlanmasıdır Yavaş şehir, “yaşamın iyi olduğu kentler” şeklinde tanımlanmakta (42) ve Yavaş Beslenme Hareketi İtalyan gastronom Carlo Petrini tarafından geleneksel ve yerel yemeklerin yok oluşuna ve lezzetin (katkı maddeleriyle yapay olarak) standartlaşmasına neden olan burger firmalarına tepki olarak 1986 yılında İtalya’da başlatılmıştır. Yavaş Beslenme Hareketi dünya genelinde gıda ve tarım biyoçeşitliliğini savunur, bütün sebze ve hayvan türlerini korur (43, 44). Yerel mutfığa sahip çıkmayı, yemekten tat almayı, dengeli ve sağlıklı beslenmeyi, ekosisteme saygı göstermeyi, gıdanı kendi yetiştirebilmeyi ilke edinmiştir. Bu bakış açısıyla Sürdürülebilir Kaliteli Gıda (45) ya da Sürdürülebilir Sağlıklı Beslenme kavramına ulaşılmaktadır (38).

Diğer bir sürdürülebilir beslenme çeşidi olarak Veganlığın (biyoetik bir yaklaşım, hayat felsefesi olarak düşünülürse Veganizm) temel amaçlarından biri canlı yaşamına saygıdır (7, 10, 12, 26, 27). Bunun dışında veganlığı tercih etmenin en başlıca nedenleri hayvan hakları ve etikdir (22).

Görüldüğü gibi sürdürülebilir sağlıklı beslenmenin özelliklerinden biri et tüketiminin az olmasıdır. Çünkü et tüketimi ve bunun yanı sıra sekonder hayvansal ürünlerin tüketimi nedeniyle yapılan hayvancılığın ekosistem üzerinde olumsuz etkileri olmaktadır. Yapılan araştırmalar da eti az tüketmenin sağlıklı olduğunu göstermektedir (19, 46, 47, 48, 49). Yapılan bu araştırmalara rağmen et talebi her geçen zamanda artmaktadır. Artan dünyanın et talebi karşılamak için fabrika çiftliklerinde seri bir şekilde hayvan yetiştirilmektedir. Geleneksel çiftliklerin bu talebi karşılaması mümkün değildir. Amerika’da eti için öldürülen hayvanların %1’inden daha azı geleneksel çiftliklerden gelmektedir (10, 41, 50, 51).

Et üretimi doğal dünya kaynakları üzerinde ciddi bir yük oluşturmaktadır. Bir kg. et üretmek için, 1 kg. buğday üretmek için gerekenden 50 kat daha fazla su gerektirmektedir. Dünyadaki su kullanımının %8’i hayvancılığa ayrılmaktadır. Bunun yanı sıra hayvan çiflikleri ciddi su kirliliğine de neden olmaktadır (11, 52). Et ile sebze üretiminin ekosisteme olan etkileri arasında karşılaştırma yapıldığında vegan beslenmenin ekosisteme daha az zarar vermektedir (36).

5. Veganizm ve Yapay Et

Hayvancılığın oluşturduğu çevresel sorunlarla mücadele etmek ve bunun yanında sağlıklı olabilmek için sürdürülebilir sağlıklı beslenmenin benimsenmesi gerektiği düşünülmektedir (16, 53). Yapay et de sürdürülebilir bir protein

kaynağı olarak görülmektedir. Ancak yapay etin vegan olduğu yönündeki görüş eleştirilmektedir. En başlıca eleştiri nedeni yapay et üretimi sürecinde yine hayvanların kullanılmasıdır (7, 52). Bireylerin veganizmi tercih etme nedeni birden fazla olabilmektedir. Ancak gerekçelerin başında “hayvan sömürsüne karşı bir duruş” ve “etik” gelmektedir. Bu gerekçeler düşünüldüğünde yapay eti vegan olarak kabul etmek mümkün görünmemektedir. Yapay et üretimi için hücre, canlı ya da ölü hayvan kullanılabilir (54). Bunun için hayvanın ölmesi gerekmemektedir (55).

Başka bir kaynağa göre yapay et üretim sürecinde hücrelerin alınması için hayvan öldürülmektedir. Hücrelerin sürekli kopyalanması sonucunda mutasyona uğramış hücrelerin oluşma olasılığı olduğu için üretim için hayvandan sürekli doku alınması gerektiği ifade edilmektedir. Bunun dışında yapay et ile insanlar veganlığa değil vejetaryenliğe yönlendirildiği düşünülmektedir. Ayrıca yapay et üretimi, ticareti ve sağlığa olan etkilerinin belirlenmesi için hayvan deneyleri ve araştırmalar için bir bütçenin ayrılacaktır. Bunun yerine veganizmin etik gerekçelerinin insanlara anlatılması daha doğru bir davranış olarak görülmektedir (7). Konu, Loughborough Üniversitesi Felsefe bölümünde öğretim üyesi olan Milburn (56) tarafından da değerlendirilmiştir. Değerlendirme yazısı İngiltere Vegan Derneği'nin web sayfasında yayımlanmıştır. Milburn'a göre yapay et de yine hayvan kullanımı söz konusu olduğu için vegan olarak kabul edilememektedir. Buna rağmen yapay et üretiminin desteklenmesi gerektiğini, çünkü yapay eti hayvan refahı için olumlu bir adım olduğunu bildirmektedir. Ayrıca yapay etin, veganizmin değil, et endüstrisinin konusu olarak görmektedir (56).

Yapay etin yanı sıra bazı veganlar, eti çağrıştıran herhangi bir şeyin de yenilmemesi gerektiğini (vegan et, vegan köfte yani soy fasulyesi, mercimek gibi gıdalarla yapılan bitkisel köfte gibi) düşünmektedirler (22). Dolayısıyla yapay eti tercih etmeyecek veganlar olacaktır. Bunun dışında hayvancılığın ekosisteme verdiği zarar gerekçesi ile veganlığı tercih edenler de vardır (22). Bu nedenle bazı veganların yapay eti tüketmeyi tercih edebileceği düşünülmektedir. Nitekim konuyla ilgili bir araştırma (3) yapılmış ve araştırma sonucunda veganların %29'u yapay eti desteklemediklerini ve tüketmeyeceklerini söylemiştir. Buna rağmen ekosistem açısından daha iyi olacağını düşündükleri için veganların %47'si yapay et yemese bile destekleyeceklerini, konuyla ilgili çalışmaların başarılı olmasını istediklerini belirtmişlerdir. Araştırma sonucuna göre sadece %24'lük kesim yapay et tüketeceğini söylemiştir.

5. Sonuç

Yapay et üretimine onay veren ülkelerinin olduğuna ilişkin haberlerinin (57) olduğu ve hayvancılığın ekosistemine verdiği zarar göz önünde bulundurulduğunda yapay etin daha yaygın olacağı düşünülmektedir. Yapay et, üretim sürecinde daha az hayvan kullanıldığı için ekosisteme geleneksel et üretimine göre daha az zarar verecektir. Ancak üretim aşamasında yine hayvan kullanılması, ürünün vegan olmadığını göstermektedir. Bunun dışında yapay et, sürdürülebilir protein kaynağı olarak da nitelendirilmektedir. Yapay et, sürdürülebilir sağlıklı beslenme kapsamında değerlendirmek henüz mümkün değildir. Bunun için uzun vadede sağlığa etkilerine ilişkin araştırmaların yapılması gerekir. Yapay et, biyoetik kapsamında değerlendirilmesi gereken ve bu bağlamda ihtiyatlı yaklaşılması gereken bir konudur.

Kaynaklar

1. Baş A., Peksever D., El S. N. Sürdürülebilir Protein Kaynaklar Bitki Böcek Yapay Et ve Tek Hücre Proteinleri, 3. Uluslararası Türk Dünyası Fen Bilimleri ve Mühendislik Kongresi, 14-15 Haziran 2021, TURK-COSE 2021, Book of Proceedings, s. 1-8.
2. Sürek, E. Uzun, P. Geleceğin Alternatif Protein Kaynağı: Yapay Et. Akademik Gıda, 2020, 18 (2), 209-216. DOI: 10.24323/akademik-gida.758840.
3. Webb, S. Veganların çoğunluğu yapay eti desteklese de yemeyeceğini belirtti, Independent Türkçe, Çev.: Deniz Sutaş, 2022, erişim adresi: <https://www.indyrturk.com/node/562911>, erişim tarihi: 29.8.2023.
4. Keleş, R. 100 soruda Çevre, Çevre Sorunları ve Çevre Politikaları, 1. Basım, Yakın Kitabevi Yayınları, İzmir, 2013, s. 173-174.
5. Türkiye Vegan Derneği. (TVD). <https://tvd.org.tr>, erişim tarihi: 10.09.2023.
6. Vegetarian Society. <https://www.vegsoc.org>, erişim tarihi: 10.09.2023.
7. Abolisyonist Vegan Hareket, In Vitro (Laboratuvar Üretimi) Eti Desteklemem için 6 Sebep! Çev.: Gülce Özen Gürkan, 4 Temmuz 2017 tarihli yazı, <https://abolisyonistveganhareket.org/post/162585131471/in-vitro-laboratuvar-%C3%BCretimi-eti-desteklemem>, erişim tarihi: 30.8.2023
8. Çobanoğlu, N. Kuramsal ve Uygulamalı Tıp Etiği, Eflatun Yayınevi, Ankara, 2009, s. 132.
9. Keleş, R. Ertan, B. Çevre Hukukuna Giriş, 1. Baskı, İmge Kitabevi, Ankara, 2002, s. 151

10. Foer, S. F. Hayvan Yemek, Çev.: Garo Kargıcı, 3. Baskı, Siren Yayınları, İstanbul, 2015, 238, s. 61, 221, 238.

11. Singer, P. Hayvan Özgürleşmesi, 1. Basım, İngilizceden çeviren: Hayrullah Doğan, Ayrıntı Yayınları, İstanbul, 2005, s. 191-195, 234-235, 290.

12. Pollan, Michael, Etobur-Otobur İkilemi, The New York Times Bestseller, 1. Baskı, Türkçeden çeviren: İlke Önelge, Pegasus Yayınları, İstanbul, 2009, s. 361-395.

13. Ryder R. D. (2010). Speciesism Again: the original leaflet, Critical Society, Issue 2, Spring, 2010, 1-2.

14. Demirağ, N. G. Son Bakışta Hüzün: Merhamet Etiği Olarak Levinas ve Hayvan Hakları, Yeşil ve Siyaset, Siyasal Ekoloji Üzerine Yazılar, Ed.: Orçun İmga, Hakan Olgun, Lotus Yayınevi, Ankara, 2012, s. 387.

15. Ağın Dönmez, B. “Ekoeleştirici ve Hayvan Çalışmaları: Avatar, Madagaskar ve Madagaskar 2: Afrika’ya Kaçış Filmlerinde Doğa ve Hayvan Temsilleri” Ekoeleştirici, Çevre ve Edebiyat, Ed.: Serpil Oppermann, Phoenix Yayınevi, Ankara, 2012, s. 284-285.

16. Francione, G. L., Hayvan Haklarına Giriş, Çocuğunuz mu Köpeğiniz mi? Çevirenler: Renan Akman, Elçin Gen, 1. Baskı, İletişim Yayınları, İstanbul, 2008, s. 62-76, 279-280, 300.

17. VUB 1 Vrije Universiteit Brussel, Human tissue waste a possible solution for cruelty-free research into male infertility, 18 Eylül 2023 tarihli haber, <https://www.vub.be/nl/nieuws/medisch-afval-mogelijks-oplossing-dierproefvrij-onderzoek>, erişim tarihi: 24.9.2023

18. VUB 2 Vrije Universiteit Brussel, Human tissue waste a possible solution for cruelty-free research into male infertility, 22 Eylül 2023 tarihli haber, <https://www.vub.be/nl/nieuws/in-vitro-3d-longkankertumoren-is-proefdiervriendelijker>, erişim tarihi: 24.9.2023

19. Pilis, W., Stec, K. Zych, M. Pilis A. “Health Benefits and Risk Associated with Adopting a Vegetarian Diet” Rocz Panstw Zakl Hig, 2014; 65 (1): 9-14.

20. The Vegan Society, <https://www.vegansociety.com/>, erişim tarihi: 10.09.2023.

21. Phillips, F. Vegetarian nutrition. Briefing Paper, British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin, 2005, 30: 132-167.

22. Tunçay, G., Y. Biyoetik Çerçevesinde Vegan ve Vejetaryenlik, Vize Yayınevi, 2020, Ankara.

23. Türkmen, A. B., “Topyekûn ve Bütünsel bir Özgürlük Talebi: Veganlığın Felsefesi” Gaia Dergi, 19 Aralık 2015 tarihli yazı, <https://gaiadergi.com>

com/topyekun-ve-butunsel-bir-ozgurluk-talebi-veganligin-felsefesi/ erişim tarihi: 17.9.2023.

24. Gary Yourofsky ile röportaj, “Gary Yourofsky: Veganlık Herkes içindir!” Gaia Dergi, Sürdürülebilir Yaşam Dergisi, Haziran 2015, 1, s. 26-29.

25. Türk Dil Kurumu (TDK) Sözlüğü, <https://sozluk.gov.tr/> erişim tarihi: 21.09.2023.

26. Joy, M. Hayvan Özgürlüğü Çevirileri Karnizmin Özü: Bilmeden Bilmek *Dr. Melanie Joy'un Why We Love Dogs, Eat Pigs and Wear Cows: An Introduction to Carnism adlı kitabından alıntı.* <http://hayvanozgurlugucevirileri.com/karnizm/karnizmin-ozubilmeden-bilmek/> erişim tarihi: 21.4.2015.

27. Altınal, B. E. Veganlığın Öncüleri, Vegan Abolisyon, Hayvan Hakları Dergisi, Sayı: 6, Güz, 2015; s. 3-7.

28. Degrazia, D. Hayvan Hakları, Türkçesi: Hakan Gür, Dost Kitabevi Yayınları, Ankara, 2002, s.105-109.

29. Binbaşaran Tüysüzoğlu, B., Gülsaçan, M. Türkiye’de GDO, Bilim ve Teknik, Ekim 2004,443, s. 36-43.

30. Reyhan, H. Çobanoğlu, N. “Biyopolitika Biyoetik Açısından Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar ve Tüketici Hakları” II. Ulusal Veterinerlik Hekimliği Tarihi ve Mesleki Etik Kongresi Bildiri Kitabı, Ed.: Aşkın Yalar vd., Konya, 2008, s. 275-294.

31. Siddiqui, S. A., Bahmid, N. A. Karim, I., Mehany, T. Gvozdenko, A. A., Blinov, A. V., Nagdalian, A. A., Arsyad, M. Lorenzo, J. M. (2022). Cultured meat: Processing, packaging, shelf life, and consumer acceptance, LWT, 172, 30, 114192

32. Bonny, S. P. F., Gardner, G. E. Pethick, D. W. and Hocquette J. F. What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? Journal of Integrative Agriculture 2015, 4, (2), 255-263.

33. Mateti, T., Laha, A., Shenoy, P. Artificial Meat Industry: Production Methodology, Challenges, and Future. JOM 74, 2022, 3428–3444. doi: 10.1007/s11837-022-05316-x

34. Thinktech STM Teknoloji Düşünce Merkezi, Yapay Et Teknolojisi, Trend Analizi Ekim 2021, https://thinktech.stm.com.tr/uploads/docs/1635149130_stm-yapay-et-teknolojisi.pdf? erişim tarihi: 24.9.2023.

35. Cardoso Alves, S., Díaz-Ruiz, E., Lisboa, B., Sharma, M., Mussatto, S. I., Kumar Thakur, V., Kalaskar, D. M., Kumar Gupta, V., Chandel, A. K., Microbial meat: A sustainable vegan protein source produced from agri-waste to feed the world, Food Research International, 2023; 166: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112596>.

36. Sabaté J. Soret S. Sustainability of plant-based diets: back to the future Am J Clin Nutr 100 (suppl), 2014, 476S–82S.

37. Elmacıoğlu, F. Yeni Kavram: Sürdürülebilir Beslenme, 16 Mayıs 2015 tarihli yazı, <https://www.haberler.com/yeni-kavram-surdurulebilir-beslenme-7314510-haberi/> erişim tarihi: 09.09.2023.

38. Donini, L. M. ve ark. (2016). A Consensus Proposal for Nutritional Indicators to Assess the sustainability of a healthy diet: the Mediterranean diet as a Case study, *Frontiers in Nutrition*, 2016, 3, 37.

39. Leitzmann, C. (2014) Vegetarian Nutrition: Past, Present, Future, Am J Clin Nutr 100 (suppl), 496S–502S.

40. Sağır G. (2017). Küreselleşmeden Geleneksele Dönüşte Slow Food ve Cittaslow Hareketi. 1, 1, 2, s. 50-59.

41. Foley, J. Beş Adımda Dünyayı Doyurma Planı, National Geographic Türkiye, Mayıs, 2015, s. 45, 53, 157.

42. Cittaslow Türkiye <https://cittaslowturkiye.org/> 10.09.2023

43. Paksoy M., Özdemir B. Yeni Bir Gıda Tüketim Alışkanlığı Olarak Slow Food (Yavaş Yemek) Hareketi. XI. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongre Kitabı, Cilt 3, Samsun, 2014, s. 1510-1519.

44. Slow Food. <https://www.slowfood.com/about-us/slow-food-terminology/> 2020, erişim tarihi: 10.09.2023.

45. Sırım V. Çevreyle Bütünleşmiş Bir Yerel Yönetim Örneği Olarak “Sakin Şehir” Hareketi ve Türkiye’nin Potansiyeli. Tarih Kültür ve Sanat Araştırmaları Dergisi, Aralık, Özel Sayı, 2012, 1, 4. s. 119-131.

46. Cramer H., Kessler C.S., Sundberg T., Leach M.J., Schumann D., Adams J., Lauche R., Characteristics of Americans Choosing Vegetarian and Vegan Diets for Health Reasons, *Journal of Nutrition Education and Behavior*, 2017, 49, 7, s. 561-568.

47. Kınıkoğlu, M. Vegan Beslenme, 1. Baskı, Oğlak Yayıncılık, İstanbul, 2015, s. 19.

48. Orlich M. J., Singh P. N., Sabaté J, Fan J., Sveen L., Bennett H., Knutsen S. F., Beeson W. L., Jaceldo-Siegl K., Butler T.L., Herring RP, Fraser GE. Vegetarian dietary patterns and the risk of colorectal cancers. *JAMA Intern Med.*, 2015, 175, 5, s. 767-76. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.59

49. Le L. T., Sabaté J., Beyond meatless, the health Effects of vegan diets: Findings from the adventist cohorts. *Nutrients*, 2014, 6, s. 2131–2147.

50. Masson, J. M. Tabağındaki Yüz, Gıda Hakkındaki Gerçekler, 1. Baskı, Çev.: Zülal Kalkandelen, Paloma Yayınevi, Ankara, 2015.

51. Ahmed S. “Et Yemeyi Bırakmak Doğanın Zarar Görmesini Önleyebilir” Gaia Dergi, 5 Aralık 2015 tarihli yazı, <https://gaiadergi.com/et-yemeyi-birakarak-doganin-zarar-gormesini-onlenebilir/> erişim tarihi: 17.9.2023

52. Özkan, U. “Yapay Et: Geleneksel Etin Geleceği” Veg&Nature Dergisi, Vejetaryen ve Vegan, Sürdürülebilir Yaşam ve Hayvan Özgürlüğü Dergisi, Türkiye Vejetaryen Derneği yayını, İstanbul, Nisan-Mayıs-Haziran 2014, s. 18-20.

53. Taltekin, A. “Hayvanları Sevenlere İklim Değişikliğiyle Mücadele İçin 5 Neden, 5 Yöntem” Gaia Dergi, 7 Aralık 2015 tarihli yazı, <https://gaiadergi.com/hayvanlari-sevenlere-iklim-degisikligiyle-mucadele-icin-5-neden-5-yontem>, erişim tarihi: 18.9.2023.

54. Sato K. Cultured Meat Production Technology: Challenges and Future Development, Mitsui & Co. Global Strategic Studies Institute Monthly Report, 2020, https://www.mitsui.com/mgssi/en/report/detail/_icsFiles/afieldfile/2021/01/18/2011t_sato_e.pdf, erişim tarihi: 23.9.2023

55. Fayaz Bhat Z., Kumar S., Fayaz H. In vitro meat production: Challenges and benefits over conventional meat production, Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14, 2, s. 241-248.

56. Milburn J. How should vegans respond to in vitro meat? 1 Şubat 2019 tarihli yazı, <https://www.vegansociety.com/about-us/research/research-news/expert-series-2-how-should-vegans-respond-vitro-meat>, erişim tarihi: 25.9.2023

57. Ulaş, Laboratuvarda Üretilen Tavuk Etinin Satışına Onay Verildi! 22 Haziran 2023 tarihli yazı, <https://onedio.com/haber/laboratuvarda-uretilen-tavuk-etinin-satisina-onay-verildi-1156412>, erişim tarihi: 22.9.2023.

BÖLÜM VIII

HÜCRESEL PROTEOSTAZIN KORUYUCULARI: ISI ŞOK PROTEİNLERİ VE HASTALIKLAR ARASINDAKİ İLİŞKİ

*Protections of Cellular Proteostasis: The Relationship between Heat Shock
Proteins and Diseases*

Kezban YILDIZ DALGINLI¹ & Onur ATAĞIŞI²

*¹Kafkas Üniversitesi, Kars Meslek Yüksekokulu,
Kimya ve Kimyasal İşleme Teknolojileri, Kars, Türkiye
E-mail: kezbandalginli@gmail.com,
ORCID: 0000-0002-1483-348X*

*²Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kars, Türkiye
E-mail: onuratakisi@hotmail.com,
ORCID: 0000-0003-1183-6076*

1. Giriş

Stres proteinleri olarak da adlandırılan Isı Şoku Proteinleri (HSP'ler), prokaryotik ve ökaryotik organizmalarda yaygın olarak bulunan oldukça korunmuş bir grup proteini temsil eden şaperonlardır (1). HSP'ler çok çeşitli stres faktörlerine karşı hassas bir stres biyobelirteçleri olarak kabul edilir (2). Organizmalarda yüksek sıcaklıklar, hipoksi, patojen istilaları, ağır metaller, açlık ve travmaya maruz kaldığında diğerlerinin yanı sıra HSP ekspresyonu hızla artar. HSP'ler; organizmaların uyarılara toleransını arttırmak ve hücrel homeostazı korumak gibi biyolojik fonksiyonlara sahiptirler (3). HSP prokaryotlarda, post-tranlasyonel katlanmada meydana gelirken, ökaryotlarda translasyon esnasında oluşur (4). Stres koşulları altında HSP'ler, yeni oluşan proteinlerin doğru katlanmasına yardımcı olur ve termal olarak hasar gören proteinlerin kümelenmesini engeller. Böylece, bir araya toplanmış proteinleri

açmak ve kısmen denatüre proteinlerin yeniden katlanmasını önleyen anahtar moleküler şaperonlar olarak görev yaparlar (2,5,6). HSP'ler, moleküler kütlelerine göre kategorize edilen HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 veya J-proteinleri ve HSP20 veya küçük HSP grubu dahil olmak üzere altı ana aileye ayrılmaktadır (7). Hücrede ısı şok proteinlerinin artışı, ısıya ek olarak ultraviyole (UV) ışınlarına maruz kalma, aşırı açlık, inflamasyon, enfeksiyon, toksin etkisi, etanol, arsenik maruziyeti, pH değişiklikleri, iskemi, enerji eksikliği, oksidatif fosforilasyon sorunları, iz element eksiklikleri ve dehidratasyon durumlarında gözlemlenir (8). Bununla birlikte, HSP'lerin koşaperon işlevlerinin yanı sıra, memeli hücrelerinde özellikle doğuştan gelen ve edinsel bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde rol oynayan çeşitli bağışıklık düzenleyici rolleri rapor edilmiştir (9,10).

Çevresel stres faktörlerinin HSP üretimini tetiklediği kesin mekanizmalar iyi bilinmemektedir. HSP üretiminin kesin mekanizmalarını ve stres etkenlerine karşı işlevlerini anlamak, hücrel proteostazın korunmasında önemli rol oynayan çeşitli moleküler şaperon ailesini temsil eder. Son gelişmelere odaklanan bu inceleme, sürekli genişleyen HSP alanına kapsamlı bir genel bakış sunmayı amaçlamaktadır.

2. Isı Şoku Proteinlerine Tarihsel Bakış

Strese karşı hücrel tepkiler kavramı, yüksek sıcaklıklara ve diğer durumlara tepki olarak hücre morfolojisi ve davranışındaki değişikliklerin ilk gözlemleri 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır (11). "Isı şoku proteinleri" terimi ilk kez 1962 yılında Ferruci Ritossa ve arkadaşları tarafından, ısı artışının, meyve sineği, *Drosophila melanogaster*'in tükürük bezi hücrelerinden elde edilen kromozomlarında şişkinliğe neden olması sunucu tespit edilmiştir (12). Kısa süreli uygulanan yüksek sıcaklık karşısında *Drosophila melanogaster*'in tükürük bezi kromozomlarında birden fazla yeni şişkinliklerin görüldüğü bildirilmiştir. Bu keşif HSP'lerin incelenmesinin temelini atmıştır (13,14,15). Daha sonra, 1974 yılında Tissières ve ekibi tarafından "ısı şoku ile artan gen ürünü" olarak adlandırılmışlardır (13). 1970-80'lerde, ısı şoku proteinlerinin tanımlanması ve karakterize edilmesinde önemli ilerlemeler ile birlikte araştırmacılar bu proteinlerin biyokimyasal özelliklerini ve işlevlerini anlamaya başladılar (15). Araştırmacılar, 1980'lerin sonu ile 1990'lar arası dönemde, HSP'leri moleküler ağırlıklarına göre farklı ailelere sınıflandırdılar. Bu dönemde HSP'lerin stres koşulları altında protein katlanmasına yardımcı olan ve protein toplanmasını önleyen moleküler şaperonlar olarak işlev gördüğünü ortaya çıkardılar (16). 1990 ve 2000'ler dahil genetik ve moleküler

biyolojideki ilerlemeler, HSP genlerinin ve bunların ekspresyonunu kontrol eden düzenleyici mekanizmaların keşfedilmesine yol açtı. DNA'daki ısı şoku elemanları (HSE'ler), HSP gen ifadesinin kontrolünde önemli unsurlar olarak tanımlandı (17). 20. yüzyıl sonu ve yakın zamanlarda, HSP'lerin hastalıklarla ilişkisi ve tedavi potansiyeli üzerine çalışmalar ilerlemiştir. Araştırmacılar, HSP'lerin nörodejeneratif bozukluklar ve kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda rol oynadığını ortaya çıkardı. Bu bulgular HSP'leri hedef alan terapötik müdahalelere ilişkin araştırmalar için yeni yollar açmıştır (18). Son araştırmalar, HSP'lerin işlevlerine ilişkin protein katlamanın ötesinde diğer hücrenel süreçlerde bağışıklık düzenleyici rollerini ortaya koymaktadır. HSP'ler potansiyel terapötik hedefler olarak çeşitli hastalıklardaki uygulamalarını keşfetmeye devam etmektedir (19,20). Keşfedildiklerinde sadece ısı artışı ile sentezlendiği düşünülen proteinlere "ısı şok proteinleri/HSP" adı verilmiştir. Ancak HSP'lerin, ısı artışı dışında, oksidatif stres, besin eksikliği, iz element eksikliği, enfeksiyonlar, dehidrasyon, ağır metaller, UV ışınlar, enerji eksikliği, kimyasallar, arsenik maruziyeti, oksidatif fosforilasyon sorunları, alkol ve iskemik reperfüzyon yaralanmaları gibi çeşitli stres faktörlerine karşı cevap olarak indüklendiğinin ve arttığının tespit edilmesi, "stres proteinleri" olarak da adlandırılmalarına neden olmuştur (8,21,22).

3. Isı Şok Proteinlerin Sınıflandırılması

Isı şok proteinleri, molekül ağırlıklarına, sekans benzerliğine ve fonksiyonlarına göre sınıflandırılmıştır (Tablo1) (13,23). HSP'lerin, moleküler ağırlıkları, 8 kDa ile 110 kDa arasında değiştiği belirtilmiştir. Büyüklüklerine göre 5 ana grupta toplanırlar. Bu proteinler küçük HSP ailesi (8-32 kDa), 50-60 kDa HSP ailesi, 70 kDa HSP ailesi, 90 kDa ailesi ve 100 kDa ve üstü HSP ailesi olarak sınıflandırılır (14,21). Büyük moleküler ağırlıklı HSP'lerin ısı şokunun bulunmadığı durumlarda 37°C'de ekspresyonlarının bulunduğu belirtilir. HSP70 ve HSP90 bütün organizmalarda bulunurken, HSP110 ise çoğunlukla memeli hücrelerinde bulunur. Küçük ısı şok proteinlerinin ve glukoz düzenleyici proteinler olan (Grp 34, 47, 56, 75, 78, 94 ve 174 kDa)' in glukoz yokluğunda indüklendikleri tespit edilmiştir (14). Farklı moleküler ağırlıklı HSP'lerden HSP10, HSP60 ve HSP75 hücrede sitoplazma, mitokondri, endoplazmik retikulum ve çekirdek gibi farklı bölgelerde bulunurken, diğer HSP grupları ise fizyolojik koşullarda sitoplazma ve çekirdekte bulunurlar. Memelilerde üzerinde çok çalışılan HSP'ler; 60, 70, 90 ve 110 kDa moleküler ağırlığa sahip olanlarıdır (24). Bunlar arasında en belirgin olanı, 70 kDa ailesinin indüklenebilen üyesi olan 72 kDa ağırlığındaki HSP70 (HSP 72)'dir (25).

Tablo 1. Molekül ağırlığına göre ısı şok proteinlerin hücredeki yeri ve görevi

HSP ailesi ve üyeleri	Molekül ağırlığı(kDa)	Hücredeki lokalizasyonları	Hücredeki görevleri
Küçük HSP ailesi			
ubiquitin		Sitozol/Nükleus	Bazısı sitoskeletsel stabilizasyonun ve aktin dinamizminin sağlanması, bazıları antioksidan özellikli, bazıları ise HSP60 için kofaktör görevi görür.
$\alpha\beta$ - kristallin	8	Sitoplazma	
HSP10	22	Mitokondri	
HSP27	10	Sitoplazma/nükleus	
HSP32	20	Sitoplazma	
HSP40			Bazısı hücresel hücre iskeleti ve hücre geçişinden sorumlu, bazıları da damar sisteminde, bazıları HSP70 aktivitesinin düzenlenmesi, kollejinin işlenmesi ve/veya sekresyonunu sağlamaktadır.
HSP40		Sitozol/Nükleus	
HSP47	~40	Endoplazmik retikulum	Moleküler şaperon görevi ile yaparak proteinlerin düzgün katlanması.
HSP60			
HSP60	~60	Mitokondri	
TCP-1		Sitoplazma	
HSP70			Moleküler şaperon ve termotolerans özellikli gösterir.
HSP70(indüklenebilen)		Sitoplazma/nükleus	Katlanmış proteinlerin agregasyonunun engellenmesi,
Hsc70(gonat/constitutif)	~70	Sitoplazma/peroksizom	ATP' nin bağlanması, HSF1 aktivitesinin azaltılması.
Grp 78/BiP		Endoplazmik retikulum	
mt HSP70/Grp 75		Mitokondri	
HSP90		Sitoplazma	Moleküler şaperonun ifade edilmesi ve şaperon özelliği göstererek protein kümelerinin ayrılması
HSP90(α ve β)	90	Endoplazmik retikulum	
HSP100/Grp94/Gp96		Golgi kompleksi	
HSP110		Sitoplazma/nükleolus	Termal tolerans sağlanması, proteinlerin yeniden katlanması.
HSP110 (insan)	~110	Sitoplazma	
Apg-1 (fare)		Sitoplazma	
HSP105			

a) Küçük Isı Şok Proteinler (sHSP): Küçük HSP'ler, protein toplanmasını önlemede ve stres koşulları altında protein çözünürlüğünün korunmasında rol oynayan düşük moleküler ağırlıklı şaperonlardır (26). sHSP'ler moleküler ağırlıkları 8 ile 40 kDa'ya kadar değişir. Ubiquitin, HSP20(p20), HSP27, $\alpha\beta$ -kristallin ve HSP32 gibi proteinleri içeren bu HSP ailesinin birçok dokuda indüklendiği bilinmektedir (25,27). Bu proteinler, özellikle denatüre proteinleri korumada ATP'den bağımsız olarak çalıştıkları belirtilir. Küçük ısı şok proteinlerinin şaperon etkisini genellikle hücre iskeleti üzerinde gösterdiği bilinmektedir (28). Küçük ısı şoku proteinleri, HSP60 ve HSP70'den farklı olarak, proteinlerin düzgün katlanmasında yardımcı olmak yerine hücresel stres yanıtı sırasında kısmi olarak katlanmış proteinler ile etkileşime girerek bu proteinleri stabilize ettikleri ve onlara yapışarak çökelmelerini önledikleri belirlenmiştir (27). Organizmalardaki dağılımı son derece değişken olup, mantarlarda sadece bir tane küçük ısı şok proteini gözlemlenirken, bitkilerde yirmiden fazla farklı tipte küçük ısı şok proteini saptanmıştır (29). sHSP ailesi üyelerinin hücre dengesi, hasar cevapları ve hastalıklarda önemli rol oynadıkları belirtilir. Büyük molekül ağırlıklı HSP'ler bir çok organizmada bulunan stres proteinleri iken, küçük molekül ağırlıklı HSP'lerin türler arasında spesifik olduğu ifade edilmiştir. Örneğin; HSP40 balıklarda, midye ve salyangoz gibi sucul organizmalarda tespit edilmiştir (30,31). Küçük ısı şok proteinlerinden HSP27, üzerinde çeşitli araştırmalar yapılmış en yaygın olan HSP'dir (32).

b) Ubiquitin: Tüm ökaryotlarda yaygın olarak görülen, evrim içerisinde yüksek oranda korunmuş bir yapı gösteren küçük bir proteindir. HSP8 olarak da adlandırılan ve 8 kDa moleküler ağırlığında olan bu protein, proteolizis adı verilen protein yıkımına (degradasyonu) işleminde görev aldıkları belirtilir. Hücre içi proteinlerinin yıkıma uğramadan önce ubiquitin tarafından kovalent modifikasyona uğratıldığı belirtilmiştir (33,34). Protein yıkımındaki rolü nedeniyle, hücre stres yanıtı mekanizmasının bir parçası olarak bu proteinin ısı şokuna karşı hücre içindeki seviyesinin arttığı belirlenmiştir (33). Hem maya hem de tavuklarda ubiquitin proteininin ısı şoku ile uyarıldığı saptanmıştır (34). Stresten sonra ubiquitin seviyesindeki artış, stres nedeniyle denatüre olan proteinlerin hedeflerini bulmasını ve uzaklaştırılmasını kolaylaştırdığı belirtilir. Ubiquitin ile birleşmiş olan proteinlerin yıkım için işaretlenmiş olarak lizozomal olmayan yollarla hücreden uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir (33).

c) HSP20 (p20): HSP20'nin biyolojik fonksiyonları tam olarak açık bir şekilde anlaşılamamıştır (35). HSP20, sıçan ve insan iskelet kaslarından izole edilmiştir ve kas içinde total hücresel proteinlerin % 1,3'üne ulaşabilir. Amino asit dizilişi, HSP27 ve $\alpha\beta$ -kristallin ile büyük benzerlik göstermektedir (33).

d) α - Kristallin: α -B-kristallin 22-kDa moleküler ağırlığa sahip olup, kalp ve iskelet kası gibi yüksek düzeyde mitokondri içeren dokularda, beyin ve dalak dokularında yer almaktadır (35). α -kristallinin, α -A-kristallin ve α -B-kristallin olmak üzere iki farklı tipi bulunmaktadır. α A-B-kristallin kristallin'lerin ikisi de aynı geni taşımalarına rağmen buldukları dokular farklılık göstermektedir. α -A-kristallin kristallin özellikle lenste bulunurken, α -B-kristallin birçok farklı dokuda bulunmakta ve stres ile indüklenmektedir. α -B-kristallin moleküler şaperon olarak hizmet ederken aynı zamanda stres sonucu denaturasyona uğramış olan proteinlerin agregasyonunu da önler. Stresin ortadan kalkmasıyla birlikte, bu proteinlerin hücre içi katlanmış yapısına geri dönmelerini sağladığı bildirilmiştir (33).

e) HSP27: Küçük HSP ailesinin bir üyesidir. HSP25 ve HSP28 olarak da belirtilmiştir (33). Hem sitoplazma hem de nükleusda yer alırlar. Ancak hücredeki lokalizasyonu, hücrenin karşılaştığı stresin tipine, şiddetine ve hücrenin fizyolojik koşullarına göre değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Stresiz koşullar altında sitozole yerleştiği, stres sırasında nükleusun içine lokalize olduğu belirtilmiştir. Bu proteinler normal hücrelerde duruma göre düşük miktarda eksprese edilirken stresten sonra hücrede indüklenmesi 15-20 kat daha fazla eksprese edilir. Kalp dokusunda HSP27'nin yüksek oranda konsantrasyonu olduğu belirtilmiştir (33,36). Bu protein, termotoleransın yanı sıra, apoptozisin engellenmesinde, hücrelerin enflamatuvar mediyatörlerin sitotoksitesinden korunmasında yara iyileşmesinde rol aldıkları bildirilmiştir (37). HSP27'nin en büyük fonksiyonu mikrofilamentlerin stabilizasyonu ve sitokin sinyal transdüksiyonu olmasıdır. Ayrıca HSP27'nin, hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) potansiyel yıkım ürünlerinin ortadan kaldırılmasında da görev aldığı ifade edilmiştir (38). HSP27'nin, deneysel modellerde birçok kanser tipinde ve tümörojik potensiyeli olduğu bildirilmiştir (39).

f) HSP32: HSP32 oksijenaz sisteminin indüklenebilen bir formudur ve oksijenaz 1 (HO1) olarak da tanımlanmaktadır. HSP32 geninin oksitleyici ajanlar ve serbest oksijen radikallere karşı güçlü bir şekilde indüklendiği bildirilmiştir (33).

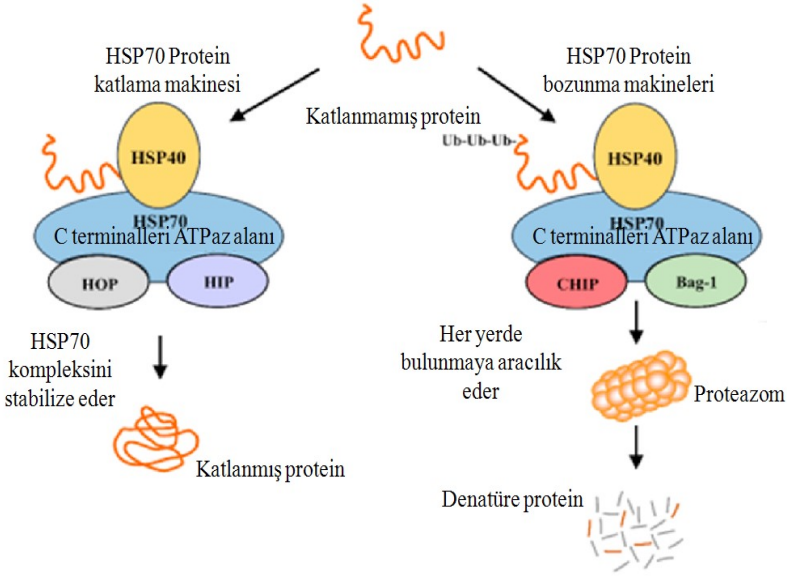
g) HSP40 (DnaJ): DnaJ proteinleri olarak da bilinen HSP40 proteinleri, protein katlanmasına yardımcı olmak için HSP70 şaperonlarıyla işbirliği yapan yardımcı şaperonlardır (40,41).

h)HSP 60: Mitokondriyal şaperon olarak adlandırılan bu ısı şok proteininin çoğunlukla mitokondri matriksinde lokalize olmasına rağmen, mitokondri dışındaki bölgelerde de bulunduğu belirtilmiştir. HSP60'ın mitokondriyal proteinlerin katlanmasına, denatüre olmuş proteinlerin ya da proteolitik dejenerasyon sonucu yanlış protein katlanmasını önlediği bilinmektedir (42). Ayrıca HSP60'ın, proteinlerin sitoplazmadan mitokondri matriksine taşınmasında ve aminoasit zincirlerinin fonksiyonel yapılara düzgün bir şekilde katlanmasında görev aldıkları tespit edilmiştir. HSP60'ın aynı zamanda programlı hücre ölümü olan apoptozisi önlemede anahtar rol oynadığı belirtilmiştir. Hücrede ısı şoku sırasında HSP60 proteinini kodlayan genlerin transkripsiyonunda bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış, HSP60'ın sadece moleküler şaperon olarak değil, aynı zamanda stres yanıtında da görev aldığını göstermektedir. (43). Bakterilerde GroEL/GroES olarak da bilinen HSP60'ın, tipik olarak büyük silindir benzeri yapılar olduğu belirtilir (16,44). Farklı bakteri türlerinin HSP60'ı DNA ve protein seviyeleri %95'den fazla homolog sekans gösterirken, insan ve bakteri HSP60'ı arasında %55'den fazla homolog sekans gösterir (45).

1) **HSP 70:** HSP70 ailesi, en iyi bilinen ve en kapsamlı şekilde incelenen HSP ailelerinden biridir. Bu ailenin üyeleri yaklaşık 70 kDa'luk moleküler ağırlıklarıyla karakterize edilir ve korunmuş bir ATPaz alanını paylaşırlar (23,40). HSP70 ailesinin üyeleri ökaryotlarda farklı intrasellüler bölgelerde bulunmaktadır (46). İnsan hücrelerinde, HSP70 aile üyesinin 4 izoformu bulunur. Bunlar stres uyarımlı HSP70, konstitutif eksprese olan ısı şok gonadı (HSC70), mitokondriyal HSP75 (mt-HSP75) ve glukoz düzenleyici protein (Grp78)'dir. HSP70'in ısı şok gonat aile (HSC70) üyesinden, indüklenebilen HSP72 ve HSP73 çekirdek ve sitoplazmada lokalize olmuşken, HSP75 mitokondride, glukoz düzenleyici protein olan Grp78 endoplazmik retikulumda lokalize olmuştur. Grp78'in endoplazmik retikulumda proteinlerin toplanması, katlanması ve translokasyonunda görev aldığı, mt-HSP70'in sitozolden mitokondriye proteinlerin taşınması ve katlanmasında görev aldığı belirtilmiştir (14,33,47,48). HSP 70 protein ailesi, strese cevaben stresin zararlı etkilerinden hücreyi koruyarak, katlanmamış polipeptit zincirine bağlanarak proteinlerin agregasyonunu önler, denatüre proteinleri parçalar, protein bozulmasını engeller ve proteinlerin taşınmasında kolaylık sağlar. HSC70 ayrıca denatüre olmuş

proteinlere bağlanarak lizozomal parçalanma için, proteinlerin taşınmasına yardımcı olur. Mitokontri lümeninde belirlenmiş olan, Mt-HSP70, mitokondriyal proteinlerin taşınmasını sağlayarak şaperon gibi proteinlerin doğru katlanmasına yardım ettiği bildirilmiştir (46).

HSP70'in yapısında iki ana fonksiyonel bölge bulunur. Birincisi, N-terminal ATPaz bölgesi: bu bölge ATP'yi bağlar ve onun hidrolizini ADP ye dönüştürür. İkincisi ise, C-terminal bölgesi: polipeptitleri bağlar (21,47). HSP70 hidrofobik peptidlere afinite gösterir ve bu afinitenin ATP'nin hidrolizinden sonra arttığı ifade edilir. HSP70'in protein katlanma sürecinin ATP ve ADP fazı olmak üzere iki fazda gerçekleştiği kanıtlanmıştır. ATP fazında, HSP70 proteini ATP'ye bağlıdır. ATP, ısı şok protein molekülünün C-terminal bölgesini etkileyerek substrat bağlayıcı bölgenin açık kalmasını sağlar. Ancak, ATP bu bölgenin substrata olan afinitesini azaltır. HSP40 (DnaJ) proteinleri, substratların bu bölgeye bağlanmasını sağlar. Aynı zamanda DnaJ proteinleri, HSP70'deki ATPaz aktivitesini artırır ve moleküle bağlı olan ATP'nin ADP'ye dönüşmesini sağlar. ADP molekülü, ısı şok protein molekülünün C-terminal bölgesini etkileyerek substrat bağlayıcı bölgenin kapalı kalmasını sağlar. ATPaz'ın ikincil ve üçüncül yapısı aktinin yapısına benzemektedir. Peptid omurgası, amino ve karboksil gruplarına yan zincirlerle ve subdomainindeki omurga gruplarıyla hidrojen bağı oluşturur Formun Üstü(47). Yeni sentezlenmiş proteinler ribozomlardan çıkar çıkmaz, substrat bağlayan bölgedeki hidrofobik amino asit kalıntıları dizisini tanır ve bu bölge ile etkileşime girer. Bu spontan etkileşim geri dönüşümlüdür, bu nedenle ATP'ye bağlı formu peptidleri serbestçe bağlar ve serbest bırakır. Substrat bağlayan bölgeye bağlı peptid, HSP70'in ATPaz aktivitesini uyarlar ve böylece ATP hidroliz oranını artırır. ATP, ADP'ye hidroliz olduğunda HSP70'in bağlayan bölgesi kapanır. HSP70 genellikle ATP bağlı formunda bulunur ve çok zayıf ATPaz aktivitesine sahiptir. ADP bağlı form ile ATP bağlı form arasındaki dönüşüm, peptid bağlama ve yardımcı koşaperonlar ile katalize edilir. Bu koşaperonlar, etkileşimde olduğu proteinlerin varlığında HSP70'in ATPaz aktivitesini artırır. Koşaperonlara örnek olarak ökaryotlarda HSP40 ve prokaryotlarda DnaJ gösterilmiştir. (47).



Şekil 1. HSP70'in Katlanmamış Polipeptitlerle Etkileşimi: HSP70 refakatçi makineleri. HOP ve CHIP, protein katlanması ve bozulması sırasında HSP70'in C-terminali için rekabet ederken, HIP ve Bag-1, ATPase alanı için rekabet eder. HIP veya Bag-1 bağlanma bölgesine bağlı olarak HSP70, protein katlanmasına (HIP/HOP yolu; (A) veya proteazom yoluyla protein bozulmasına (CHIP/Bag-1 yolu; (B). Ub=ubikuitin) yol açabilir (47,49).

HSP70-ATP kompleksi katlanmamış polipeptitlere bağlanır. HSP40(DnaJ) tarafından uyarılarak gerçekleşen ATP'nin hidrolizi ile HSP70'in katlanmamış polipeptitlere afinitesi artar.

i)HSP 90: HSP 90, protein homeostazisi ile ilişkili ATP'ye bağımlı bir şaperondur. Bir dizi anahtar hücrel protein ve protein kompleksinin homeostazisi için gereklidir (50). HSP 90 ailesinin, indüklenebilen formu HSP90 α ve konstitutif formu HSP 90 β olmak üzere iki temel izoformu bulunmaktadır. Ancak bu aile içine endoplazmik retikulumda lokalize olan Grp94 ve mitokondri matriksinde lokalize olan HSP75/TRP1 (Tümör nekroz faktör tip 1 reseptörü ilişkili protein 1)'de kabul edilmiştir (51). HSP 90 ailesi prokaryot ve ökaryotik organizmaların tümünde yaygın olarak bulunurlar. Hücrede HSP 90 daha çok nükleus, endoplazmik retikulum ve sitoplazmada bulunurlar. HSP 90 kısmen katlanmış olan proteinlere bağlanarak protein

yığılmalarını önler. Transkripsiyon faktörleri (örn. HIF1a, ATF3 ve p53), tirozin kinaz ve steroid hormon gibi proteinlerle spesifik kompleksler oluşturarak bağlandıkları proteinlerin fonksiyonlarını düzenledikleri belirtilir (52).

Tümör hücre hattı çalışmasında, HSP90 α ve HSP90 β 'nin HCT116 ve HeLa hücrelerinde ekspres edildiği ortaya konulmuştur. Ayrıca HSP90 α , A673 (rabdomiyosarkom) MCF-7 ve A549 (akciğer kanseri) hücre hatlarında, HSP90 β Saos-2(osteosarkoma), SK-N-SH, HL-60(akut promiyelositik lösemi) ve A375(deri kanseri) hücre hatlarında tespit edilmiştir (42). Hormonal reseptörlerin düzenlenmesinde HSP90'nın rolü olduğu ve pek çok hormonal hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına yardımcı olduğu tespit edilmiştir. HSP90'ın aşırı ekspresyonunun tümör gelişimi ve prognoz ile ilişkili olduğu ve HSP90 ailesinin kanserde klasik şaperon ailesi olarak kabul edildiği belirtilmiştir (51). Ayrıca, sinyal yollarında ve tümör yayılmasının engellenmesinde görev aldığı düşünülmekte ve hücre içinde en çok işlevi olan stres proteini (53).

j) HSP100: Bu grup HSP ailesi 100-110 kDa arasında büyük moleküler ağırlığa sahiptirler. Fizyolojik koşullar altında memeli hücre yapısında düşük miktarda bulunurlar. Stres altında indüklenebilirler ve sürekli sentezlenen gonatlar (Hsc) olarak bilinmektedirler. Ayrıca polipeptit ve ATP bağlanma özelliklerine sahip oldukları ve proteinlerin yeniden düzenlenmesinde görev aldıkları ifade edilir (22,54,55). HSP100, moleküler şaperon özelliği göstererek protein kümelerinin ayrılması ve yeniden katlanmasında rol oynar. HSP100, aktin bağlayıcı proteinler kategorisinde yer alır ve çapraz aktin bağlama yeteneğine sahiptir. Ayrıca bitkilerde yüksek ısı toleransında önemli bir rol oynar, ancak sadece çimlenme ve büyüme esnasında gerekli değildir (56).

4. Isı Şok Proteinlerinin Sentezi Ve Protein Katlanması

Isı şoku tepkisi, yüksek sıcaklıklar gibi stres faktörlerine maruz kalma üzerine memelilerde başta ısı şoku transkripsiyon faktörü 1 (HSF1) olmak üzere spesifik transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu içeren bir hücresel süreçtir. Isı şok proteinlerinin genlerinin düzenlenmesine Isı şok faktör (HSF) aracılık etmektedir. HSF bu düzenlemeyi HSP genlerinin promotör bölgesinde ısı şok elemanı (HSE) denilen bölgeye bağlanmak suretiyle gerçekleştirir. Omurgalılarda HSF'den HSF1 ve HSF2 olmak üzere iki grup belirlenmiş olup, her yerde ekspres olmakta ve bulunmaktadır. Omurgalılarda HSF1 aktivitesi çevresel ve fizyolojik strese cevapta temel rol oynarken, HSF2 aktivitesi daha seçici olup, çoğunlukla farklılaşma ve gelişmenin erken dönemlerinde aktive

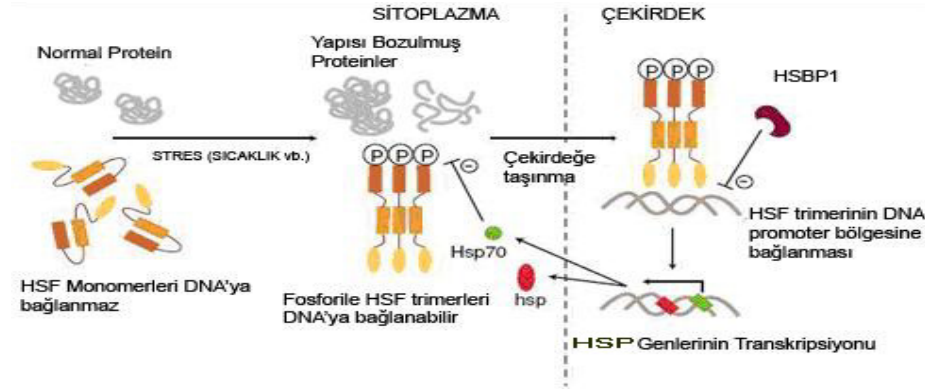
olduğu ifade edilmiştir (13). HSF1'in aktivasyonu, trimerizasyonu ve çekirdeğe translokasyonu ile sonuçlanır; burada HSP genlerinin promotör bölgelerindeki ısı şok elemanına (HSE) bağlanır. Bu bağlanma, HSP70, HSP90, HSP60 ve diğerleri dahil olmak üzere HSP genlerinin transkripsiyonel aktivasyonuna yol açar (57). HSF1'in çalışması; ısı şoku, oksidatif stres veya amino asit analogları gibi doğal olmayan proteinlerin neden olduğu tüm stres koşullarında uyarılır. Isı şok, protein sentezinin engellenmesine ve yeni oluşan polipeptid zincirlerinin yanlış katlanmasına yol açar. HSF1, doğal olmayan proteinlerin varlığında gösterilen hücresel tepkide önemli bir rol oynayan bir transkripsiyon faktörü olarak kabul edilir (58). Normal şartlarda HSF1 DNA'ya bağlanabilme aktivitesi olmayan latent monomer molekül halinde sitoplazmada bulunur. Ancak strese maruz kaldığında HSF1 aktif formu olan ve DNA'ya bağlanma kapasitesi olan aşırı fosforile olmuş trimerler halinde sitoplazmadan çekirdeğe taşınır. Oligomer forma geçen HSF1 promotör bölgedeki HSE'ye bağlanır ve sonuçta ısı şok protein genlerini kodlayan genlerin transkripsiyonlarında artış gözlenir (13). HSF1 aktivasyonu üzerine, RNA polimeraz II, HSP gen promotörlerine alınır ve transkripsiyon başlatılır. Ortaya çıkan mRNA transkriptleri, kapatma, birleştirme ve poliadenilasyon dahil olmak üzere transkripsiyon sonrası modifikasyonlara tabi tutulur (59).

Isı şok proteinlerinin ekspresyonlarının düzenleyen bir diğer mekanizmada, ısı şok protein gen transkripsiyonunu gerçekleştiren, HSF1'in transaktivasyon bölgesine HSP70'in bağlanmasıdır. Hücre içerisinde bozulmuş proteinlere bağlanma açısından, HSP72 ile HSF arasında bir yarış başlar. Bu sürecin bir sonucu olarak, HSP72, HSF'den ayrılarak hasar görmüş proteinlere bağlanır ve HSF serbest kalır. HSF'nin oligomerizasyonu, HSF-DNA bağlantısını artırır ve HSP72 mRNA ve HSP72 proteininin sentezinin artmasına yol açar (33,60). Sentezlenen mRNA, ısı şoku protein öncü molekülleri üretmek için ribozomlar tarafından çevrilir. Öncü moleküller daha sonra işlenir, katlanır ve HSP70 ve HSP90 gibi diğer HSP2ler de dahil olmak üzere çeşitli şaperon proteinleri tarafından fonksiyonel formlarına dönüştürülür (41).

Isı şoku proteinleri ayrıca fosforilasyon, asetilasyon ve ubikuitinasyon gibi translasyon sonrası modifikasyonlara da uğrayabilir ve bu da stabilitelelerini ve aktivitelerini etkileyebilir (40).

HSP gen düzenlemesine katkı sağlayan diğer bir faktör, hidrofobik bölgeleri ile etkileşime giren ve düzenlemeye katılan bir protein olan ısı şok faktörü bağlanma proteini (heat shock binding protein 1, HSBP1) trimerik yapısı ile tanınır. HSBP1, HSP70 geni ile etkileşime girerek stres yanıtı

mekanizmasında görev alır. Isı şok yanıtının azalmaya başladığı durumlarda HSF1'in transkripsiyonel aktivitesi, HSP70 ile doğrudan etkileşim yoluyla zayıflatılır ve HSBP1 aracılığıyla negatif olarak düzenlenir. HSBP1, hem HSF1 hem de HSP70 proteininin hidrofobik bölgelerine bağlanarak kontrol edilir. Bu, trimerik formun yeniden monomerik inert forma çözülmesini tetikler (61).



Şekil 3. HSF Aracılığıyla Sıcaklık Şok Protein Genlerinin Aktivasyonu (22).

5. Hastalıklarda Isı Şok Proteinlerin Rolü

5.1.Kanserde Isı Şok Proteinlerin Rolü

HSP'ler farklı durumlarda hücre ölümünü engelleyen ve apoptozise etki gösteren güçlü anti-apoptotik proteinlerdir (62). Bu proteinler, kanser hücrelerinin yanı sıra tüm hücrelerde bulunur. Kansere karşı immün cevabın geliştirilmesi ve kanser kemoterapisine karşı direnç oluşturulmasına da katkı sağlarlar. HSP düzeyinin artması, hücrelerin apoptoza karşı daha dirençli hale gelmesine yol açar. Kanser hücrelerinde, bu durumun hem hücrenin kendini korumasına hem de kullanılan ilaçlara karşı direnç mekanizmalarının gelişimine katkı sağladığı söylenir. Ancak, bu proteinlerin güçlü immünojenik özelliklere sahip olmaları nedeniyle immün cevabın uyarılmasında da rol aldıkları bilinir. Makrofajlar ve sitotoksik T lenfositler (CD8) aracılığıyla, tümöre karşı immün sistemin devreye girmesinde önemli bir rol oynarlar (63,64).

HSP'lerin apoptozisin baskılanmasında ve HSP'ye bağlı hücre korumasında katkı sağladığı gösterilmiştir. Hücre koruması ve apoptozis arasındaki ilişkiyi de strese yanıt veremeyen hücrelerde apoptozis yoluyla indüklenen hücre ölümüne duyarlılığı ile kanıtlanır (65).

HSP'lerin uygun olmayan hücre ölümünü tetiklemeyen apoptotik yolun pek çok noktasında hareket edebildikleri kabul edilir. Kanserli hücrelerde HSP'lerin artan ekspresyonları kanserle ilgili kendiliğinden gerçekleşen hücre ölümüne karşı hücreyi korumasında, kanserin ilerlemesinde ve tedaviye karşı dirençte önemli rol oynadıkları belirtilir. Kanser hastalarının kanserli hücrelerinde HSP-peptit kompleksleri oluştuğu ve bu anormal peptitlerin hasta hücreler içerisinde bulunduğu, kanserin türlerine göre ve bireyden bireye farklılık gösterdiği belirtilir. Bu nedenle normal olmayan peptitlerin az miktarda oluşumu bile kanser düşüncesinin akla getirilmesi gerektiği savunulur (66).

Kanserin büyümesi, yayılması ve metastazını içeren moleküler olayları HSP'lerin nasıl etkilediği ve kanserin yıkımında HSP'lerin nasıl düzenlendiği konusunda tam bir bilgi bulunmamaktadır. Aynı zamanda anti-apoptotik araçların aktif hale getirilmesinde ve korunmasına katıldıkları belirtilir (65).

Apoptotik sürecin baskılanmasında özellikle stresle indüklenen HSP'lerden HSP90, HSP70 ve HSP27'nin sentezlendiği ve kanser hücrelerinde bu üç HSP'ninde anormal seviyede arttığı belirtilir (62).

5.2. İmmun Yanıtta Isı Şok Proteinlerin Rolü

HSP'lerin, bağışıklık yanıtı düzenlemede önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. HSP'ler, moleküler şaperonlar olarak hareket ederler ve hem doğal hem de edinsel bağışıklık yanıtlarını düzenlerler (67,68). Çeşitli hastalık durumlarında ve enfeksiyonlarda, hücre dışındaki HSP'lerin hücreleri bu stres durumundan korumak için bağışıklık sistemine güçlü sinyaller göndererek uyardığı ve hücrede ısı şok proteinlerine karşı immün cevap gerçekleştiği tespit edilmiştir (66). HSP'ler, genellikle stres altındaki veya hasar görmüş hücrelerden salınır ve bu nedenle bağışıklık sistemi için önemli tehlike sinyalleri oluştururlar. Hücre dışı HSP'ler, bağışıklık hücrelerinin, örneğin toll benzeri reseptörler (TLR'ler) ve CD91 gibi spesifik reseptörlere bağlanarak pro-enflamatuar sinyal yollarını tetikleyebilirler (69,70). Bakteriyel ve memeli HSP aminoasit dizilimi arasında yaklaşık %50-60 oranında benzerlik bulunmaktadır. Bakteriyel HSP, insanda otoimmün T hücrelerini aktive eder, fakat bu benzerlik nedeniyle bakteriyel HSP'ye karşı gelişen reaksiyonlar, insan HSP homologlarına yönelebilir. Bakteriyel HSP'ler özellikle HSP60 ve HSP70, antikor üretimi ve T hücre aktivasyonunu içeren yüksek immunojenik yeteneklere sahiptirler. Bakteriyel HSP60 ve HSP70'e karşı oluşturulan antikorlar ve T hücreleri aynı zamanda çapraz reaksiyonların bir sonucu olarak sırasıyla memeli HSP60 ve

HSP70'ini tanırlar. HSP'lerin çapraz epitoplari immün tanınmada enfeksiyon ve otoimmünite arasında bir bağlantı sağlar (13,22).

Bakterilerin oluşturduğu stres proteinleri ile insanın ürettiği stres proteinleri arasındaki moleküler benzerlik nedeniyle, konakçı bazen patojen proteinlerin yabancı olduğunu tanıyamayabilir veya bir patojenin stres proteinlerine sürekli maruz kalması, hücrenin kendi savunma mekanizmalarını aşarak otoimmün hastalıklara neden olabilir. Bu durumda, konakçı kendi stres proteinlerine ve çapraz reaksiyon gösterebilen diğer yapılarına karşı otoimmün cevaplar geliştirebilir (71). Bu yüzden anti-HSP60 ve anti-HSP70 antikorları ve T hücreleri dokuların hasarına ve antiinflammatuar reaksiyonlara neden olurlar. Böylece HSP60 ve HSP70 tip-1 diyabet, Crohn hastalığı, ateroskleroz ve kronik juvenil romatoid artrit gibi çeşitli otoimmün ve inflammatuar hastalıkların pataogenezisinde rol oynadıkları belirtilmiştir (21). Hücre dışı HSP'ler, dendritik hücreleri, makrofajları ve nötrofilleri aktive ederek doğal bağışıklık sistemini uyarabilirler. Bu aktivasyon, interleukin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) gibi pro-enflamatuar sitokinlerin salınmasına neden olabilir, böylece inflammatuar bir yanıtı teşvik eder (67,72). HSP'ler, edinsel bağışıklık yanıtını da etkileyebilir. Hücre içi HSP'ler, antijenik peptitleri major histokompatibilite kompleksi (MHC) moleküllerine şaperonluk yaparak T hücrelerinin aktivasyonunda kritik bir adım olan antijen çapraz sunumu olarak bilinen bir süreci destekleyebilirler (73). HSP'lere verilen bağışıklık yanıtı, otoimmün hastalıkların gelişiminde etkili olabilir. Bazı durumlarda, kendiliğinden HSP'lere karşı bağışıklık yanıtları oluştuğunda HSP'ler otoimmün hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Tersine, HSP'ler belirli bağlanmalarda bağışıklık tolere edebilir (74). HSP'ler, aşuların ve immünoterapilerin potansiyel bileşenleri olarak araştırılmıştır. Belirli antijenlerin HSP'lere bağlanmasıyla, araştırmacılar bu antijenlere bağışıklık yanıtını artırmayı amaçlarlar ve bu da aşı etkinliğini potansiyel olarak artırabilir (75). HSP'ler aynı zamanda kanser immünoterapisi bağlamında da incelenmektedir. Kanser hücrelerinden elde edilen HSP-peptit kompleksleri, antitümör bağışıklık yanıtlarını uyarabilmek için kullanılabilir. Bu yaklaşım, ısı şok proteini tabanlı immünoterapi olarak bilinir ve ön klinik ve klinik çalışmalarda umut vadetmektedir (76).

5.3. Yaşlanmada Isı Şok Proteinlerin Rolü

HSP'ler yaşlanma süreciyle ilişkilendirilmiştir; ekspresyon ve fonksiyondaki düşüşleri hücrenel yaşlanma ve yaşa bağlı hastalıkların gelişimi ile ilişkilidir (77). Hücrenel yaşlanma, geri dönüşü olmayan hücre döngüsü

durması ve pro-inflamatuar moleküllerin salgılanmasıyla karakterize edilen, yaşlanmanın bir işaretidir. HSP'lerin, p53 ve p16INK4a gibi yaşlanmayla ilgili temel proteinlerin stabilitesini ve fonksiyonunu düzenleyerek hücreSEL yaşlanmayı modüle ettiği gösterilmiştir (78,79). Yaşlılık boyunca, ısı şoku etkisiyle çeşitli hücre tiplerinde hem *in vivo* hemde *in vitro* olarak HSP üretiminin azaldığı tanımlanmaktadır. Ayrıca normal bireylerin periferel kan mononükleer hücrelerinde ısı şoku ile artan HSP üretiminin yaşlı bireylerde azalması yaşlanmayla ilişkilendirilmiştir. Bununla birlikte, normal fizyolojik şartlar altında yaşla periferel kan mononükleer hücrelerde bazal seviyedeki bazı HSP'lerin arttığı bulunmuştur (80). Yaşla birlikte artan stres yanıtı kapasitesinde bir gerileme olduğu ve serumdaki HSP düzeylerinin yaşla birlikte azaldığı gözlemlenmektedir. Birçok dokuda, özellikle kalp gibi dokularda, yaşla birlikte HSP70 ekspresyonunun azaldığı rapor edilmiştir. HSP70, kalp korumasında önemli bir rol oynar ve yaşlanmış miyokard hücrelerinde azaldığında, bu durum hücre ölümüne yol açabilir (81).

5.4. Nörodejeneratif Hastalıklarda Isı Şok Proteinlerin Rolü

Protein hasarının, özellikle çoklu mitotik olaylarla kendilerini yenileyemeyen nöronal hücreleri etkilediği zaman tehlikeli hale geldiği bilinmektedir. Alzheimer hastalığı, Wilson hastalığı, Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, Aleksander ve Amyotrofik lateral skleroz (ALS) hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıkların çoğunda, sinir hücrelerinde büyük protein agregasyonları gelişir. (82). Bu inklüzyon cisimcikleri genellikle, küçük ısı şoku proteinlerinden HSP27 ve ubiquitin, büyük moleküler ağırlıklı HSP70 ve HSP90 gibi çeşitli ısı şok proteinleri içerdiği belirtilir. HSP'ler, amiloid-beta (A β), tau, alfa-sinüklein, avcılık ve mutant SOD1 dahil olmak üzere hastalıkla ilişkili bu proteinlerin doğru katlanmalarını veya bozulmalarını kolaylaştırarak toplanmasının önlenmesinde rol oynar. Isı şok proteini ortak agregasyonu bu hastalıkların agregasyon sürecine karşı mücadele yansıttığı düşünülür. Bu görüşe göre nörodejeneratif hastalıkların nörodejenerasyonlarına karşı ısı şok proteinleri özellikle HSP70'in koruyucu etkisi olduğu tahmin edilir (83,84,85). HSP'ler, özellikle HSP70 ve HSP90, protein agregatlarının otofajik klirensinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar, böylece nörodejeneratif hastalıklarda toksik etkilerini azaltır. Şaperon aracılı otofaji (CMA), spesifik proteinlerin parçalanma için lizozomlara doğrudan translokasyonunu içeren seçici bir otofaji şeklidir (86). HSP70 ve HSP90, a-sinüklein ve tau dahil CMA substratlarının tanınmasına ve translokasyonuna yardımcı olarak bunların temizlenmesine

katkıda bulunur. Çalışmalar, HSP'lerin ekspresyonunu veya aktivitesini modüle etmenin nörodejeneratif hastalıkların başlangıcını ve ilerlemesini etkileyebileceğini göstermiştir. HSP70 ve HSP90 gibi spesifik HSP'lerin aşırı ekspresyonunun, nörodejeneratif hastalıkların hayvan modellerinde hastalıkla ilişkili proteinlerin toplanmasını ve toksisitesini azalttığı gösterilmiştir (87).

5.6. Romatoid Artrit İstisna Proteinler ve Otoimmünite

HSP'lerin romatoid artritteki (RA) otoimmün tepkiye katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Bazı çalışmalar HSP'lerin otoantijen görevi görebildiğini, bağışıklık tepkilerini tetikleyebildiğini ve RA hastalarında otoantikör üretimine katkıda bulunabildiğini ileri sürmektedir (88,89). Romatoid artritli hastaların kıkırdak ve derialtı nodüllerindeki sinoviyal hücrelerin sitoplazmalarında yüksek oranlarda HSP60'ın eksprese edildiği belirtilir. Ayrıca bu hastaların sinoviyal membran ve sıvılarında HSP60, HSP70, HSP90 ekspresyonu olduğu da gösterilmiştir (90,91).

İnsan sinoviyal T hücrelerinin sıklıkla mikobakterilerin HSP65'ini tanıdığı ve bu antijenlere karşı oluşan antikörlerin sıklıkla kanda yükseldiği belirtilmiştir. Devam eden enfeksiyon bakteriyel ısı şok proteinlerinin iki yolla T lenfositlerinin uyarmasına neden olur. Bakteriyel HSP'lerinin sinoviyal dokuda birikmesi bunların kollajen ve proteoglikanlar ile çapraz reaksiyon göstermelerine neden olabildiği düşünülür (92). Diğer taraftan insan ve bakteriyel HSP'leri arasındaki moleküler benzerliğin bulunması da bu olayda önemli derecede etkili olduğu varsayılır (90). Romatoid artritli hastaların periferik veya sinoviyal sıvı lenfositleri HSP60 peptidine artmış proliferatif yanıt gösterdiği ve HSP60 proteinlerinin hastalığın başlamasına katkıda sağladığı ön görülür (93).

5.7. Diyabetes Mellitus ve İstisna Proteinler

HSP'ler, insülin sekresyonunda, insülin etkisinde veya her ikisindeki kusurlardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik bozukluk olan diyabetin patofizyolojisinde önemli roller oynamaktadırlar (94). Tip 1 diyabette (T1DM), pankreas beta hücrelerinin otoimmün yıkımı insülin eksikliğine yol açar. HSP60 ve HSP70 dahil olmak üzere HSP'ler beta hücrelerinde eksprese edilebildiği ve bu hücrelerin stres kaynaklı apoptozdan korunmasında rol oynayabildiği ileri sürülmüştür. İşlev bozuklukları T1DM'de beta hücre kaybına katkıda bulunabilir (95). Diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada, diyabetik farelerin T hücrelerinin mikrobiyal HSP60 ve kendi HSP60 ile aktive edildiği belirtilmiştir (96,97). Bununla birlikte, HSP'lerin,

özellikle HSP70 ve HSP90'ın, insülin sinyal yollarında yer aldığı ve insülin reseptör aktivitesini modüle edebildiği belirtilir. HSP'lerin düzensizliği insülin direncinin gelişmesine etki ettiği ifade edilmiştir (98). HSP ekspresyonunun veya aktivitesinin modüle edilmesi, diyabette potansiyel bir terapötik strateji olarak önerilmiştir. HSP'lerin şaperon fonksiyonunun artırılması, beta hücrelerini koruyabildiği, insülin duyarlılığını artırabildiği ve diyabet komplikasyonlarının gelişimini hafifletebildiği belirtilmiştir (99).

5.8. Kalp Hastalıkları ve Isı Şok Proteinler

Kalp hastalıkları ile HSP'leri arasındaki ilişki, kardiyovasküler tıpta ilgi çekici bir araştırma alanıdır. Kalp hastalıkları bağlamında, HSP'lerin kardiyovasküler sağlığı etkileyen çeşitli önemli süreçlerde yer aldığı belirtilmiştir (100). HSP'lerin iskemi-reperfüzyon hasarına karşı kardiyoprotektif etkileri bulunmaktadır. HSP'ler, proteinleri stabilize ederek, apoptozu (hücre ölümü) azaltarak ve proteinin yeniden katlanmasını kolaylaştırarak kalp hücrelerinin bu tür hasarlardan korunmasına yardımcı olur (101). HSP'lerin proinflamatuvar moleküllerin ekspresyonunu azaltabildiği ve bağışıklık hücrelerinin arter duvarına yapışmasını önleyerek ateroskleroz gelişimini potansiyel olarak yavaşlatabildiği öne sürülmektedir (102). HSP'ler ayrıca kalp sağlığı için çok önemli olan hücresel homeostazın korunmasında da rol oynar. Yanlış katlanmış proteinlerin onarılmasına veya bozulmasına yardımcı olarak, kalp yetmezliği gibi kalp hastalıklarına katkıda bulunabilecek hasarlı proteinlerin birikmesini önlerler (103). HSP70 ailesinden HSP72'nin kalp kasında hücresel koruma sağladığı belirtilmiştir (104). Demirel ve ekibi, sıçanlarda 10 haftalık koşu egzersizin HSP72 miktarını artırdığını ve bu artışın egzersiz sonrası 5 dakikalık iskemi ve 10 dakikalık reperfüzyon sonrasında oluşan hasara karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir (105).

5.9. Nitrik Oksit (NO) ve Isı Şok Proteinler

HSP'lerin NO kaynaklı strese yanıt olarak koruyucu bir rol oynadıkları ve nitrosatif stresin neden olduğu protein hasarını önleyebildikleri belirtilir. Aşırı NO düzeyleri protein nitrosilasyonuna yol açtığına ortaya çıkan nitrozatif strese duyarlı proteinlerin katlanmasına ve stabilizasyonuna yardımcı olabildikleri ifade edilmiştir (106,107). Son zamanlarda NO'nin endotel hücrelerinden salgılanan bir izoformu olan eNOS ve HSP70 arasındaki etkileşim yoluyla mitokondriyal apoptotik yolak ve oksidatif stres aktivasyonunu önleyerek hücre korumasında önemli rol oynadıkları belirtilir (108). Reed ve arkadaşlarının

yaptığı bir çalışmada, lipopolisakkarit (LPS) bağlı kontaminasyon nedeniyle, gp96 tarafından NO üretimi ve NF- κ B aktivasyonu olduğu gösterilmiştir. Özellikle bu araştırmacılar, ATPaz aktivitesi ve moleküler şaperon fonksiyonu gibi normal biyolojik fonksiyonları korumada LPS etkisine karşı HSP'lerin rol aldığını göstermişlerdir (109). HSP60'ın, makrofajlardan IL-6 ile TNF- α ve NO salınımını indüklediği belirtilir (110). HSP'lerin, özellikle de HSP90'ın, indüklenebilir NOS (iNOS) dahil olmak üzere nitrik oksit sentaz enzimleriyle etkileşime girebileceği ve aktivitesini düzenleyebileceği öne sürülmektedir. Bu etkileşim, strese veya inflamatuvar uyarılara yanıt olarak NO üretimini etkileyebilir (107, 111). Hem HSP'lerin hem de NO'nun düzensizliği, nörodejeneratif bozukluklar, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. HSP'ler ve NO arasındaki etkileşim, hastalığın patogenezine ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. HSP'ler ve NO arasındaki ilişkinin anlaşılmasının terapötik etkileri vardır. HSP ifadesinin veya aktivitesinin modüle edilmesi, NO aracılı strese karşı hücrel tepkiyi etkileyebilir ve potansiyel olarak NO düzensizliği ile ilişkili durumlarda terapötik faydalar sağlayabilir (111).

5.10. Isı Şok Proteinleri ve Oksidatif Stres

Fizyolojik stres canlılarda duygusal veya fiziksel tehditlerle, negatif cevaplara neden olur. Stresin beyin, gastrointestinal sistem, mesane, iskelet kası gibi pek çok organ ve dokuda fonksiyon bozukluklarına neden olduğu belirtilir. Oksidatif stres antioksidan enzim metabolizmasında bozukluklar meydana getirerek, kas hücreleri ve dokularda fonksiyonel hasara neden olduğu bildirilmiştir (112). Oksidatif stresin HSP sentezine sebep olduğu belirtilir (113,114). HSP'ler hücreleri oksidatif strese karşı korumada hayati bir rol oynar. ROS'u doğrudan temizleyerek hücrel bileşenler üzerindeki zararlı etkilerini önleyebilirler. Ayrıca HSP'ler, oksidatif stresin neden olduğu hasar görmüş proteinlerin uygun şekilde katlanmasına ve onarılmasına yardımcı olarak hücreler içindeki redoks dengesinin korunmasına yardımcı olur (115). HSP70 hücrel stres durumunda strese yanıtta en çok indüklenen proteindir. Ayrıca fizyolojik stres durumlarında HSP70 seviyesinde artış gözlenir. Stres durumunda çene kasında, oksidatif hasar sonucu HSP70 ekspresyonunun arttığı belirtilir. Li ve arkadaşlarının, 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada, strese tabi tuttıkları ratların çene kası dokularında oksidatif stres sonucu meydana gelen lipid peroksidasyonu belirteci olan malondialdehit (MDA) miktarında artış, süperoksit dizmutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz gibi

antioksidan enzim miktarında azalma ve HSP70 seviyesinde artışın olduğunu belirtmişlerdir (112). Oksidatif stres, hücrel stres yanıtının bir parçası olarak HSP'lerin ekspresyonunu yukarı doğru düzenlediği gözlenmiştir. HSF1 gibi transkripsiyon faktörleri oksidatif stres tarafından aktive edilebilir ve bu da HSP sentezinin artmasına neden olduğu belirtilir. Mitokondri, ROS üretiminin önemli bir kaynağıdır ve oksidatif hasara karşı hassastırlar. HSP'ler, özellikle HSP60 ve HSP90, mitokondri içerisinde lokalizedir ve mitokondriyal proteinlerin korunmasında ve oksidatif stres koşulları altında mitokondriyal fonksiyonun sürdürülmesinde çok önemli bir rol oynar (115).

6. Tanısal Ve Prognostik Belirteçler Olarak Isı Şok Proteinleri

Son yıllarda, HSP'lerin kanser tanısı ve prognozu gibi önemli klinik belirteçler olarak rol oynayabileceği giderek daha fazla ilgi çekmektedir. HSP'lerin kanser tanısında kullanımı üzerine çalışmalar yapılmıştır. Özellikle, HSP'lerin kanser hücrelerinde artmış ekspresyonu, kanserli dokuları tanımak ve ayırt etmek için potansiyel bir işaret olduğu gösterilmiştir (116). HSP'ler ayrıca kanserin prognozunu tahmin etmek için kullanılabilir potansiyel belirteçler olarak da araştırılmaktadır. Kanser hastalarında yüksek düzeyde HSP ekspresyonunun, hastalığın ilerlemesi ve sağkalım üzerinde etkili olabileceğine dair bulgular vardır. Örneğin, HSP27'nin prognoz tahminindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar, bu belirteçlerin prognostik önemini vurgulamaktadır (117). Ayrıca, HSP'lerin kanser tedavi yanıtını belirlemedeki potansiyel rolleri de araştırılmaktadır. Tedaviye direnç geliştiren kanser hücrelerindeki HSP ekspresyonunun, tedaviye olan yanıtı etkileyebileceği öne sürülmüştür. Bu nedenle, HSP düzeylerini ölçerek tedavi stratejilerinin kişiselleştirilmesi için bu belirteçler kullanılabilir (62). HSP'lerin tanısal ve prognostik değeri, kanser teşhis ve tedavisinde yeni perspektifler sunabilir.

7. Isı Şok Proteinlerin Araştırılmasında Kullanılan En Son Teknikler

HSP'lerin araştırılması, hücrel stres yanıtlarının anlaşılması, kanser tedavisi, nörodejeneratif hastalıklar ve diğer birçok alanda önemlidir. Bu bağlamda, proteomik teknikler HSP'lerin ekspresyon seviyelerini ve etkileşim ağlarını incelemek için yaygın olarak kullanılır. Kütle spektrometrisi tabanlı proteomik analizler, HSP'lerin tanımlanması ve nicelendirilmesi için güçlü bir araçtır. Bu teknikler sayesinde HSP'lerin ekspresyonu hücrel stres koşullarında izlenebilir (118). Bununla birlikte, HSP'lerin hücrel dağılımını ve

etkileşimlerini incelemek için ileri görüntüleme teknikleri kullanılır. Konfokal mikroskopi, floresan rezonans enerji transferi (FRET) ve zaman içindeki değişiklikleri izlemek için canlı hücre görüntüleme gibi yöntemler, HSP'lerin hücresel işlevlerini anlamak için önemlidir (119). HSP'lerin işlevlerini anlamak için geleneksel biyokimyasal ve moleküler biyoloji teknikleri de kullanılır. Bu teknikler, immüno-blotting, immunoprecipitasyon, ve PCR gibi yöntemleri içerir. Özellikle, HSP'lerin protein-protein etkileşimlerini çözmek için co-immunoprecipitasyon ve protein kristalografisi gibi teknikler kullanılır (120). Genetik ve genomik analizler, HSP'lerin gen düzeyinde düzenlenmesini ve değişikliklerini incelemek için kullanılır. RNA sekanslama ve CRISPR-Cas9 gibi yöntemler, HSP genlerinin ifadesini düzenlemek ve işlevlerini anlamak için kullanılır (121). Biyoanalitik teknikler, HSP'lerin biyokimyasal özelliklerini ve etkileşimlerini incelemek için kullanılır. Örneğin, yüzey plazmon rezonans (SPR) gibi teknikler, HSP'lerin ligand bağlama özelliklerini analiz etmek için kullanılabilir (122).

8. Sonuç

Isı şok proteinleri, hücresel proteostazın korunmasında önemli rol oynayan çeşitli moleküler şaperon ailesini temsil eder. Bu derleme, HSP'lerin protein katlanması, hücresel stres tepkisindeki rolleri, hastalık ve terapötiklerin çeşitli yönlerinde ortaya çıkan önemleri de dahil olmak üzere çok yönlü fonksiyonlarının derinlemesine araştırılmasını sunmaktadır. Son gelişmelere odaklanan bu inceleme, sürekli genişleyen HSP alanına kapsamlı bir genel bakış sunmaktadır. HSP'lerin yalnızca hücresel sağlığın korunmasında değil aynı zamanda daha geniş insan sağlığı, hastalık ve tedavi stratejileri bağlamındaki önemine vurgu yapmaktadır. Ayrıca, HSP'lerin geleneksel şaperon işlevlerinin ötesinde çok yönlü rollerini vurgulayarak, bu alanda gelecekteki keşifler için heyecan verici potansiyeli vurgulamaktadır.

Kaynaklar

1. Baringou S, Rouault, JD, Koken M, Hardivillier Y, Hurtado L, Leignel V. Diversity of cytosolic HSP70 Heat Shock Protein from decapods and their phylogenetic placement within Arthropoda. *Gene*. 2016; 591: 97-107.
2. Aleng NA, Sung YY, MacRae TH, Abd Wahid ME. Non-lethal heat shock of the asian green mussel, *perna viridis*, promotes HSP70 synthesis, induces thermotolerance and protects against vibrio infection. *PLoS One*. 2015; 10(8): e0135603.

3. Wang Q, Wang J, Wang G, Wu C, Li J. Molecular cloning, sequencing, and expression profiles of heat shock protein 90 (HSP90) in *Hyriopsis cumingii* exposed to different stressors: Temperature, cadmium and *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture and Fisheries*. 2017; 2(2):59-66.
4. Macario AJ, De macario EC. Sick chaperones, cellular stress, and disease. *N Engl J Med*. 2005; 353(14): 1489-1501.
5. Verghese, J., Abrams, J., Wang, Y., & Morano, K. A. Biology of the heat shock response and protein chaperones: budding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a model system. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2012; 76(2): 115-158).
6. Tukaj S, Węgrzyn G, Węgrzyn A. The role of molecular chaperones in carcinogenesis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2019; 76(2), 2469-2486.
7. Ahmad S, Kabir M, Hayat M. Identification of heat shock protein families and J-protein types by incorporating dipeptide composition into Chou's general PseAAC. *Comput. Methods Prog. Biomed*. 2015; 122: 165-174.
8. Öztürk E, Kahveci N, Özlük K, Yılmazlar T. Isı şok proteinleri. *Turk J Sur*, 2009; 25(4): 131-136.
9. Pockley AG, Henderson B. Extracellular cell stress (heat shock) proteins-immune responses and disease: an overview. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 2018; 373(1738): 20160522.
10. Sanchez-Lopez, EF, Corigliano MG, Albarracín RM, Sander VA, Legarralde A, Bengoa-Luoni SA, Clemente M. Plant HSP90 is a novel adjuvant that elicits a strong humoral and cellular immune response against B- and T-cell epitopes of a *Toxoplasma gondii* SAG1 peptide. *Parasites Vectors* 2019; 12: 140.
11. Southard JH, Smith AE. The heat shock response. *CRC Critical Reviews in Biochemistry*. 1978; 5(4): 297-360.
12. Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*. (1962; 18(12): 571-573.
13. Pockley AG. Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet*. 2003; 362(9382): 469-76.
14. Kiang JG, Tsokos GC. Heat shock protein 70kDa: Molecular biology, biochemistry, and Physiology. *Pharmacological Terminology*. 1998; 80 (2): 183-201.
15. Lindquist S. The heat-shock response. *Annual Review of Biochemistry*. 1986; 55(1):1151-1191.
16. Bukau B, Horwich AL. The HSP70 and HSP60 chaperone machines. *Cell*. 1998; 92(3): 351-366.

17. Sorger PK, Pelham HR. Yeast heat shock factor is an essential DNA-binding protein that exhibits temperature-dependent phosphorylation. *Cell*, 1988; 54(6): 855-864.

18. Calderwood SK, Gong J. Heat shock proteins promote cancer: It's a protection racket. *Trends in Biochemical Sciences*. 2016; 41(4): 311-323.

19. Morimoto R I, Santoro MG. Stress-inducible responses and heat shock proteins: new pharmacologic targets for cytoprotection. *Nature Biotechnology*. 1998; 16(9): 833-838.,

20. Neckers L, Workman P. HSP90 molecular chaperone inhibitors: Are we there yet? *Clinical Cancer Research*. 2012; 18(1): 64-76.)

21. Tsan MF, Gao B. Heat shock protein and innate immunity, *Cell Mol Immunol*, 2004;1(4): 274-9.

22. Pockley AG. Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents?. *Expert Rev Mol Med*. 2001; 3(23):1-21.

23. Hartl FU, Hayer-Hartl M. Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2009; 16(6): 574-581.

24. Kregel KC. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol*. 2002; 92(5): 2177-86.

25. Kappe G, Franck E, Verschuure P, Boelens WC, Leunissen JAM, De Jong WW. The human genome encodes 10 alpha-crystallin-related small heat shock proteins: HSPB1-10. *Cell Stress Chaperones*, 2003; 8:53-61.

26. Haslbeck M, Vierling E. A first line of stress defense: Small heat shock proteins and their function in protein homeostasis. *Journal of Molecular Biology*, 2015; 427(7):1537-1548.

27. Pantzartzi CN, Kourtidis A, Drosopoulou E, Yiangou M, Scouras ZG. Isolation and characterization of two cytoplasmic HSP90s from *Mytilus galloprovincialis* (Mollusca: Bivalvia) that contain a complex promoter with a p53 binding site. *Gene*, 2009; 431(1-2): 47-54.

28. Ehmsperger M, Graber S, Gaestel M, Buchner J. Binding of non-native protein to HSP25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation, *Embo Journal*. 1997;16: 221-229.

29. Waters ER. The molecular evolution of the small heat-shock proteins in plants. *Genetics*, 1995;141: 785-795.

30. Lyons C, Dowling V, Tedengren M, Gardstrom J, Hartl MJ, O'Brien N, Van Pelt F, O'Halloran J, Sheehan D. Variability of heat shock proteins and glutathione S-transferase in gill and digestive gland of blue mussel. *Mytilus edulis*, *Marine Environmental Research*, 2003; 56(5): 585-597.

31. Tomanek L. The Heat-Shock Response: Its Variation, Regulation and Ecological Importance in Intertidal Gastropods (Genus *Tegula*. Integrative and Comparative Biology, 2005;42(4): 797-807.
32. Baek SH, Min JN, Park EM, Han MY, Lee YS, Lee YJ, Park YM. Role of small heat shock protein HSP25 in radioresistance and glutathione-redox cycle. Journal of Cellular Physiology, 2000; 183(1): 100-107.
33. Powers SK, Locke M, Demirel HA. Exercise, heat shock proteins, and myocardial protection from I-R injury. Med. Sci Sports Exercise. 2001; 33(3):386-92.
34. Lindquist SL. The heat shock response. Annu. Rev. Biochem. 1986; 55:1151-1191.
35. Kato K, Shinohara H, Goto S, Inaguma Y, Morishita R, Asano T. Copurification of small heat shock protein with α B crystallin from human skeletal muscle. J Biol Chem. 1992;267: 7718-7725.
36. Moseley PL. Heat shock proteins and heat adaptation of the whole organism. J.Appl. Physiol. 1997; 83: 1413-1417.
37. Takahashi-Horiuchi Y, Sugiyama K, Sakashita H, Amano O. Expression of heat shock protein 27 with the transition from proliferation to differentiation of acinar precursor cell in regenerating submandibular gland of rats. Tohoku J Exp Med.2008;214(3): 221-30.
38. Acarin L, Paris J, Gonzalez B, Castellano, B. Glial expression of small heat shock proteins following an excitotoxic lesion in the immature rat brain. Glia 2002;38: 1-14.
39. Wang A, Liu X, Sheng S, Ye H, Peng T, Shi F, Crowe DL, Zhou X. Dysregulation of heat shock protein 27 expression in oral tongue squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2009; 9: 167.
40. Kampinga HH, Craig EA. The HSP70 chaperone machinery: J proteins as drivers of functional specificity. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2010; 11(8): 579-592.
41. Mayer MP, Bukau B. HSP70 chaperone systems: cellular functions and molecular mechanism. Cell Mol Life Sci. 2005;62(6): 670-84.
42. Myung J, Afjehi-Sadat L, Felizardo-Cabatic M, Slave I, Lubec G. Expressional patterns of chaperones in ten human tumour cell lines. BMC Proteome Sci. 2004;2 :8.
43. Gonzalez-Riopedre M, Novas A, Dobano E, Ramos-Martinez JI, Barcia R. Effect of thermal stress on protein expression in the mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk, Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. Biochemistry and Molecular Biology. 2007;147(3): 531-540.

44. Horwich AL, Fenton WA. Chaperonin-mediated protein folding: Using a central cavity to kinetically assist polypeptide chain folding. *Quarterly Reviews of Biophysics*. 2009; 42(2): 83-116,
45. Grundtman C, Kreutmayer SB, Almanzar G, Wick MC, Wick G. Heat Shock Protein 60 and Immune Inflammatory Responses in Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011; 31: 960-968.
46. Gething MJ, Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature*. 1992; 355:33e45.
47. De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock*. 1999;11(1):1-12.
48. Ang D, Liberek K, Skowryra D, Zylics M, Georgopoulos C. Biological role and regulation of the universally conserved heat shock proteins. *The Journal of biological chemistry*. 1991; 266, 24233-24236.
49. Kim JY, Barua S, Huang MY, Park J, Yenari MA, Lee JE. Heat Shock Protein 70 (HSP70) Induction: Chaperonotherapy for Neuroprotection after Brain Injury. *Cells* 2020; 9:1-17.
50. Schopf FH, Biebl MM, Buchner J. The HSP90 chaperone machinery. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2017; 18:345-360.
51. Sreedhar AS, Kalma RE, Csermely P, Shen YF. HSP90 isoforms: functions, expression and clinical importance. *FEBS Lett*. 2004;562: 11-15.
52. Krukenberg KA, Street TO, Lavery LA, Agard DA. Conformational dynamics of the molecular chaperone HSP90. *Q. Rev. Biophys*. 2011; 4:, 229-255.
53. (Zhang XY, Zhang MZ, Zheng CJ, Liu J, Hu HJ. 2009. Identification of two HSP90 genes from the marine crab, *Portunus trituberculatus* and their specific expression profiles under different environmental conditions. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 150(4): 465-473.).
54. Feder ME, Hofmann GE. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological Physiology. *Annual Review of Physiology*. 1999; 61: 243-282.
55. Fink AL. Chaperone- mediated protein folding. *Physiological Reviews*. 1999;79 (2):425-449,
56. Al-Whaibi MH. Plant heat-shock proteins: a mini review. *J King Saud Univ Sci*. 2011; 23(2): 139-150.
57. Anckar J, Sistonen L. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: Implications in aging and disease. *Annual Review of Biochemistry*. 2011; 80:1089-1115.)

58. Morimoto RI. Regulation of the heat shock transcriptional response: Cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes. Dev.* 1998;12:3788-3796.
59. Vihervaara A, Sistonen L, Morimoto RI. Transcription factors in the cellular response to and defense against heat shock and cold shock. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013; 5(4): a013129.)
60. Locke M, Noble EG. Stress Proteins: The Exercise Response. *Can. J. Appl. Physiol.* 1995; 20(2): 155-177.
61. Satyal SH, Chen, D, Fox SG, Kramer JM, Morimoto RI. Negative regulation of heat shock transcriptional response by HSBP1. *Genes. Dev.* 1998; 12: 1962-1974.
62. Jago G, Hazoumé A, Seigneuric R, Garrido C. Targeting heat shock proteins in cancer, *Cancer Letters.* 2013; 332(2):275-85.
63. Lebet T, Watson RW, Molinié V, O'Neill A, Gabriel C, Fitzpatrick JM, Botto H. Heat shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: expression in bladder carcinoma. *Cancer.* 2003; 98(5):970-7.
64. Soldes OS, Kuick RD, Thompson IA, Hughes SJ, Orringer MB, Iannettoni MD, Hanash SM, Beer DG. Differential expression of HSP27 in normal oesophagus, Barrett's metaplasia and oesophageal adenocarcinomas. *Br J Cancer.* 1999; 79(3-4): 595-603.
65. Khalil AA, Kabapy NF, Deraz SF, Smith C. Heat shock proteins in oncology: Diagnostic biomarkers or therapeutic targets?. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2011; 1816: 89-104.
66. Laad AD, Thomas ML, Fakhri AR, Chiplunkar SV. Human gamma delta T cells recognize heat shock protein-60 on oral tumor cells. *Int J Cancer.* 1999; 80 (5): 709-714.
67. Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, Stevenson MA, Chen LB, Finberg RW, Koo GC, Calderwood SK. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nature Medicine.* 2000; 6(4): 435-442.
68. Henderson B, Calderwood SK, Coates ARM, Cohen I, van Eden W, Lehner T, Pockley AG. Caught with their PAMPs down? The extracellular signalling actions of molecular chaperones are not due to microbial contaminants. *Cell Stress Chaperones.* 2010;15(2): 123-141
69. Asea A, Rehli M, Kabingu E, Boch JA, Bare O, Auron PE, Stevenson MA, Calderwood SK. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular

HSP70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002; 277(17): 15028-15034.

70. Binder RJ. Functions of heat shock proteins in pathways of the innate and adaptive immune system. *Journal of Immunology*. 2014; 193(12): 5765-5771.

71. Baykal Y, Gök F, Kocabalkan F. Isı Şok Proteinleri ve Hastalıklardaki Rolü. *T Klin Tıp Bilimleri*. 2000. 20: 187-195.

72. Srivastava P. Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells: chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annual Review of Immunology*. 2002; 20: 395-425.

73. Tsan MF, Gao B, Heat shock proteins and immune system. *Journal of Leukocyte Biology*, 2009; 85(6): 905-910.

74. van Eden W, van der Zee R, Prakken B. Heat-shock proteins induce T-cell regulation of chronic inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 2005; 5(4): 318-330.

75. De Maio A. Extracellular HSP70: export and function. *Current Protein & Peptide Science*, 2014; 15(3): 225-231.

76. Murshid A, Gong J, Calderwood SK. The role of heat shock proteins in antigen cross presentation. *Frontiers in Immunology*. 2017; 8: 912.

77. Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B, Hightower LE. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*. 2009;14(1): 105-111.

78. Calderwood SK, Murshid A, Prince T. The shock of aging: molecular chaperones and the heat shock response in longevity and aging-a mini-review. *Gerontology*. 2009; 55(5): 550-558.

79. Vilchez D, Boyer L, Morante I, Lutz M, Merkwirth C, Joyce D, Spencer B, Page L, Masliah E, Berggren WT, Gage FH, Dillin A. Increased proteasome activity in human embryonic stem cells is regulated by PSMD11. *Nature*. 2012; 489(7415): 304-308.

80. Njemini R, Bautmans I, Lambert M, Demanet C, Mets T. Heat shock proteins and chemokine/cytokine secretion profile in ageing and inflammation. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2007; 128: 450-454.

81. Rea IM, McNerlan S, Pockley AG. Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging. *Exp Gerontol*. 2001; 36: 341-352.

82. Adachi H, Katsuno M, Waza M, Minamiyama M, Tanaka F, Sobue, G. Heat shock proteins in neurodegenerative diseases: pathogenic roles and therapeutic implications. *International journal of hyperthermia: the official*

journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group. 2009; 25(8): 647-654.

83. Gil RS, Ooi L, Yerbury JJ, Ecroyd H. The heat shock response in neurons and astroglia and its role in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration* 2017; 12:65

84. Ciechanover A, Kwon YT. Protein quality control by molecular chaperones in neurodegeneration. *Frontiers in Neuroscience*. 2015; 9:185.

85. Lalo U, Jones S, Roberts JA, Mahaut-Smith MP, Evans RJ. Heat shock protein 90 inhibitors reduce trafficking of ATP-gated P2X1 receptors and human platelet responsiveness. *The Journal of biological chemistry*. 2012; 287(39): 32747-32754.

86. Uddin MS, Stachowiak A, Mamun AA, Tzvetkov NT, Takeda S, Atanasov AG, Bergantin L B, Abdel-Daim MM, Stankiewicz AM. Autophagy and Alzheimer's Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Implications. *Frontiers in aging neuroscience*. 2018; 10; 04.

87. Tukaj S, Węgrzyn G. Anti-HSP90 therapy in autoimmune and inflammatory diseases: a review of preclinical studies. *Cell Stress Chaperones*. 2016; 21(2): 213-218.

88. Fouani, M., Basset, C. A., Mangano, G. D., Leone, L. G., Lawand, N. B., Leone, A., & Barone, R. Heat Shock Proteins Alterations in Rheumatoid Arthritis. *International journal of molecular Sciences*. 2022; 23(5): 2806.

89. Hou C, Zhang J. Heat shock proteins in rheumatoid arthritis. *Frontiers in Immunology*, 2015; 6: 299.

90. Res PC, Schaar CG, Breedveld FC, van Eden W, van Embden JD, Cohen IR, de Vries RR. Synovial fluid T cell reactivity against 65 kD heat shock protein of mycobacteria in early chronic arthritis. *Lancet*. 1988; 2: 478-480.

91. Schett G, Redlich K, Xu Q, Bizan P, Gröger M, Tohidast-Akrad M, Kiener H, Smolen J, Steiner G. Enhanced expression of heat shock protein 70(HSP70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. Differential regulation of HSP70 expression and hsf1 activation in synovial fibroblasts by proinflammatory cytokines, shear stress, and antiinflammatory drugs. *The Journal of clinical investigation*. 1998;102(2):302-311.

92. Bläss S, Union A, Raymackers J, Schumann F, Ungethüm U, Müller-Steinbach S, De Keyser F, Engel JM, Burmester GR. The stress protein BiP is overexpressed and is a major B and T cell target in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2001; 44(4): 761-771.

93. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2001;358: 903-11.

94. Hooper PL, Hooper PL. Inflammation, heat shock proteins, and type 2 diabetes. *Cell stress & chaperones*. 2009; 14(2);113-115.

95. Tytell M, Hooper PL. Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2001; 5(2): 267-287.

96. Roep BO. T-cell responses to autoantigens in IDDM. The search for the Holy Grail. *Diabetes*, 1996; 45: 1147-1156.

97. Birk OS, Elias D, Weiss AS, Rosen A, van-der Zee R, Walker MD, Cohen IR. NOD mouse diabetes: the ubiquitous mouse HSP60 is a beta-cell target antigen of autoimmune T cells. *J Autoimmun*. 1996; 9: 159-166.

98. Hooper, P. L. Inflammation, heat shock proteins, and type 2 diabetes. *Cell Stress Chaperones*. 2018; 23(6): 139-150.

99. Westerheide SD, Morimoto RI. Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation. *Journal of Biological Chemistry*. 2005; 280(39): 33097-33100.

100. Benjamin IJ, McMillan DR. Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*. 1998; 83(2): 117-132.

101. Kim YK, Kim SH. Heat shock proteins in heart. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2018; 115:2-6.

102. Marunouchi T, Tanonaka K. Cell Stress and Heat Shock Proteins in the Newborn Heart. *Neonatology*. 2018; 113(4): 363-369.

103. Kregel KC. Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *Journal of Applied Physiology*. 2002; 92(5): 2177-2186.

104. Suzuki K, Sawa Y, Kaneda Y, Ichikawa H, Shirakura R, Matsuda H. In vivo gene transfection with heat shock protein 70 enhances myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury in rat. *The Journal of clinical investigation*. 1997; 99: 1645- 1650.

105. Demirel HA, Powers SK, Caillaud C, Coombes JS, Naito H, Fletcher LA, Vrabas Iannis, Jessup James V, Ji, Li L. Exercise training reduces myocardial lipid peroxidation following ischemia reperfusion. *Medicine and science in sports and exercise*. 1998;30: 1211-1216.

106. Camargo AB, Manucha W. Potential protective role of nitric oxide and HSP70 linked to functional foods in the atherosclerosis. *Clin Investig Arterioscler*. 2017; 29(1):36-45.

107. Szyller J, Kozakiewicz M, Siermontowski P, Kaczerska D. Oxidative Stress, HSP70/HSP90 and eNOS/iNOS Serum Levels in Professional Divers during Hyperbaric Exposition. *Antioxidants* 2022; 11: 1008.
108. García IM, Mazzei L, Benardón ME, Oliveros L, Cuello-Carrión FD, Lorenzo AG, Manucha W, Vallés PG. Caveolin-1-eNOS/HSP70 interactions mediate rosuvastatin antifibrotic effects in neonatal obstructive nephropathy, Nitric Oxide. 2012; 27(2): 95-105.
109. Reed RC, Berwin B, Baker JP, Nicchitta CV. GRP94/gp96 elicits ERK activation in murine macrophages: A role for endotoxin contamination in NFκB activation and nitric oxide production. *J Biol Chem.* 2003; 278:31853-31860.
110. Pockley AG, Muthana M, Calderwood SK. The dual immunoregulatory roles of stress proteins. *Trends Biochem Sci.* 2008; 33(2):71-9.
111. Amour J, Brzezinska A K, Weihrauch D, Billstrom A R, Zielonka, J, Krolkowski JG, Bienengraeber MW, Warltier DC, Pratt Jr PF, Kersten JR. Role of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase during early anesthetic and ischemic preconditioning. *Anesthesiology*, 2009; 110(2): 317325.
112. Li Q, Zhang M, Chen YJ, Wang YJ, Huang F, Liu J. Oxidative damage and HSP70 expression in masseter muscle induced by psychological stress in rats. *Physiology Behavior.* 2011; 104: 365-372.
113. Aşkar TK, Ergün N, Turunç V. Isı şok proteinler ve fizyolojik rolleri” *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 2007; 13 (1): 109-114.
114. Ilgun T, Yildiz Dalginli K, Gulmez C, Atakisi O. Changes in the levels of liver HSP70, plasma nitric oxide, and the antioxidative system in an experimentally induced endotoxemia antioxidative system in an experimentally induced endotoxemia mouse model and the role of reduced glutathione mouse model and the role of reduced glutathion. *Turkish Journal of Biology.* 2016; 40 (6): 1272-1277
115. Kim G, Meriin AB. Oxidative stress induces heat shock protein synthesis in cultured human fibroblasts. *Experimental Cell Research*, 2017; 359(1): 164-171.)
116. Calderwood SK, Khaleque Md A, Sawyer DB, Ciocca DR. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci.* 2006;31(3):164-72.
117. Ciocca DR, Calderwood SK, Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. *Cell Stress Chaperones.* 2005;10(2):86-103.

118. Falsone SF, Gesslbauer B, Tirk F, Piccinini AM, Kungl AJ. A proteomic snapshot of the human heat shock protein 90 interactome. *FEBS Letters*. 2005; 579: 6350-6354

119. Deshpande S, Pfohl, T. Real-time dynamics of emerging actin networks in cell-mimicking compartments. *PloS one*, 2015; 10(3):e0116521.

120. Shrestha L, Patel HJ, Chiosis G. Chemical Tools to Investigate Mechanisms Associated with HSP90 and HSP70 in Disease. *Cell chemical Biology*. 2016; 23(1): 158-172.

121. Yau EH, Kummetha IR, Lichinchi G, Tang R, Zhang Y, Rana TM. Genome-Wide CRISPR Screen for Essential Cell Growth Mediators in Mutant KRAS Colorectal Cancers. *Cancer research*. 2017; 77(22):6330-6339.

122. Zanphorlin LM, Lima TB, Wong MJ, Balbuena TS, Minetti CA, Remeta DP, Young JC, Barbosa LR, Gozzo FC, Ramos CH. Heat Shock Protein 90 kDa (HSP90) Has a Second Functional Interaction Site with the Mitochondrial Import Receptor Tom70. *The Journal of biological chemistry*, (2016). 291(36): 18620-18631.

BÖLÜM IX

KAZ YUMURTASININ OLUŞUMUNDA YUMURTA KANALI VE YUMURTA KALİTE ÖZELLİKLERİ

Oviduct and Egg Quality Characteristics in The Formation of Goose Eggs

Sema ALAŞAHAN¹ & Fatma Tülin ÖZBAŞER BULUT²

*¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye
E-mail: alalahan@mku.edu.tr
ORCID: 0000-0002-1144-7786*

*²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Zootekni Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye
E-mail: ftulin@gmail.com
ORCID: 0000-0002-0929-3490*

1. Giriş

Kanatlı hayvan yetiştiriciliği, insanların hayvansal protein ihtiyacını karşılamak amacıyla yapılmaktadır. Bu amaçla kurulan işletmelerin en önemli hayvansal protein ürün kalemleri et ve yumurtadır. Ayrıca hayvanların dışkı ve tüyleri de ürün olup farklı alanlarda değerlendirilmektedirler.

Kanatlı hayvan yumurtası yemelik ve kuluçkalık yumurta olmak üzere iki amaçla üretilmektedir. Yemelik yumurtanın sağlıklı hayvanlardan elde edilmesi, kendine has tat, koku ve renkte olması gerekmektedir (1). Dünyada yemelik yumurta ihtiyacı tavuklardan karşılanmaktadır. Kaz, ördek, sülün ve bildircin yumurtaları ise özel tercihe bağlı olarak yemelik yumurta olarak kullanılmaktadır. Kaz ve sülün yumurtaları mevsimsel olarak üretildiği için yumurta sayısı az ve pazarı sınırlıdır (2, 3).

Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde tercih edilen hayvan türü dünden bugüne tavuk türü olmuştur. Ticari işletmeler et ve yumurta üretiminde tüketicilere tavuk ürünleri sunmuşlardır. Ancak bildircin, ördek, kaz ve hindi gibi kanatlı türlerinin de et ve yumurtası bulunmaktadır ve bu kanatlı türlerine ait et ve yumurtalar tür bazında tat, koku ve besleyici özellikleri bakımından farklılıklar göstermektedir. Dolayısıyla yetiştiriciliği az yapılan kanatlı türlerinin et, yumurta ve civciv üretimi ile daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu konuların araştırılması yetiştirme işleminin bilinçli ve sürdürülebilir olmasına olanak sağlayacaktır. Bu bölümde, yetiştiriciliği az olan kaz kanatlı türünün yumurta kalite özelliklerini ve yumurta kanalındaki kabuklu yumurta üretim sürecini sunmak amaçlanmıştır

2. Kanatlı Hayvan Türlerinden Kaz

Kazlar evcilleştirme sürecinden en az etkilenen canlılardır ve mevsimsel olarak 12-70 adet yumurta üretme özelliğine sahiptirler. Üreme mevsimlerinin kısa olduğu bilinmektedir. Kazlarda üreme yaşı ilerleyen dönemlerde yumurta verimini etkileyen bir faktördür. Cinsel olgunluk yaşına ulaşan kazlarda yumurta üretiminin başlaması için, kazın canlı ağırlığının da uygun oranlara ulaşması gerekir. Çin kazlarında 9 aylık yaştan önce yumurta veriminin başlamadığı ve erken yaşta başlayan yumurtlamaların 2 yaştan sonraki verimi olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Bir kazın yumurta üretimi için en fazla 4 üretim dönemini kullanılması tavsiye edilmektedir. Kaz türleri arasında cinsel olgunluğa ulaşmak ve yumurta üretimi bakımından yaş farklılığı bulunmaktadır. Embden kazının Çin kazına göre daha uzun bir cinsel olgunluk dönemi geçirdiği gösterilmiştir. Yumurta sayısı bakımından da Embden kazlarının bir yılda daha az sayıda yumurta üretmektedirler ve yumurta kabuk rengi beyaz olup ağırlığı yaklaşık 170 gramdır. Embden kazlarının döllülük oranı da düşükken, büyüme hızı ve canlı ağırlık artışının Çin kazlarından yüksektir (4, 5, 6).

2.1. Erkek Kazlarda Üreme Sistemi

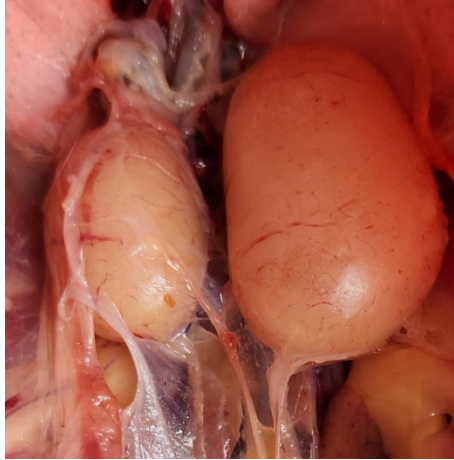
Erkek kazların üreme sistemi sağ ve sol testis, ductus deferens ve çiftleşme organı olarak üç önemli bölümden oluşur. Erkek kaz üreme sistemine dahil olan üreme organları bir bütün halinde Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Erkek kaz üreme sistemine dahil organlar (1:Sol testis, 4:Sağ testis, 2:Ductus deferens, 3:Açılmış çiftleşme organı)

a) Testisler

Kazın vücut boşluğunda yer alan fasulye görüntüsünde sağ ve sol testis olmak üzere iki adet testisi bulunmaktadır (Şekil 2). Testisler spermatozoa ve erkeklik hormonu üretirler. Kazlarda spermatozoa üretiminin başlaması için en az 30 haftalık yaşta olması gerekir (6, 7).



Şekil 2. Kazlarda sağ ve sol testis görüntüleri

b) Ductus Deferens

Ductus deferenslerin gözle görünen uzunluğu yaklaşık 15 cm olup ancak çok sayıda kıvrımlar içerir, bu nedenle 30 cm den daha fazla uzunlukta olduğu bildirilmiştir. Sağ ve sol olarak iki adet olup, spermleri testislerden ve epididimiden çiftleşme organına taşırlar ve kloaka duvarında yer alan seminal

veziküllerde son bulurlar. Ductus deferensler spermatozoaların olgunlaşma ve depolanma yeridir (8, 9).

c) Çiftleşme Organı

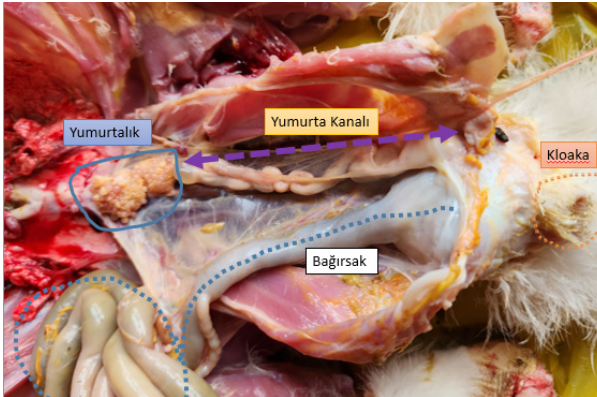
Çiftleşme organı invaginasyonlu (bir yüzeyin kendi üzerine katlanarak bir boşluk, kese veya tüp oluşturma işlemidir), yani spiral benzeri olup yaklaşık 15 cm uzunluğa sahiptir (Şekil 3). Erkek kazlarda çok iyi gelişmiştir (10).



Şekil 3. Erkek kaz çiftleşme organ görüntüsü

2.2. Dişi Kazlarda Üreme Sistemi

Kaz üreme sistemine dahil olan organların görevi olgunlaşmamış ve olgun yumurta hücrelerini (oosit, germ hücresi) üretmek, dölemek, kabuklu yumurta oluşturmak ve iç ortamdan dış ortama aktarmaktır. Dişi kazlarda üreme sistemi sol yumurtalık (ovaryum), sol yumurta kanalı ve kloakadan oluşmaktadır (Şekil 4). Dişi kazın karnının sol bölgesinde bulunan üreme organları aktif olarak görev yapmaktadır. Sağdaki yumurtalık embriyolojik olarak var olmasına rağmen, gelişim sırasında dejenere olur ve yetişkin kazlarda körelir (11, 12).

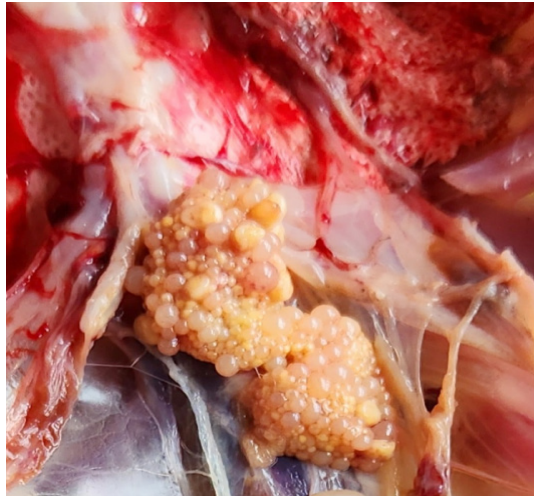


Şekil 4. Dişi kazlarda yumurtalık, yumurta kanalı ve kloaka görünümü

2.2.1. Kaz Yumurtasının Oluşumu

Kaz yumurtası diğer kanatlı hayvan türlerinde olduğu gibi üreme sisteminin bir parçası olan yumurta kanalında üretilmektedir. Kazlar yılın 12 ayı yumurta üretmezler. Kazlarda yumurta üretimi yılın belli aylarında gerçekleşmektedir. Örnek; Tayvan'da Ekim'den Mayıs'a kadar, Fransa'da Ocak'tan Haziran'a, İsrail'de Ekim'den Mart'a ve Türkiye'de Ocak'tan Mayıs'a kadar kazlarda üreme mevsimi görülür.

Dişi kaz üreme sistemine dahil olan sol yumurtalık ve yumurta kanalı yumurtanın bütün parçasının bir arada olmasından sorumlu parçalarıdır. Sol yumurtalık (Ovaryum) üzüm salkımı görünümünde büyüklük olarak küçüklü-büyük, renk olarak beyaz, gri ve sarı folliküllerden oluşmaktadır (Şekil 5). Küçük ve gri-beyaz-açık sarı olan foliküller olgunlaşmamış yumurta hücreleri olup, olgunlaşarak sarı renge ulaşan büyük foliküller ise kabuklu yumurtanın sarısını oluşturur. Yumurtalıkta olgunlaşan yumurta sarısı ovulasyon ile serbest kalır ve dömlü kabuklu yumurta oluşumu için yumurta kanalına geçer.



Şekil 5. Kazlarda yumurtalık görüntüsü

Kazlarda yumurta kanalı yaklaşık 39-43 cm uzunluğunda yoğun kıvrımlı bir tüptür ve beş parçadan oluşmaktadır (Şekil 6). Yumurta kanalının yumurtalıktan kloakaya doğru parçaları sırasıyla; infundibulum, magnum, isthmus, uterus (kabuk bezi) ve vaginadır (Şekil 7). Yumurta kanalının her bir parçasının çok önemli görevi olup parçalar arasında görev sıralaması kabuklu yumurta oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca yumurta kanalı çiftleşme olduktan sonra, spermatozoa depolanmasında rol oynar. Bu depolama yumurta kanalının özellikle vajina ve infundibulumda bölümünde gerçekleşir (13, 14).



Şekil 6. Dişi kazın karın boşluğunda yumurta kanalının görünümü

Yumurta oluşumunun hormonal mekanizması hipotalamusun kontrolünde gerçekleşir. Hipotalamustan GnRH salınımı ile hipofiz bezinden FSH ve LH hormonlarının salınımı uyarılarak ovulasyon gerçekleşir. Serbest kalan sarı yumurta kanalının ilk parçası olan infundibulum tarafından yakalanır. Yumurta kanalında geçen 25 saatlik süreç sonunda bütün yumurta oluşur ve ovipozisyon yani yumurtlama gerçekleşir.



Şekil 7. Dişi kazın yumurta kanalı parçaları: 1:İnfundibulum, 2:Magnum, 3:İsthmus, 4:Uterus, 5:Vagina

Yumurtalıktan serbest kalan yumurta sarısı yumurta kanalının beş bölümünde değişik sürelerde kalarak kabuklu bütün yumurta olarak dışı kaz tarafından yumurtlamaktadır. Yumurta kanalının bölümleri ve görevleri şöyledir;

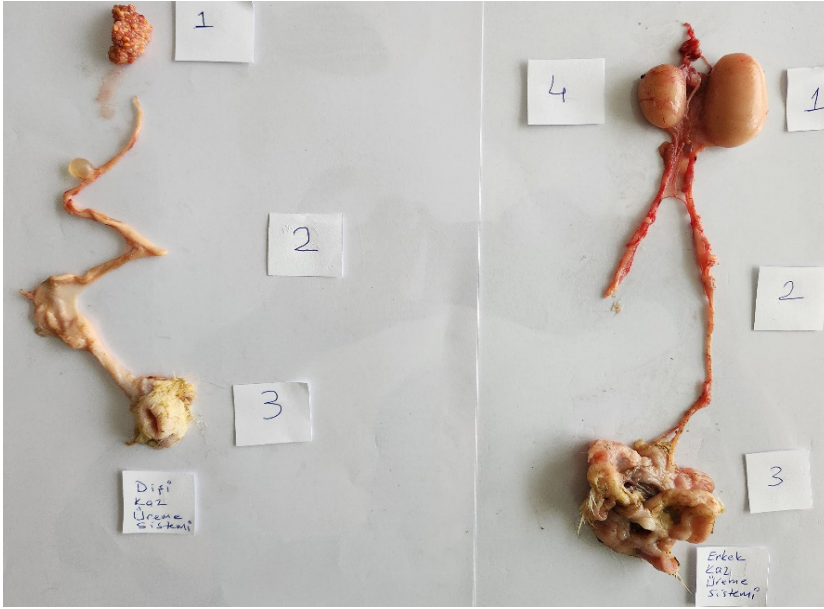
1. İnfundibulum: Yumurta kanalının ilk parçası yani yumurtalığa en yakın olan parçadır. Yumurtalıktan ovulasyon ile serbest kalan olgun yumurta sarısı (ovumun) huni şeklindeki infundibulum tarafından yakalanmaktadır. Yumurta sarısının etrafında güçlü bir perivitelin zar oluşturularak, yumurtanın bütün olarak yumurtlanmasında önemlidir. Ayrıca spermle ovumun birleşerek yumurtanın döllenmesi infundibulumda gerçekleşmektedir. Döllenme olsun ya da olmasın yumurta sarısı yumurta kanalının ikinci parçası olan magnuma doğru harekete geçer (14, 15).

2. Magnum: Yumurta kanalının en uzun ve en kıvrımlı kısmıdır. Magnum yumurta akının sentezlendiği ve salındığı yerdir. Çünkü magnum yapısında yumurta akının salgılanmasına sebep olan çok sayıda tübüler bezler vardır (15).

3. İsthmus: İsthmus yumurta kanalının üçüncü parçasıdır ve magnumdan daha dar ve ince mukozal kıvrımlara sahiptir. Yumurta kanalının bu parçasında yumurta akının etrafında ipliksi zarlar oluşmaktadır. Bunlar dış ve iç zar olarak ikiye ayrılır. İç zar yumurta akı ile temas eder, dış zar ise kabuğun iç yüzeyiyle temas eder (14).

4. Uterus (kabuk bezi): Yumurta kanalının dördüncü parçasıdır. Yumurta kanalının en kalın ve geniş kısmıdır. Uterusta kabuğun oluşumu ile, su ve ince albümin eklenmesi gerçekleşir.

5. Vajina: Vajina düz, dar ve S şeklinde kaslı bir tüp gibi görünen ve kloakaya açılan yumurta kanalının en son parçasıdır. Yumurtanın dışarı itilmesine yani yumurtlama işlemine yumurta kanalının son kısmı olan vajina yardım etmektedir. Çünkü vajinanın mukozal kıvrımları uzunlamasına düzenlenmiştir. Vajina yumurta oluşumunda rol almasa da, yumurta yumurtlamada önemlidir (15, 16).



Şekil 8. Dişi ve erkek kazların üreme sistem görüntüsü (Dişi kaz üreme sisteminde 1:Ovaryum, 2:Yumurta kanalı, 3:Kloaka; Erkek kaz üreme sisteminde 4:Sağ testis, 1:Sol testis, 2: Ductus deferens, 3:Bütünlüğü bozulmuş çiftleşme organı)

3. Kaz Yumurtası Ve Özellikleri

Kaz yumurtası, beyaz ve mat kabuk renginde, kalın kabuklu, kabuk altı zarları kalın ve bütün yumurtanın uçları küt yapılı olan kanatlı hayvan ürünüdür. Ayrıca tavuk yumurtası ile kıyaslandığında yumurta ağırlığı daha yüksektir. Kaz yumurta büyüklüğü kaz ırklarına göre farklılık göstermektedir. Kaz yumurtasının yıllık üretim miktarının az olması, onu daha değerli hale getirmektedir. Dolayısıyla besin değeri yüksek olan kaz yumurtalarını civciv üretimi için dömlü üretmek işletmelerin amacını oluşturur. Bazı çalışmalarda, kaz yumurtasının tavuk yumurtasından daha düşük su, nispeten daha yüksek protein, daha yüksek yağ içerdiği bildirilmiştir (17).

Kaz yumurtasının protein değeri 17.5 g ve yağ değeri 14.5 g olduğu belirlenmiştir. Kaz yumurta sarısının kolesterol değeri tavuk yumurtasına benzer, ancak beç tavuğu, hindi ve devekuşu yumurtalarına kıyasla daha düşüktür. Ayrıca yüksek kalsiyum, fosfor, demir, magnezyum, çinko, A, E B1, B6 ve B12 vitaminleri içerir (18).

Kaz yumurtasında içten dışa doğru tabakalar; yumurta sarısı, sarıyı saran vitellin zar, dört katmanlı yumurta akı, iki adet kabuk zarları ve kabuk olarak sıralanabilir. Örneğin; 144.51 gram ağırlığındaki kaz yumurtasının %47.67 si ak, %36.62 si sarı ve %14.68 i kabuk ve kabuk zarları olarak saptanmıştır. 122.09 gram ağırlığındaki kaz yumurtasının ise %51.23'ü ak, %36.91'i sarı ve %11.86'si kabuk ve kabuk zarlarından oluştuğu bildirilmiştir (19, 20).

Yumurta kalite özelliklerinin bilimsel olarak tespit edilmesinde yumurtanın kabuk, ak ve sarı katmanlarından farklı ölçümleri gerekmektedir. Fakat kaz yumurta kalite özelliklerini belirlemek için yumurta ile işlem yapmadan önce kayıt çizelgeleri oluşturulmalıdır. Kayıt çizelgeleri dış ve iç kalite özellikleri ana başlığında olmalıdır. Dış kalite özellikleri için bütün yumurtada ve kırılmış yumurtada kalite özellik değerleri olarak iki kayıt kartı oluşturulmalıdır. İç kalite özellik değerleri ise yumurta kırıldıktan sonra yumurta akı ve sarısından ölçülür. Bu işlem için ak ve sarı için ayrı ayrı kayıt çizelgeleri hazırlanabilir, ya da tek bir kayıt çizelgesi kullanılabilir. Dış kalite özelliğini belirlemek için yumurtadan alınması gereken ana ölçüm değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Bütün yumurtada dış kalite özellik için belirlenen değerlerin kayıt çizelgesi

İşlem tarihi	07.05.2023-			
İşlemi yapan kişi bilgisi	S... A.....			
İşlem yapılan oda sıcaklığı ve saat	24 °C ve 10:00			
Yumurtanın alındığı kümes bilgisi	A işletmesi ikinci kümes			
Bütün yumurtada Dış Kalite Özellik Değerleri				
Yum No	Yum Ağır (g)	Yum Boyu (mm)	Yum Eni (mm)	Şekil İndeksi (%) / Elongasyon
1	170,02	89.40	59.70	66.78 / 1.50
2				
3				
4				

Şekil indeksi: Yumurta eni yumurta boyuna bölünüp sonuç 100 ile çarpılır;
Elongasyon: Yumurta boyunun yumurta enine bölünmesi

Kayıt çizelgeleri oluşturulduktan sonra ise yumurtalar numaralandırılmalıdır. Yumurta kabuk yüzeyine yazılan numaranın yumurta ekvator bölgeden kırıldığı zaman okunmaz olmaması için sivri ve küt uca numara yazılmalıdır (Şekil 9 ve 10). Yumurtanın iki uç noktasına numara yazılması kontrollü çalışmak adına önemlidir. Kalite özelliği belirlenecek yumurtaların hepsi numaralandırıldıktan sonra kalite özellik değerleri birinci yumurtadan başlayarak belirlenmelidir.



Şekil 9. Yumurta kabuk yüzeyine yapılan yanlış numaralandırma



Şekil 10. Yumurta kabuk yüzeyine yapılan doğru numaralandırma

Yumurta kalite özelliğini belirlemek için yapılan hazırlıklardan sonra kaz yumurta kalite özellikleri ile ilgili başlıkların geniş bir anlatımı aşağıda verilmiştir.

3.1. Dış Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Kaz yumurtalarında dış kalite özellikleri bütün yumurtada ve yumurta kabuğu kırıldıktan sonra olarak iki şekilde yapılmaktadır. Bütün yumurtada belirlenen üç özellik ya her bir yumurtada arka arkaya ölçülür, ya da yumurta sayısı 30'lu gruplara ayrılarak önce 30 yumurtanın sırayla ağırlığı tartılır kaydedilir, sonra birinci yumurtadan başlayarak yumurta boyu ve eni ölçülerek 30 yumurtadaki ölçüm bitirilir.

Bütün yumurtada belirlenen dış kalite özellikleri yumurta ağırlığı, yumurta boyu ve yumurta eni olarak sıralayabiliriz;

3.1.1. Yumurta Ağırlığı

Kaz yumurta ağırlığı terazi kullanılarak belirlenir. Ancak terazinin hassasiyet düzeyi 0.01 g olması yumurta ağırlığının doğruluğunu artırır. Yumurtanın tartım için terazinin ölçüm haznesinde (kefede) hareketsizliğinin sağlanması önemlidir. Çünkü yumurtalar düz yüzeye bırakıldıklarında yuvarlanarak çarpmaya bağlı olarak kırılabilir. Kabuğun kırılması ölçüm yapılan özelliklerin azalması anlamına gelir. Sağlıklı bir ölçüm için yumurtanın tartım esnasında hareketsiz kalması sağlanmalıdır. Hareketsiz kalan yumurtanın ağırlık değeri okunarak kayıt çizelgesine yazılır (Şekil 11).

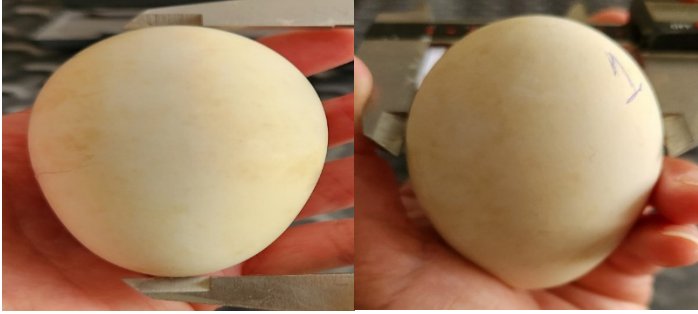


Şekil 11. Yumurta ağırlığının ölçüm görüntüsü

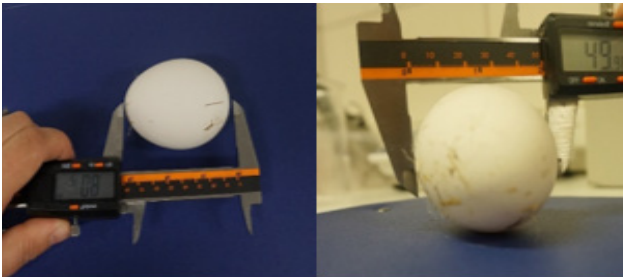
3.1.2. Yumurta Boyu ve Eni

Kaz yumurta ağırlığı tartıldıktan sonra yumurta boyu ve eni uzunluğu kumpas yardımıyla belirlenir. Yumurtalar bu işlem sırasında avuç içinde yavaş hareket ettirilmelidir.

Kaz yumurta boyunu, sivri uç ile küt uç arasındaki en uzak mesafe ölçülerek belirlenir (Şekil 12). Yumurta enini ise küt ucun bittiği ekvatorial bölgenin başladığı bölgeden ölçülen kısa uzunluktur (Şekil 13). Yumurta boyu değerini ölçmek yumurta eninden daha kolaydır. Yumurta boyu ölçümü sırasında yumurtanın tutuşu ve kumpasın pozisyonu önemlidir. Yumurtayı tutan elin parmakları yumurtanın hareketsizliğini sağlamalı, ama kabuğu kırarak basınç uygulamamalıdır. Yumurta çap ölçümü sırasında yumurta ile ölçücü kişi arasında en az 20 cm ve yumurta tepe ve taban uç noktalarını görececek bakış açısında olmalıdır (6).



Şekil 12. Yumurta boyu ve eni ölçüm görüntüsü



Şekil 13. Yumurta eni ölçümünde yapılan hatalı uygulama

Yumurta boyu ve eni ölçümünde kumpas kullanılır, ancak kumpas yok ise yumurta ağırlığı belirlenerek matematiksel denklemler ile hesaplanabilir. Bu denklemler yumurta ağırlığı ile yumurta boyu ve eni arasındaki ilişkiye bağlı olarak belirlenmiştir. Kaz yumurtasından daha düşük yumurtalar için belirlenen bu denklemler aşağıda verilmiştir (21).

Çizelge 2. Yumurta boyu ve eni değerlerine ait denklemler

Denklemler	
Denklem 1	Yumurta boyu = $13.04938 \times (\text{Yumurta ağırlığı})^{0.373272}$
Denklem 2	Yumurta eni = $8.01571 \times (\text{Yumurta ağırlığı})^{0.448338}$

3.1.3. Şekil İndeksi

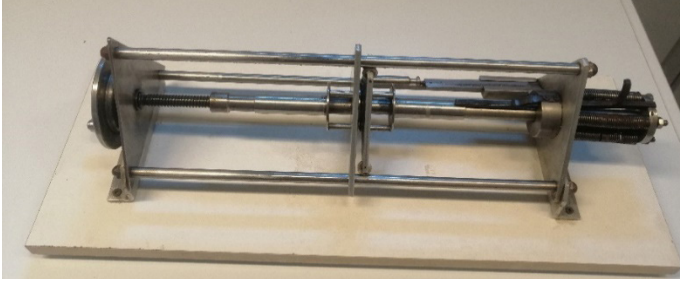
Yumurta şekli doğal değişkenlikler gösterir. Doğal değişkenlikler fazla olduğu zaman yumurta şeklini tanımlamada zorluklar ortaya koyar. Dolayısıyla matematiksel denklemlerle ya da gerçek bir şeklin bazı model nesnelere sapmasını gösteren farklı indekslerle yumurta şekli belirlenir. Yumurta şekil indeksinin birimi yüzdendir. Yumurtanın şeklini tanımlar. Yumurtanın şeklini tanımlamak için hesaplamada kullanılacak yumurta boyu ve eni ölçüm birimi aynı olmalıdır (22, 23). Yumurta şeklinin tanımlanmasında elongasyon yani uzama değeri de kullanılmaktadır. Elongasyon değeri yüzde bir değer değildir (23). Ayrıca kaz yumurtasının geometrik ortalama çapı ve küresellik (küre şeklinde olma durumu) gibi ana geometrik özelliklerinin belirlendiği denklemlerde bulunmaktadır (24).

Çizelge 3. Yumurta şekil özelliklerine ait denklemler

Denklemler	
Denklem 1	Yumurta şekil indeksi (%) = $(\text{Yumurta eni} / \text{Yumurta boyu}) \times 100$
Denklem 2	Elongasyon (Uzama) = $\text{Yumurta boyu} / \text{Yumurta eni}$
Denklem 3	Elongasyon (Uzama) = $1.3 \times (\text{Yumurta ağırlığı})^{0.014}$
Denklem 4	Geometrik ortalama çapı (mm) = $(\text{Yumurta boyu} \times (\text{Yumurta eni})^2)^{1/3}$
Denklem 5	Küreselleşme derecesi (%) = $(\text{Geometrik ortalama çapı} / \text{Yumurta boyu}) \times 100$

3.1.4. Kabuk Kırılma Direnci

Yumurta kabuk kalitesinin başka bir özelliği de kırılmaya karşı dayanıklılık yani kabuk kırılma direncidir. Kırılma direnci bir anlamda yumurta kabuğunun sağlamlığını ifade eder. Bu özelliği belirlemek için kırılma direncini ölçme cihazı kullanılmaktadır (Şekil 14). Kabuk kırılma direnci kg/cm^2 ya da Newton birimi ile belirlenir. Yumurta cihaza yatay olarak yerleştirilir ve güç uygulanır. Yumurta kabuğunun çatladığı andaki direnç kırılma direnci olarak kabul edilir. Bu özelliği belirlerken yumurta kabuk kalınlığının küt ve sivri uçta farklı olduğunu göz önünde tutmak önemlidir (25).



Şekil 14. Kırılma direnci ölçme cihazı

3.1.5. Yumurta Özgül Ağırlığı

Kabuk kalitesinin ölçütü olan özgül ağırlık, yumurta kırılmadan ölçülebilir. Özgül ağırlığının belirlenmesinde sıvıların kaldırma kanununa (Arşimed'in) dayalı bir işlem sonucu hesaplanarak belirlenebilir. Ayrıca su ve tuz kullanarak farklı yoğunlukta tuz çözeltileri hazırlanıp yumurta özgül ağırlık tespit edilebilir.

Arşimed'in sıvıların kaldırma kanununa göre yumurta özgül ağırlığını belirlemek için bütün yumurtanın sudaki ve havadaki ağırlıklarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu amaçla özel düzenek hazırlanmalıdır. Bu özel düzenek kullanılarak yumurtanın sudaki ve havadaki ağırlığı belirlenir ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanır (25, 26). Ayrıca farklı kanatlı hayvan yumurtalarında yumurta özgül ağırlığı ile yumurta ağırlığı, kabuk ağırlığı ve kabuk hacim arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar sonucu denklemler bulunmuştur (27, 28).

Çizelge 4. Yumurta özgül ağırlık değerine ait denklemler

Denklemler	
Denklem 1	$\text{Özgül Ağırlık} = (\text{Yumurtanın havadaki ağırlığı} / (\text{Yumurtanın havadaki ağırlığı} - \text{Yumurtanın sudaki ağırlığı}))$
Denklem 2	$\text{Özgül Ağırlık} = (\text{BYA}) / ((0.9680 \times (\text{BYA} - \text{KA}) + (0.4921 \times \text{KA}))$
Denklem 3	$\text{Özgül ağırlık} = \text{Yumurta ağırlığı (g)} / \text{Hacim (cm}^3\text{)}$

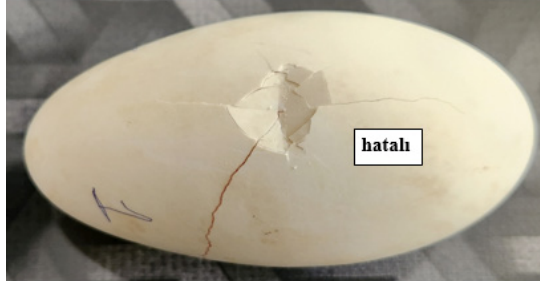
BYA (g) = Bütün yumurta ağırlığı; KA (g) = Kabuk ağırlığı

3.1.6. Yumurta Kabuğu Dış Kalite Özellikleri

Kaz yumurtası kabuk dış kalite özelliklerinin belirlenmesi için öncelikle yumurtanın kırılması gerekmektedir. Kaz yumurtasını kırmak için düz bir zemin oluşturulmalıdır. Önemli olan yumurtanın kırılacağı yüzeyin eğimsiz ve yumurta ak+sarı bütünlüğünün korunuyor olmasıdır. Ölçme yüzeyinin eğimsiz

olması için su terazisi kullanılabilir. Su terazisi kullanılarak oluşturulan yüzey yumurta ak+sarı bütünlüğünün doğru ölçümü için hazırdır.

Yumurta kırma işlemi yumurtanın iç ortamının boşaltılacağı düz zeminden yaklaşık 10-20 cm mesafeden yapılmalıdır. Kaz yumurtası bir elin avuç içine yatay şekilde konur, ekvatorial bölgeden bir sert malzemedeki olan cetvel, bıçak gibi bir araçla vurularak çatlatılır. Daha sonra sağ ve sol elin başparmakları kırık noktanın içerisine yerleştirilir ve bu küçük kırık noktanın büyümesini sağlayan hareketler yaparlar. Diğer dörder parmaklar başparmağın açtığı aralıktan yumurtanın iç yapısının düz zemine kolayca bir bütün olarak boşalmasını sağlamak için yumurtanın yönünü belirlemede ve kabuğun birbirinden ayrılmasında yardımcı hareketler yapılmalıdır (6, 25).



Şekil 15. Yumurta çatlatma avuç içinde olmalıdır

Düz zemine kırılan yumurtadan belirlenen dış kalite özellikleri aşağıda verilmiştir;

a) Yumurta Kabuk Yüzey Alanı

Yumurta kabuk yüzey alanı denklemler ile hesaplanan bir özelliktir. Bu denklemler aşağıda Çizelge 5’de verilmiştir (25, 29, 30, 31, 32);

Çizelge 5. Yumurta kabuk yüzey alanını belirlemede kullanılan denklemler

Denklemler	
Denklem 1	Yumurta yüzey alanı (cm ²) = 4.835 x (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.662}
Denklem 2	Yumurta yüzey alanı (cm ²) = 3.9782 x (Bütün Yumurta ağırlığı) ^{0.7056}
Denklem 3	Yumurta Yüzey Alanı (cm ²) = 4.76 x (Bütün Yumurta ağırlığı) ^{0.658}
Denklem 4	Yumurta Yüzey Alanı (cm ²) = π x (Geometrik ortalama çapı) ²
Denklem 5	Kabuk Yüzey Alanı (cm ²) = (3.155 - (0.0136 x YB) + (0.0115 x YE)) x YB x YE
Denklem 5	Kabuk Yüzey Alanı (cm ²) = (0.9658 x (YE / YB) + 2.1378) x YB x YE

YB: Yumurta boyu, YE: Yumurta eni

b) Yumurta Kabuk Ağırlığı

Kaz yumurtası kırılarak iç ak+sarı bütünlüğü bozulmadan akıtıldıktan sonra, iki parça halinde olan kabuğun ağırlığının tespiti için her bir kabuk parçasının bütünlüğünü korumak, dolayısı ile basınç uygulamaktan kaçınmak ve kabuğun iç yüzeyinde kalan ak parçasının temizlenmesi gerekir. Kabuk iç yüzeyi basınç uygulamadan bir peçete ya da emici özelliği iyi olan bir bez ya da sünger yardımıyla silindikten sonra yumurta kabuk parçaları ters çevrilir ve yaklaşık 10-15 dakika bekletilir. Sonra kaz yumurta kabuğu terazinin tartım haznesine konularak gram cinsinden tartılır (25).

Kaz yumurtası mevsimsel üretildiği için çok değerlidir. Bu yumurtaların civciv üretimi için kullanılması yumurta bütünlüğünün bozulmamasına bağlıdır. Bütün yumurta ağırlığı ve yumurta özgül ağırlığı baz alınarak kabuk ağırlığını belirlemek için denklemler tespit edilmiştir. Bu denklemler yardımıyla kaz yumurta kabuk ağırlığı kuluçkalık yumurtalar içinde belirlenebilen bir özellik olmuştur. Ancak aşağıda verilen denklemlerin belirlenmesi için küçük hacimli yumurtalar kullanıldığı unutulmamalıdır. Denklemler Çizelge 6'da verilmiştir (25, 33, 34).

Çizelge 6. Yumurta kırılmadan kabuk ağırlığını belirleme denklemleri

Denklemler	
Denklem 1	Kabuk ağırlığı (g) = 0.0524 x (Bütün yumurta ağırlığı) ^{1.113}
Denklem 2	Kabuk ağırlığı (g) = -5.972 + 0.06586 x Özgül ağırlık + 0.09906 x Bütün yumurta ağırlığı
Denklem 3	Kabuk ağırlığı (g) = (2.0341 x Bütün yumurta ağırlığı) - ((2.1014 x Bütün yumurta ağırlığı) / Özgül ağırlık)
Denklem 4	Kabuk ağırlığı = 1.9128 x Yumurta ağırlığı - ((1.9741 x Yumurta ağırlığı) / Özgül ağırlık)
Denklem 5	Kabuk ağırlığı = 1.9140 x Yumurta ağırlığı - ((1.9754 x Yumurta ağırlığı) / Özgül ağırlık)
Denklem 6	Kabuk Ağırlığı = 4.82 x 10 ⁻² x (Yumurta ağırlığı) ^{1.132}
Denklem 7	Kabuk Ağırlığı = 0.0524 x (Yumurta ağırlığı) ^{1.113}

Yumurta kabuk oranı, bütün yumurta ağırlığında kabuğun payını gösterir. Bütün yumurta ağırlığı ve kabuk ağırlığı kullanılarak bulunur. Ancak kabuk

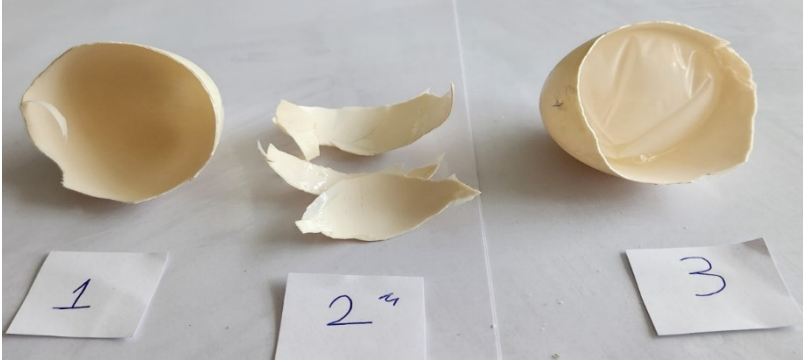
ağırlığının zarlı ya da zarsız olduğu belirtilmelidir. Çünkü kabuk zarları da ağırlık içerir. Kabuk ağırlık değeri genelde kabuk zarları ile birlikte belirlenir. Özel bir işlem uygulanmış ise bunun belirtilmesi gerekir.

Çizelge 7. Yumurta kabuk oranı ile ilgili denklemleri

Denklemler	
Denklem 1	$\text{Kabuk oranı (\%)} = (\text{Kabuk ağırlığı} / \text{Bütün yumurta ağırlığı}) \times 100$
Denklem 2	$\text{Zarsız kabuk oranı (\%)} = (\text{Zarsız kabuk ağırlığı} / \text{Bütün yumurta ağırlığı}) \times 100$
Denklem 3	$\text{Kabuk zar oranı (\%)} = (\text{Kabuk zar ağırlığı} / \text{Bütün yumurta ağırlığı}) \times 100$

c. Yumurta Kabuk Kalınlığı

Kabuk kalınlığı zarlı ve zarsız olarak tespit edilebilir. Kaz yumurtasında kabuk kalınlığını belirleme işlemi kabuk ağırlığı işleminden sonra yapılmalıdır. Çünkü kabuk kalınlığı işlemi sırasında kabuk küçük parçalara ayrılarak bu parçalardan kalınlık belirlenir. Parçalara ayırma işlemi bütün yumurtanın sivri, ekvatorial ve küt uç bölümleri baz alınarak şöyle yapılır;



Şekil 16. Kaz yumurtasında sivri (1), ekvator (2) ve küt (3) uç kabuklar

Yumurtanın her bir bölgesinden (sivri, ekvator ve küt) en az üç farklı noktadan parçalar koparılır. Bu parçalardaki kabuk kalınlıkları elektronik göstergesi olan dijital kumpas yardımıyla ölçülür (Şekil 17, 18). Ölçme işleminde kabuk kumpasın dış çap ölçüm çeneleri arasına kabuk kırılmayacak şekilde yerleştirilerek elektronik göstergedeki rakamsal değer ham veri olarak kayıt edilir. Kalınlık ölçüm birimi milimetre yaygın olarak kullanılsa da santimetre ve inç birimi de kumpas özelliğidir (25, 35).



Şekil 17. Kaz yumurtasının sivri uç kabuk kalınlığı ölçümü



Şekil 18. Kaz yumurtasının küt uç kabuk kalınlığının ölçümü

Kaz yumurtasının sivri uç bölgesinden alınan üç parçanın kalınlık değerlerinin ortalamaları sadece sivri uç kabuk kalınlığını belirlemektedir. Sivri uçta yaptığımız parçalar oluşturarak kalınlık belirleme işlemi küt uç ve ekvatorial bölge içinde yapılmalıdır. Bu işlem tekrarı ile ortalama küt uç kabuk kalınlığı ve ortalama ekvatorial kabuk kalınlığı hesaplanır. Bütün yumurta kabuk kalınlık değerini ise sivri uç, küt uç ve ekvatorial bölge kalınlıklarının ortalaması ile belirlenir (Çizelge 8). Ayrıca kabuk kalınlığı bazı çalışmalarda yumurtanın sivri, ekvatorial ve küt uçlarından birer ölçüm yapılarak ve bu üç kalınlık değerinin ortalaması alınarak bütün yumurta kabuk kalınlığı belirlenir (25, 36).

Çizelge 8. Bütün yumurta kabuk kalınlığına ait hesaplamalar

Denklemler	
Ortalama sivri uç kabuk kalınlığı (mm)	= (Sivri uç birinci parça + sivri uç ikinci parça + sivri uç üçüncü parça) / 3
Ortalama küt uç kabuk kalınlığı (mm)	= (küt uç birinci parça + küt uç ikinci parça + küt uç üçüncü parça) / 3
Ortalama ekvatorial kabuk kalınlığı (mm)	= (ekvatorial birinci parça + ekvatorial ikinci parça + ekvatorial üçüncü parça) / 3
Bütün yumurta kabuk kalınlığı (mm)	= (Ortalama sivri uç + ortalama küt uç + ortalama ekvatorial) / 3

Kaz yumurtasını kırmadan kabuk kalınlık ve yoğunluk değerlerini hesaplamak için yumurtanın diğer özellikleri kullanılarak oluşturulan denklemler de Çizelge 9'de verilmiştir (25, 33, 37, 38).

Çizelge 9. Kabuk kalınlığını belirleme denklemleri

DENKLEMLER	
Denklem 1	Kabuk Kalınlığı (mm) = 0.0546 X (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.441}
Denklem 2	Kabuk Kalınlığı (mm X 100) = 11.056 + (0.4349 X Yumurta özgül ağırlığı) + (0.2112 X Bütün yumurta ağırlığı)
Denklem 3	Kabuk Kalınlığı (mm) = 5.126 X 10 ⁻³ X (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.456}
Denklem 4	Kabuk yoğunluğu (g/cm ³) = 1.945 X (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.014}

d. Yumurta Kabuk Por Sayısı

Yumurtanın kabuğunda por yani gözenekler vardır. Porlar çapı ve derinliği olan huni biçiminde yapılarıdır. Porların derinliği kabuk kalınlığını oluşturur. Yumurtanın sivri, ekvatorial ve küt uçlarında gözlenen kabuk kalınlık farkının por sayısına bağlı olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla en kalın bölgede por sayısı azken, en ince bölgede ise por sayısı fazladır. Ancak por derinliği kalınlık ölçüsü ise kabuk kalınlığı az olan bölgedeki porlar için geniş çap ve kısa derinliğe sahip tanımlaması daha doğru olmalıdır. Çünkü büyükten küçüğe bütün yumurtalar için por sayısı 7000-20000 adet arasında değişir. Por sayısı kabuk kalınlığından ziyade, yumurta büyüklüğüne ve dolayısı ile kabuk yüzey alanındaki artışa bağlı olarak farklılık gösterir. Kabuk yüzey alanı ne kadar büyük olursa por sayısı da o kadar fazla olur. Ayrıca yumurtanın küt ucu hava kesesine sahiptir, dolayısıyla gaz geçişinin yoğun gerçekleştiği bölge olmasından dolayı por sayısı fazladır (6, 25, 39, 40).

Por sayısını belirlemek için yumurta kırıldıktan ve kabuk yüzeyindeki ak temizlendikten sonra, kabuk iç yüzeyi %70'lik alkolde çözülmüş Evans Blue ile boyanır. Ayrıca 1 lt alkol içerisine 3 g metilen mavisi ya da kristal viyole eritilerek oluşturulan çözelti kullanılabilir. Boyama işleminden sonra diseksiyon mikroskobu kullanılarak gözenek sayısı belirlenir. Kabuk yüzeyi boyunca gözeneklerin eşit dağılmadığı, ekvatorial bölgenin küt ve sivri uçların toplamının iki katına eşit olmasına istinaden ekvatorial bölge gözenek sayısı sayılır ve 2 katı alınarak bütün yumurta ortalama por sayısı belirlenir. Toplam gözenek sayısı ise ortalama gözenek sayısı ile toplam yumurta yüzey alan değeri çarpılarak bulunur (41, 42).

Yumurta kabuk por sayısını belirlemek için bütün yumurta ağırlığı ve kuluçka süresi baz alınarak oluşturulan denklemler bulunmaktadır. Bu denklemler yardımıyla yumurta bütünlüğünü kaybetmeden yumurta por sayısı ve por yoğunluğu belirlenir (42, 43, 44, 45).

Çizelge 10. Yumurta por özellikleri ile ilgili denklemler

DENKLEMLER	
Denklem 1	Por sayısı = 304 X (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.767}
Denklem 2	Por sayısı = 1041 X (Bütün yumurta ağırlığı) ^{0.504}
Denklem 3	Por sayısı = 3520 X (Bütün yumurta ağırlığı / Kuluçka süresi)
Denklem 4	Yumurta por yoğunluğu (Gözenek/cm ²) = (Por sayısı / Yumurta yüzey alanı)

Yumurta dış kalite özellikleri ile ilgili diğer denklemler ise Çizelge 11'de sunulmuştur (25, 46, 47, 48, 49).

Çizelge 11. Dış kalite özelliklerini belirlemede diğer denklemler

DENKLEMLER	
Denklem 1	Kabuk hacmi (cm ³) = Kabuk kalınlığı × Yumurta yüzey alanı
Denklem 2	Yumurta hacmi = 0.507 x yumurta boyu x (yumurta eni) ²
Denklem 3	Birim alan başına kabuk ağırlığı (g) = ((Kabuk ağırlığı × 100) / (Kabuğun yüzey alanı))
Denklem 4	Kabuk yoğunluğu (g/cm ³) = 1.945 x (Kabuk ağırlığı) ^{0.014}
Denklem 5	Kabuk yoğunluğu (g/cm ³) = (Kabuk ağırlığı / (Yüzey alan x Kabuk kalınlığı))
Denklem 7	Yumurta kütle (g) = 54.19 x (Yumurta boyu x (Yumurta eni) ²)
Denklem 8	Hacim (cm ³) = 0.525 x Yumurta boyu x (Yumurta eni) ²
Denklem 9	Hacim (cm ³) = 2.854 x Yumurta boyu x Yumurta eni
Denklem 10	Hacim (cm ³) = (0.6057 - 0.0018 x Yumurta eni) x Yumurta boyu x (Yumurta eni) ²
Denklem 11	Hacim (cm ³) = (0.452 + 0.069 x (Yumurta boyu / Yumurta eni)) x Yumurta boyu x (Yumurta eni) ²
Denklem 12	Hacim (cm ³) = 0.515 x Yumurta boyu x (Yumurta eni) ²

3.2. İç Kalite Özellikleri

Kaz yumurtasının iç kalite özellikleri yumurtanın ak ve sarı bölümlerinden belirlenir. İç kalite özellikleri yumurta kırılmadan ve yumurta kırıldıktan sonra tespit edilebilir.

3.2.1. Yumurta Kırılmadan Belirlenen Özellikler

Yumurta kırılmadan karanlık bir ortamda güçlü bir ışık kaynağı (lamba gibi) yardımıyla yumurta içi muayene edilir. Karanlık ortamda yumurtanın sivri, ekvatorial ya da küt bölgesinden güçlü bir kontrol lambası ile yansıtılan ışık kabuk yüzeyindeki porlardan yumurta iç ortamına geçer. Bu işlem sırasında ortam karanlığı ve aydınlatma cihazının yumurta başlığı kabuk yüzeyine yumurtayı kırmayacak şekilde temas etmesi çok önemlidir. Karanlık ortam bir oda ya da bir kutu olabilir.

Yumurta kırılmadan ışık kaynağı kontrolünün amacı sarı ve hava boşluğu ile ilgili özellikleri belirlemektir. Yumurta sarısının ve hava boşluğunun konumunu ve derinliğini lamba kontrolü ile tespit edebilir. Yumurtlamadan sonra gün alan yumurtaların sarı ve hava boşluğu özellikleri ortam koşullarına bağlı olarak değişir. Bu duruma bağlı olarak, taze ve bayat yumurta ayırt edilebilir (25).

Lamba muayenesi yumurta bütünlüğünü koruyarak bayat-taze yumurta ayırımında ve özellikle dömlü yumurtalarda embriyo gelişimi ve çıkışında önemli olan sarı ve hava kesesi konumu hakkında yol göstericidir. Taze yumurtada sarı yumurtanın merkezindedir, aynı zamanda sarının merkezde olması şalazın sağlam olduğunun bir göstergesidir. Yumurta bayat ise sarı merkez konumunu kaybeder, yumurtanın depolanma pozisyonuna göre sivri uca ya da küt uca doğru konum değiştirir. Çünkü bayat yumurtanın iç ortam pH değeri yükselmesine bağlı olarak yumurta akının parçası olan şalazın sarıyı merkezde tutma gücü azalır. Kaz yumurtasının depolama pozisyonun genellikle yatay olması, bayat yumurta sarının yer çekiminin olduğu ekvatorial bölgeye doğru olabileceği unutmamalıdır.

Hava boşluğu yumurtanın kloakadan çıktığı an soğuk hava ile teması sırasında oluşan bir yapı olup özellikle dömlü yumurtalarda kuluçka süresince gelişen embriyonun canlı ve kaliteli civciv olarak yumurtadan çıkmasında çok önemlidir (50, 51). Hava boşluğu için normal konum yumurtanın küt ucunda olmasıdır. Sivri ve ekvatorial bölgede olması ise anormal bir durumdur. Lamba kontrolü ile taze ve bayat yumurtada hava boşluğu derinliği belirlenir. Bayat yumurtada hava boşluğu derinliği taze yumurtalardakinden daha fazladır (25).

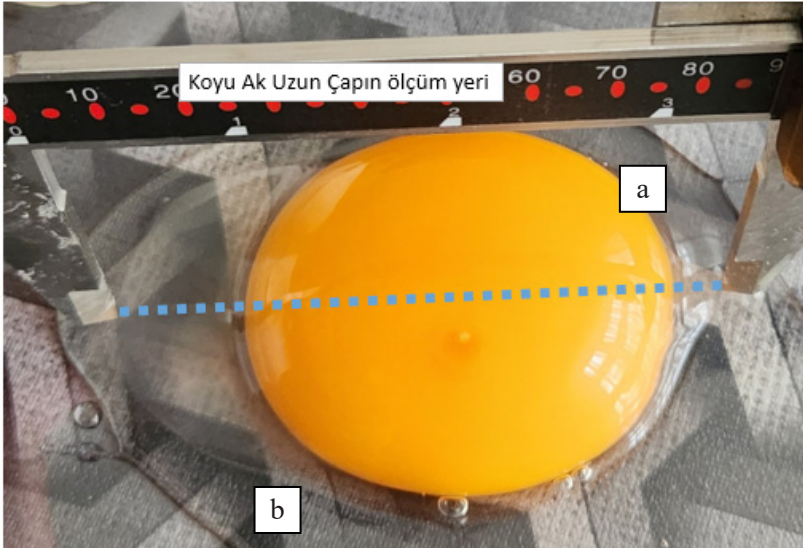
Kaz yumurtasının kabuğu kalın olduğu için lamba kontrolü ile yapılan muayene yeterli sonuç vermeyebilir. Muayene ortamının doğru dizayn edilmesi ve güçlü lamba kullanılması önemlidir.

3.2.2. Yumurta Kırıldıktan Sonra Belirlenen Özellikler

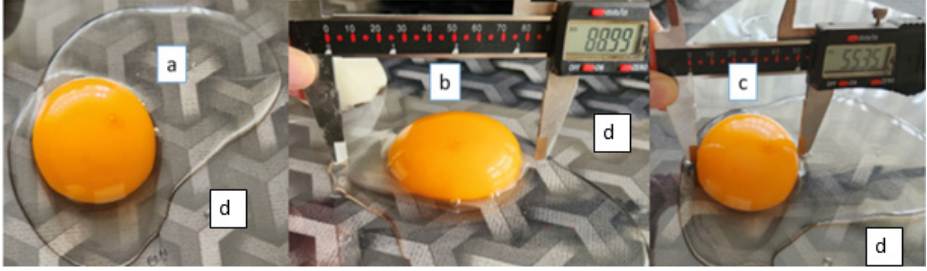
a) Yumurta Ak Özellikleri

Yumurta akı dört tabakadan oluşur. Bu nedenle, kalite belirlemede ölçüm alınan tabaka belirtilmelidir. Çünkü ak tabakalarının kıvamı ve konumu farklılık arz eder. Koyu ak tabakası kıvamı en yoğun tabaka olup, yumurta sarısını merkezde tutar. Dış sulu ak tabaka ise en dış tabaka olup, koyu aka göre biraz daha sulu kıvamdadır. Yumurta sarısının merkez konumunun önemli olmasından dolayı sarıya en yakın koyu ak tabakasından çap ve yükseklik ölçümlerinin yapılması önemlidir. Yumurta akının ölçüm tabakasının çalışmalarda doğru verilmesi yumurta akı konusunda yapılan çalışma sonuçlarının doğruluğunu arttırır. Bu nedenle yumurta kırılarak düz bir zemine boşaltılması sonrası, ak tabakalarının yayılım hızı tabaka yoğunluğundan ve konumundan dolayı farklı olur. Yayılım hızı en fazla dış sulu ak tabakasında olup yumurtanın tazelik ve bayatlık durumuna göre değişir. Ayrıca yumurtanın iç yapısının düz zemine düşüş hızına göre de değişir. Bu nedenle, yumurta kırma yüksekliği iyi ayarlanmalıdır.

Yumurta koyu akından iki çap değeri belirlenir. Koyu akın uzun çapı (uzunluğu) yumurtanın kırılmadan önceki görüntüsüne eş değerdir. Yani yumurtanın sivri ucu ile küt ucu arasındaki mesafedir (Şekil 19). Koyu akın kısa çapı (genişliği) ise yumurtanın kırılmadan önceki görüntüsüne eş değer olup, küt ucun bittiği ekvator bölgenin iki paralel kenarları arasındaki mesafeden ölçülür (Şekil 20).



Şekil 19. a: Koyu ak uzun çapı ölçüm görüntüsü, b: Hatalı zemin görüntüsü



Şekil 20. Kaz yumurtası; **a:** kırma sonrası yayılım, **b:** Koyu ak uzun çapı, **c:** Koyu ak kısa çapı, **d:** Hatalı zemin görüntüsü

Yumurta akından iki çap ölçümü yapıldıktan sonra koyu akın yüksekliği ölçülür. Koyu akın yüksekliği sarıya en yakın bölgeden belirlenmelidir. Yüksekliği belirlemede dijital kumpas kullanılabilir. Yumurtanın sarı bütünlüğünü bozmayacak mesafeden kumpasın hareketli iğnesi (kılıç) koyu aka dik olarak batırılır ve yavaşça milimetrik cetvelin ak ile teması sağlanır, temas anında dijital ekrandaki değer okunarak kayıt edilir (Şekil 21) (52).



Şekil 21. **a:** Koyu ak yükseklik değerin belirlenmesi görüntüsü, **b:** Hatalı zemin görüntüsü

Yumurta akından (koyu ak yada dış sulu ak) saptanan uzun ve kısa çap değerleri ve yükseklik değeri aşağıdaki formüllerde kullanılarak yumurta akına ait kalite özellikleri hesaplanır. Uzun ve kısa çapların ve yükseklik değerlerinin ölçüm birimleri aynı olmalıdır. Örnek; milimetre, santimetre vb. Yumurta akının kalite özellik ölçütleri (52, 53);

$$\text{Ak indeksi (\%)} = \left[\frac{\text{Koyu ak yüksekliği}}{\left\{ (\text{Koyu ak uzun çapı} + \text{Koyu ak kısa çapı}) / 2 \right\}} \right] \times 100$$

$$\text{Haugh Birimi} = 100 \log [\text{Koyu ak yüksekliği} + 7.57 - 1.7 \times (\text{Bütün yumurta ağırlığı})^{0.37}]$$

Yumurta akıyla ilgili olarak belirlenmesi gereken bir özellik de, yumurta ak ağırlığı değeridir. Yumurta akına ait ağırlık değeri akın dört katman ağırlığını ifade eder. Bu nedenle, yumurta akı ve sarıdan çap ve yükseklik ölçümleri yapıldıktan sonra sarıyı bütün halde tutan vitellin zara zarar vermeden küçük bir cetvel yardımıyla ak ve sarı birbirinden ayrılır. Akın ağırlığını belirlemek için kırma zeminindeki ak dikkatlice bir kap içerisine alınarak terazi yardımıyla tartılır. Başka bir işlemde, sadece aktan ayrılan sarı tartılır ve ağırlığı belirlenir. Bütün yumurta, kabuk ve sarı ağırlıkları kullanılarak ak ağırlığı tespit edilebilir. Aslında akın zemine yayılım alanının sarı yayılımından fazla olduğu baz alındığında zemindeki akın kap içerisine aktarımı sırasında ak yönünden kayıpların fazla olacağı bir gerçektir. Bu nedenle sarı ağırlığının belirlenmesi ile ak ağırlığına ulaşmak ölçümün doğruluk oranını artıracaktır. Yumurta ak ağırlık değeri bize bütün yumurta ağırlığındaki akın oranına ulaşmayı sağlar (20, 25).

$$\text{Yumurta Ak ağırlığı (g)} = \text{Bütün yumurta Ağırlığı} - (\text{Yumurta kabuk ağırlığı} + \text{Yumurta sarı ağırlığı})$$

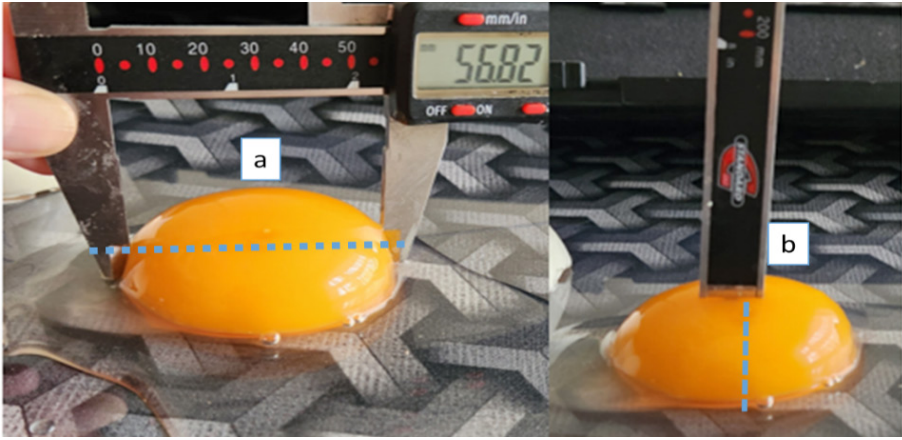
$$\text{Yumurta ak oranı (\%)} = \left(\frac{\text{Yumurta ak ağırlığı}}{\text{Bütün yumurta ağırlığı}} \right) \times 100$$

b. Yumurta Sarı Özellikler

Yumurta kırıldıktan sonra ilk olarak ak ile ilgili çap ölçümleri yapılır. Yumurta akına ait ölçümler bittikten sonra yumurta sarı çap ve yükseklik değerleri belirlenir. Yumurta sarı çapı değeri yükseklik değerinden önce belirlenmelidir. Çünkü kumpasın derinlik ölçer iğnesi sarıya dik olarak batırıldığında vitellin zar yırtılabilir. Taze bir yumurta için bu olayın olasılığı elbette çok düşüktür, ancak ölçüm yapan kişinin hassasiyeti ve deneyimi baz alındığında sarının çapının belirlenmesi birinci işlem olmalıdır.

Yumurta sarı çapı genellikle tek bir çap ile belirlenir. Sarı çapı ölçümü karşılıklı iki nokta arasında düz çizgi oluşacak şekilde ölçülür. Ayrıca bazı kaynaklarda yumurtanın zemine kırıldıktan sonra tam dairesel görüntüsünden sapma olduğu ifadesine dayanarak yumurta sarısına ait en dar ve en geniş çap değerleri ölçülerek sarı dairesel sapma değeri yüzde olarak hesaplanabilir.

Yumurta sarısına ait çap ölçümü bittikten sonra sarı yüksekliği-derinliği ölçülür. Bu amaçla kumpas kullanılabilir. Kumpasın derinlik ölçer iğnesi sarının en yüksek yani tepe noktasından zemine dik olarak dikkatli bir şekilde indirilir (Şekil 22). Daha sonra hareketli milimetrik cetvel parçası sarı yüzeyine doğru indirilerek ilk temas noktasında durdurulur ve ekrandaki değer kayıt edilir. Sarı yükseklik değeri için ilk temas noktası değeri önemlidir. Kumpasın hareketli mekanizması sarı yüzeyine çok basınç uygulamamalıdır. Çünkü fazla basınç sonucu sarıyı bir bütün halde tutan vitellin zar yırtılabilir, bu da sarının bütünlüğünü bozar.



Şekil 22. a: Sarı çap ölçüm aralığı, b: Sarı yüksekliği ölçüm aralığı, c: Hatalı zemin kullanımı

Yumurta sarısına ait çap ve yükseklik değerleri belirlendikten sonra yumurta sarısının ağırlığını saptamak için uygun boyutta bir cetvel yardımıyla ak ve sarı birbirinden ayrılır. Bu işlem çok hassas yapılmalıdır. Vitellin zar yırtılır ise sarı bütünlüğünü kaybeder. Ak ve sarı ayrıldıktan sonra bütünlüğünü koruyan sarı yavaş bir şekilde bir kap içerisine aktarılır, terazide tartılarak ağırlığı (g) kaydedilir. Eğer ayırma işleminden sonra sarının yüzeyinde kalan ak miktarını azaltmak istiyorsak emici özelliği olan filtre kağıdı üzerinde sarı git-gel ya da yuvarlama hareketi yapılabilir. Ancak sarının kağıt üzerindeki bu yuvarlama işlemi çok dikkatli yapılmalı, sarı parçalanmamalıdır (54).

Yumurta sarı çapı, sarı yüksekliği ve sarı ağırlığı belirlendikten sonra formüller kullanılarak sarı kalite özellik ölçütleri hesaplanır (25, 55);

Çizelge 12. Yumurta sarısına ait özellikler ve denklemler

DENKLEMLER	
Denklem 1	Yumurta sarı indeksi (%) = [Sarı yüksekliği / Sarı çapı] × 100
Denklem 2	Yumurta sarı oranı (%) = (Yumurta sarı ağırlığı / Bütün yumurta ağırlığı) × 100
Denklem 3	Sarı Oranı (%) = 0,346 × (Bütün yumurta ağırlığı) ^{1,02}
Denklem 4	SDSD (%) = (1 - (Sarıya ait en az genişlik/Sarıya ait en fazla genişlik)) × 100

SDSD: *Sarı dairesel sapma değeri*

4. Sonuç

Kaz yumurtası bildircin, tavuk, hindi ve ördek yumurtalarından büyüklük, şekil, kabuk özellikleri ve ak:sarı oranı bakımından farklılık gösterir. Dişi ve erkek kazların üreme organları diğer kanatlı hayvanların üreme organlarıyla aynıdır. Ancak organların büyüklük ve şekil bakımından kazlarda daha fazla olduğu görülmektedir. Dişi kazların yumurta kanalına ait olan infundibulum, magnum, isthmus ve uterus yumurtanın oluşumundan, vagina ise kaslı yapısıyla kabuklu yumurtanın dış ortama çıkışını sağlamak için kloakaya geçişi sağlamaktadır. Kaz yumurtaları içinde dış ve iç kalite özellikleri belirlenmelidir. Mevsimsel olarak üretilen kaz yumurtalarının kalite özelliklerinin belirlenmesinde yumurta bütünlüğünü bozmayan yöntemler kullanılmalıdır. Çünkü yıl bazında az sayı da üretilen kaz yumurtalarının sürü devamlılığında kullanılması gerekmektedir. Dolayısıyla, küçük ve hafif yumurtalarda yapılan çalışmalar sonucu bulunan denklemler kaz yumurtaları için doğruluk oranlarının tespit edilmesine yönelik çalışmalar yapılmalıdır. Kanatlı yetiştiriciliğinde yer alan her kanatlı tür yumurtalarına özgü kalite özellik değerlerini belirleme denklemi olmalıdır.

Kaynaklar

1. Türk Gıda Kodeksi. Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığında, 29211 sayılı Resmî Gazete, 20 Aralık 2014.
2. Kırmızıbayrak T, Boğa Kuru B, Yazıcı K. Kazlarda yumurta verimi ve kalite özellikleri ile kuluçka özellikleri. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics, 2016; 2(1): 42-47.
3. Kuźniacka J, Biesek J, Banaszak M and Adamski M. Evaluation of egg production in Italian white geese in their first year of reproduction. Europ.Poult. Sci, 2019; 83: 1-9.

4. Arroyo, CL. Specific gravity, weight and the percentage of shell, white and yolk in goose eggs. *Agronomía Costarricense*, 1990; 14(1), 99-102.
5. Shrestha JNB, Grunder AA, Dickie JW. Evaluation of Pilgrim, Hungarian, Chinese, Synthetic and Embden strains of geese and their crosses for body weight. *Canadian Journal of Animal Science*, 2004; 84(2): 187-195.
6. Alaşahan S. Kanatlı Hekimliği; Yetiştirme Teknikleri. Yarsan E (Editör); Güneş Tıp Kitapevi, 2022; sayfa 1262.
7. Akhtar MF, Shafiq M, Ali I. Improving gander reproductive efficacy in the context of globally sustainable goose production. *Animals*, 2022; 12(44): 1-13.
8. Lake PE. The male reproductive tract of the fowl. *Journal of Anatomy*, 1957; 91: 116-129.
9. Khatun P and Das SK. Gross Anatomy of epididymis and ductus deferens of adult Khaki Campbell duck (*Anas platyrhynchos domesticus*) in Bangladesh. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, 2019; 22(01): 1805-1809.
10. Brennan PLR, Prum RO, McCracken KG, Sorenson MD, Wilson RE, Birkhead TR. Coevolution of Male and Female Genital Morphology in Waterfowl. *PLoS ONE*, 2007; 2(5): e418.
11. Yonju HT, Akira S, Noboru S, Kiyoshi S. Changes in mRNA expression of the MMP-2 in the Mullerian duct of the chicken embryo. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2004; 139: 131-136.
12. Rahman MA. An Introduction to Morphology of the Reproductive System and Anatomy of hen's Egg. *J. Life Earth Sci*, 2013; 8: 1-10.
13. Abood DA and Al-Saffar FJ. The post hatching development of the female genital system in Indigenous Mallard Duck (*Anas platyrhynchos*). *The Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 2015; 39(2): 17-25.
14. Alshammary HKA, Jabar AI, Nasser RAA. Geese ovary and oviduct from an Anatomical and Histological point of view. *RJPBCS*, 2017; 8(6): 207-219.
15. Reshag AF and Khalaf AS. Histochemical study of glands of oviduct in laying geese. *Plant Archives*, 2021; 21(1): 343-347.
16. Nour A. Some histological, histochemical, and ultra structure studies on the vagina of the egyptian geese. *Benha.Vet. Med. J*, 2014; 26(1): 113-119.
17. Mazanowski A and Adamski M. The structure, chemical composition and time trends of egg quality characteristics in high-producing geese. *Arch. Geflügelk.*, 2006; 70(3): 127-133.

18. Al-Shadeedi ShMJ. Comparison of weight, components and chemical composition of eggs in guinea fowl, turkey, and domestic chicken. *J. World Poult. Res.*, 2020; 10(1): 52-56.

19. Saatçi M, Yardımcı M, Kaya İ, Poyraz Ö. Kars ili kazlarında bazı yumurta özellikleri. *Lalahan Hay. Araş. Enst. Derg.*, 2002; 42(2): 37-45.

20. Sarı M, Buğdaycı KE, Akbaş AA, Saatçi M, Oğuz MN. The effect of laying period on egg quality traits and chemical composition of Lindovskaya (Linda) geese reared under breeder conditions. *Turk J Vet Anim Sci*, 2019; 43: 662-669.

21. Alaşahan S, Dağoğlu Hark B, Eltas Ö. Prediction of the length and width of quail eggs using linear regression analysis. *Eurasian J Vet Sci*, 2019; 35(3): 152-157.

22. Schonwetter M, 1960. In: Meise W. (ed.), *Handbuch der Oologie*. Berlin, Akademie Verlag.

23. Rahn H, Paganelli CV. Length, breadth, and elongation of avian eggs from the tables of Schönwetter. *Journal fur Ornithologie*, 1988; 129: 366-369.

24. Zhang J, Peng W, Tang W, Wang M. Experimental study on the geometrical and mechanical properties of goose eggshells. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 2017; 19(3): 455-464.

25. Sarıca M, Erensayın C. Tavukçuluk ürünleri. Tavukçuluk Bilimi, Yetiştirme, Besleme, Hastalıklar. (Ed. M.Türkoğlu, M. Sarıca) Bey Ofset Matbaacılık, 3. Basım, 2009; s., 588.

26. Abdallah GA, Harms RH, El-Husseiny O. Various methods of measuring eggshell quality in relation to percentage of cracked eggs. *Poultry Science*, 1993; 72(11): 2038-2043.

27. Karabulut O. Estimation of the external quality characteristics of goose eggs of known breadth and length. *Veterinari Medicina*, 2021; 66(10): 440-447.

28. Harms RH, Rossi AF, Sloan DR, Miles RD, Christmas RB. A method for estimating shell weight and correcting specific gravity for egg weight in eggshell quality studies. *Poultry Science*, 1990; 69: 48-52.

29. Paganelli CV, Olszowka A, Ar A. The avian egg: surface area, volume, and density. *The Condor*, 1974; 76: 319-325.

30. Narushin VG. Egg geometry calculation using the measurements of length and breadth. *Poultry Science*, 2005; 84: 482-484.

31. Hughes R.J. Estimation of shell surface area from measurements of length, breadth, and weight of hen eggs. *Poultry Science*, 1984; 63: 2471-2474.

32. Rath PK, Mishra PK, Mallick BK, Behura NC. Evaluation of different egg quality traits and interpretation of their mode of inheritance in White Leghorns, *Veterinary World*, 2015; 8(4): 449-452.

33. Rahn H, Paganelli CV. Shell mass, thickness and density of avian eggs derived from the tables of Schönwetter. *Journal fur Ornithologie*, 1989;130: 59-68.

34. Çopur Akpınar G, Alaşahan S, Canoğulları Doğan S. Halk elinde yetiştirilen pekin ördeklerinde matematiksel formüller ile yumurta kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2017; 5(12): 1470-1475.

35. Ahmad HA and Balander RJ. Alternative feeding regimen of calcium source and phosphorus level for better eggshell quality in commercial layers. *J. Appl. Poult. Res.*, 2003; 12: 509-514.

36. Tilki M, İnal S. Quality traits of goose eggs: 2. Effects of goose origin and storage time of eggs. *Arch Gefl ügelkd*, 2004; 68: 230-234.

37. Ar A, Paganelli CV, Reeves RB, Grene DG, Rahn H. The avian egg: Water vapor conductance shell thickness and functional pore area. *Condor*, 1974; 76: 153-158.

38. Alaşahan S, Garip M, Çağlayan T, Ateş CT. Halk elinde yetiştirilen kaz, ördek ve hindi yumurtalarının bazı dış kalite özelliklerinin incelenmesi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 2019; 8(1): 21-25.

39. Baxter-Jones C. Egg hygiene: Microbial contamination, significance and control. In: *Avian incubation*. Tulleh SG, ed. Butterworth, Heinemann; 1994. p. 269-276.

40. Tona K, Bamelis F, Coucke W, Bruggeman V and Decuyper E. Relationship between broiler breeder's age and egg weight loss and embryonic mortality during incubation in large-scale conditions. *J. Appl. Poult. Res.*, 2001; 10: 221-22.

41. Booth DT,. Regional changes in shell thickness, shell conductance, and pore structure during incubation in eggs of the mute swan. *Physiol. Zool.*, 1989; 62: 607-620.

42. Balkan, M, Biricik M. Pekin ördeği (*Anas platyrhynchos* f. dom.) Yumurtalarında kabuk kalınlığı, gözenek sayısı ve gözenek yoğunluğundaki bölgesel farklılıklar. *Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2006; 10(2):193-196.

43. Hoyt DF, Board RG, Rahn H, Paganelli CV. The eggs of the Anatidae: Conductance, pore structure and metabolism. *Physiol. Zool.*, 1979; 2: 438-45.

44. Rahn H and Ar A. Gas exchange of the avian egg: Time, structure and function. *Amer. Zool.*, 1980; 20: 477-484.

45. Rahn H and Paganelli CV. Gas fluxes in avian eggs: Driving forces and the pathway for exchange. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1990; 95A: 1-15.

46. Preston FW. The volume of an egg. *American Ornithological Society* 1974; 91:132-138.

47. Karabulut O. Relationship between weight, volume and specific gravity of goose eggs before incubation. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 2021; 6(2): 90-99.

48. Paganelli CV, Olszowka A, Ar A. The avian egg: surface area, volume, and density. *The Condor*, 1974; 76(3): 319-325.

49. Ayupov FG. On the egg mathematical model. *Advanced Scientific-Industrial Experience in Poultry Breeding*. Express Information, 1976; 9:14-16. (In Russian).

50. Meir M and Ar A. Compensation for seasonal changes in eggshell conductance and hatchability of goose eggs by dynamic control of egg water loss. *Br. Poult. Sci.*, 1991; 32: 723-732.

51. Meir M and Ar A. Artificial increase of eggshell conductance improves hatchability of early laid goose eggs. *Br. Poult. Sci.*, 1996; 37: 937-951.

52. Yannakopoulos L, Tserveni-Gousi AS. Quality characteristics of quail eggs. *British Poultry Science*, 1986; 27: 171-176.

53. Tilki, M, İnal Ş. Quality traits of goose eggs: 1. Effects of goose age and storage time of eggs. *Arch. Geflügelk.* 2004; 68(4): 182-186.

54. Oladimeji BM, Gebhardt R. Physical characteristics of egg yolk granules and effect on their functionality. *Foods*, 2023; 12(2531): 1-14.

55. Sotherland, PR, Rahn, H. On the composition of bird eggs. *The Condor*, 1987; 89: 48-65

BÖLÜM X

TAVUKLARDA CİNSİYET TESPİTİNDE KULLANILAN MOLEKÜLER MEKANİZMALAR

Molecular Mechanisms Used in Sex Determination in Chickens

Aysel ERASLAN ŞAKAR¹

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,

Genetik Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

E-mail: ayseleraslan@gmail.com

ORCID: 0000-0002-9230-1622

1. Giriş

İnsanoğlu için önemli bir besin kaynağı olan tavuk (*Gallus gallus domesticus*), aynı zamanda araştırmacılar için de erişilebilir bir model organizma olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (1). Günümüzde tavukçuluk sektörü önemli bir endüstri halini almış ve her geçen yıl yeni teknolojilere de paralel olarak ilerlemektedir. Türkiye dünya pazarında hem üretim hacmi hem de kullanılan teknoloji bakımından ön sıralarda yer almaktadır. Tavukçuluk sektörünün büyük bir çoğunluğunu etlik piliç ve yumurta tavukçuluğu oluşturmaktadır. Yumurta tavukçuluğu, insan beslenmesinde mükemmel bir gıda olan yumurtanın üretimi bakımından önemli bir yetiştiricilik faaliyetidir. Yumurta tavukçuluğu endüstrisinde dişi civcivler yumurta üretimi için büyütülürken, ihtiyaç fazlası erkek civcivler etik ilkelere uygun şekilde elimine edilmektedir (2). Hayvan refahı ve ekonomik açıdan önem arz eden bu durum, civcivlerde cinsiyet tespitinin günlük civcivler yerine, yumurta içindeki embriyoda yapılabilmesi ile, yumurta tavukçuluğu için önemli bir yol kat edilmesini sağlayacaktır. Bu nedenle tavuklarda gonadal cinsiyet farklılaşmasının altında yatan moleküler mekanizmaların bilinmesi, sadece tavukların değil, aynı zamanda omurgalı cinsiyet ayrımının gelişimsel biyolojisine de büyük katkı sağlayacaktır.

2. Tavuklarda Gonadal Cinsiyet Farklılaşması

Tavuklarda gonadlar embriyonik gelişimin 3. gününde (E3) ara mezodermden oluşur (3). Memelilerde olduğu gibi, embriyonik böbreklerin ventral yüzeyinde kalınlaşmış çöломik epitelin sırtı olarak görünür. Gonadogenezin başlangıç aşamalarında (E3.5-E4.5) bu genital sırtlar bipotansiyeldir ve erkek ve dişi embriyoda morfolojik olarak ayırt edilemezler. Farklılaşmamış gonad, histolojik olarak iki elementten oluşur. Korteks adı verilen ince kolumnar epitel hücrelerden oluşan dış tabaka ve medulla adı verilen primitif cinsiyet kordonlarını içeren iç tabakadan oluşur. Bipotansiyel gonaddan over ya da testis gelişimi tavuk gelişiminin yaklaşık E6-E6.5 günlerinde meydana gelir. 21 günlük embriyonik dönemin E8 gününden itibaren erkek ve dişi embriyolardaki gonadlar belirgin şekilde farklılık gösterir. Bu sırada germ hücreleri de embriyo gelişiminin en erken aşamalarında epiblast içerisinde oluşan primordiyal germ hücrelerinden (PGH) köken alır ve Vasa genini eksprese ederek kan dolaşımı yoluyla gonadlara ulaşır (4-5). PGH'ler mitoz bölünme ile çoğalır, gonadlara yerleştiklerinde de mitotik aktivitelerini devam ettirirler. Primordiyal germ hücreleri gonadlara ulaştıklarında hem erkek gonad, hem de dişi gonad boyunca rastgele dağılır (6). PGH'ler genital sırtlara ulaşamazlarsa gonadlar gelişemez. Gonadal farklılaşmanın başlangıç aşamasında belirli genlerin önemli olduğu bildirilmiştir. En erken eksprese edilen genlerden ikisi steroidojenik faktör 1 (SF1) ve GATA bağlanma proteini 4 (GATA4)'tür (7). Tavuklarda SF1 ve GATA4 farklılaşmamış gonadda her iki cinsiyette de eksprese edilir (8-9). GATA4 geni nakavt edilmiş koşullu mutant farelerin genital çıkıntıları oluşturmak için çöломik epitelin sırtında kalınlaşma olmadığından gonadları oluşturamadığı görülmüştür (10). SF1'in ise, bu farelerin çöломik epitelinde eksprese edilmediği görülmüştür, bu durum GATA4'ün gonadal primordiyum oluşumunun başlatılmasında SF1'in yukarı yön yolağında (upstream) olduğunu düşündürmektedir (10).

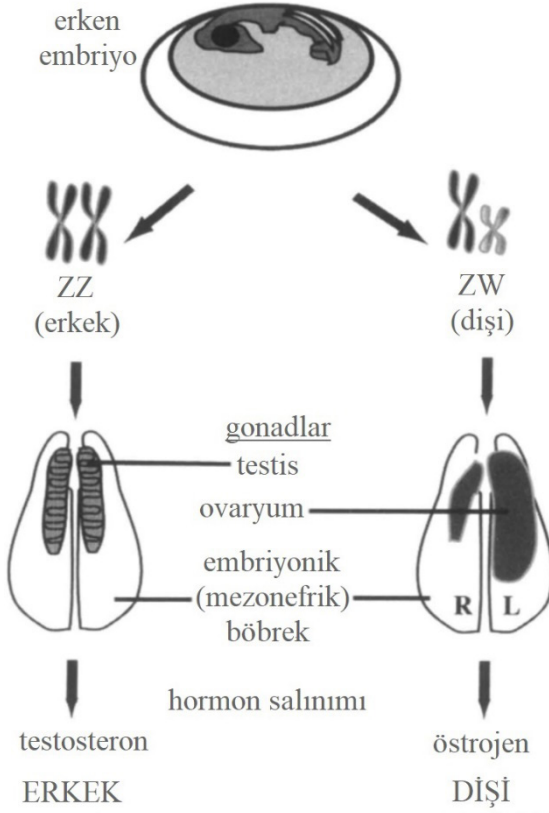
Erkek embriyolarında hem sağ hem de sol testiste korteks ince bir epitel tabakası olarak kalırken, medulla primer epitelyal cinsiyet kordonları olarak bilinen seminifer tübüllere farklılaşır. Bu cinsiyet kordonları bazal bir membrana yerleştirilmiş sertoli hücreleri ve PGH'lerden oluşur. Farklılaşan ve çoğalan sertoli hücreleri müllerian kanallarının regresyonuna katkıda bulunan anti-müllerian hormon (AMH)'ı ve daha sonra SRY-box transkripsiyon faktörü 9 (SOX9)'u eksprese eder (11-12). Testosteron üreten Leydig hücreleri, seminifer tübüllerin dışında mezenşimden farklılaşır. PGH'ler ise gelişmekte olan sertoli

hücreleri içinde korunur ve mitotik evrede tutularak kuluçkadan çıktıktan sonra mayoza girerler.

Dişi tavuk embriyoları asimetrik gonadal gelişim gösterir. Sadece sol gonad fonksiyonel bir ovaryum haline gelirken, sağ gonad embriyogenez sırasında steroidojenik olarak aktif olmasına rağmen kuluçkadan çıktıktan sonra geriler. Bu asimetriye, östrojen reseptör α (ESR α) ekspresyonunu düzenleyen ve sol gonaddaki hem somatik hücrelerin hem de PGH'lerin farklılaşmasını yönlendiren transkripsiyon faktörü paired-like homeodomain 2 (PITX2) ekspresyonu aracılık eder (13-14-15). Primordiyal germ hücreleri daha sonra mayotik profaza (8. günden sonra) girer ve folikülogeneze geçmeye başlar. Germ hücrelerini çevreleyen granüloza ve teka hücreleri, somatik kortikal hücrelerden veya korteksin hemen altından göç eden medullar hücrelerden farklılaşır. Fonksiyonel sol ovaryumun gelişimi, profaz I'in diploten fazında tutulan primordiyal foliküllerin oluşumu ile kuluçkadan çıktıktan sonra tamamlanır (16). Hem sol hem de sağ gonadın korteks tabakasının altında bulunan medullar kordonlar vakuolle kaplanır ve lakuna olarak adlandırılan yapıları oluşturur (17). Sağ gonad, sol gonada benzer şekilde vakuolle kaplanmış bir medulla oluştursa da, germ hücrelerinden zengin bir korteks oluşturamaz. Forkhead box protein L2 (FOXL2) ve aromataz (CYP19A1) genleri, her iki ovaryum medullası boyunca eksprese edilir (18-19).

3. Tavuklarda Cinsiyet Kromozomları

Cinsiyet, cinsiyet kromozomlarının diferansiyel kalıtımıyla fertilizasyon aşamasında belirlenir. Tavuk ve diğer kuşlarda erkekler homogametik (ZZ) kromozomlara sahipken, dişiler heterogametik (ZW) kromozomlara sahiptir (20-21) (Şekil 1). Memelilerde olduğu gibi, heterogametik kromozomlar majör bir kromozom (Z) ve daha küçük, büyük ölçüde degrade olmuş, bir kromozom (W) içerir (22). Haploid genomun %7.5'ini oluşturan Z kromozomu, 1000'den fazla gen içerir ve bu genlerin çoğu "housekeeping" fonksiyona sahiptir (23). Haploid genomun %1'ini oluşturan W kromozomu ise, protein kodlayan genleri içeren küçük bir ökromatik bölgeye sahip olup daha çok heterokromatiktir. Tavuk W kromozomunun 25 protein kodlayan gen ve yaklaşık 116 kodlamayan RNA içerdiği bildirilmiştir (24). Tavuk W kromozomu üzerinde bulunan tek kopyaya sahip genlerin gelişimde önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. Bu genlerin transkripsiyon, translasyon, protein degradasyonu, kromatin modifikasyonu ve sinyal transdüksiyonu gibi temel hücresel süreçlerle ilişkili olduğu öngörülmüştür (24).



Şekil 1: Kuşlarda Cinsiyet Tespiti ve Gonadal Cinsiyet Farklılaşması (25)

Cinsiyet kromozomlarının bir veya her ikisinde bulunan genler embriyonik gonadları ya ovaryum (ZW) ya da testise (ZZ) farklılaştırır ve gonadlardan salgılanan steroid hormonlar vücudun diğer bölümlerini feminenleştirir ya da maskülenleştirir (26-27). Tavuk embriyolarındaki dimorfik gen ekspresyonunun gonadal farklılaşmadan önce ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (28-12). Maekawa ve ark. (2013) gonadal cinsiyet farklılaşmasından önce (ve sonra) ZZ ve ZW tavuk embriyoları arasındaki primordiyal beyinleri değiştirmiş ve kuşları seksüel olgunluğa ulaştırmışlardır. Transplante ettikleri donör beyinlerinde donörün nöroendokrin özelliklerini koruduğunu ortaya koymuşlardır (29). Bu durum, en azından kısmen, gonadal hormonlardan bağımsız olarak beyin dokularının içsel seksüel kimliğe sahip olduklarını, yani hücre otonom olduklarını ortaya koymaktadır. Farklı bir araştırmada da, östrojen sentezleyen ve erkek gonadları feminize edebilen CYP19A1 genini yapısal olarak eksprese edebilen transgenik

tavuk üretmişler ve daha sonra yumurtadan çıkan kuşların erkek fenotipini koruduğunu bildirmişlerdir (30). Bu veriler birlikte ele alındığında, genetik faktörlerin tavukta seksüel farklılaşmayı düzenlemede önemli bir rolü olduğunu göstermektedir.

4. Tavuklarda Dozaj Telifisi

Tavuklarda cinsiyeti tayini dozaj hipotezine göre, ZZ embriyolarında Z kromozom üzerinde bulunan bir genin daha yüksek dozu erkek gelişimini tetiklerken, ZW embriyolarında daha düşük bir doz dişi gelişimine izin vermektedir. Bu hipotezin temel bir gereksinimi, Z kromozomunda bulunan aday bir genin dozaj telifisinden kaçması gerektiğidir. Z kromozom üzerinde kodlanan enzimlerle yapılan embriyonik çalışmalar erkeklerde daha yüksek ekspresyon seviyelerinin olduğunu göstermiştir. Bu da kuşlarda memeli X inaktivasyonuna benzer bir Z kromozom inaktivasyonunun olmadığını ortaya koymaktadır (31-32). Genel dozaj telifisi ve dolayısıyla ZZ ve ZW kromozomları arasında potansiyel bir ekspresyon eşitsizliğinin olmaması nedeniyle, kromozomlar üzerindeki genlerden herhangi birinin belirli bir dokuda cinsiyet belirleyici bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (33). Ancak tavuklarda Z kromozom üzerindeki belirli genler çeşitli dokularda dişilere (ZW) kıyasla erkeklerde (ZZ) ortalama 1.4-1.8 kat daha fazla eksprese edilir (34). Bu da gen dozajının lokal bir şekilde eşitlenmesinin olduğunu göstermektedir, ancak bu gene özgüdür (35). Cinsiyetler arasındaki Z gen dozaj eşitsizliği, gonadal farklılaşmadan önce, ovaryumların veya testislerin gonadal ve ekstragonadal hücrelerinde bulunur (36) ve böylece seksüel gelişim için hücre otonom bir mekanizma sağlayabilir.

Tavuk Z cinsiyet kromozomunun bir bölgesi MHM (erkek hipermetillenmiş bölge) adı verilen ve dozaj telifisi gösteren bir gen konsantrasyonuna sahiptir. Bu tekrar sekansı, erkek hücrelerde (ZZ) hipermetillenir ve transkripsiyonel olarak sessizdir, ancak dişi hücrelerde (ZW) hipometillenir ve uzun kodlamayan RNA (lncRNA)'ya transkribe edilir (37). İki Z cinsiyet kromozomu arasındaki MHM metilasyon durumunun eşitsizliği lokal dozaj telifisinde rol oynayabilir ve dişilerde Z-ilişkili gen ekspresyonunu erkeklerle karşılaştırılabilir seviyelere yükseltebilir (38). MHM, memelilerde X inaktivasyonuna aracılık eden kodlamayan bir RNA olan X inaktif-spesifik transkript (XIST)'e benzerlik gösterir (39). MHM'nin fazla eksprese edilmesi, tavuk embriyolarında cinsiyete özgü olmayan gelişimsel anormalliklere ve gonadal DMRT1 ekspresyonunda belirgin bir azalmaya neden olur (40). Bu bölgenin kesin fonksiyonu CRISPR/Cas9 yaklaşımları ile daha da açıklığa kavuşturulmaya çalışılmıştır (41).

5. Tavuklarda Gonad Farklılaşmasının Altında Yatan Moleküler Mekanizmalar

Tavuklarda cinsiyeti belirleyen kaskadda yer alan çeşitli genler tanımlanmıştır. Bu genlerin farklılaşmamış gonadın oluşumu ve daha sonra cinsiyete özgü farklılaşmada birden fazla rolü bulunmaktadır.

5.1 Erkek Gonad Farklılaşmasının Altında Yatan Moleküler Mekanizmalar

5.1.1 Doublesex ve Mab-3 ile İlişkili Transkripsiyon Faktörü 1 (DMRT1)

Tavuklarda moleküler olarak cinsiyetin tespit edilmesinde iki mekanizma önerilmiştir (42-43). Birincisi, memelilerde testis-belirleyen SRY genine benzer, dişilere özgü W kromozoma lokalize olmuş ovaryum-belirleyen bir genin varlığını varsaymaktadır. Ancak, uygun bir ovaryum-belirleyen aday gen tanımlanamamıştır (44-45). Önerilen ikinci mekanizma, primer cinsiyet tespitinin Z kromozoma lokalize olmuş bir gene bağlı olmasıdır. Yapılan çalışmalar, doublesex ve mab-3 ile ilişkili transkripsiyon faktörü 1 (DMRT1) geninin böyle bir mekanizma için en olası aday olduğunu ortaya koymuştur (46).

DMRT1 Z kromozomu üzerinde bulunur, ancak W kromozomunda homoloğu yoktur; bu nedenle cinsiyetler arasında bir dozaj farkı mevcuttur. DMRT1 seksüel olarak dimorfik ekspresyon sergileyen bir transkripsiyon faktörünü kodlar ve gonadal gelişimin ilk aşamalarında her iki cinsiyetin gonadlarında ve müllerian kanalda eksprese edilir, ancak erkek gonadında dişi gonaddan daha yüksek oranda eksprese edilir (47). Gelişmekte olan civciv gonadındaki DMRT1 düzeyinin RNAi ve RCAS viral vektörü kullanılarak manipüle edilmesi ile, DMRT1'in fazla ekspresyonunun genetik olarak dişi (ZW) gonadın maskülenleşmesine ve DMRT1 ekspresyonunun azaltılmasının genetik olarak erkek (ZZ) gonadın feminenleşmesine neden olduğu gösterilmiştir (48). Son yıllarda yapılan bir çalışmada da, ZZ kromozomu PGH'lerinde DMRT1'in tek bir kopyasını devre dışı bırakmak için CRISPR/Cas9 yaklaşımı kullanılmıştır (49). Bu PGH'ler, endojen primordiyal germ hücrelerinin yok edildiği konakçı tavuk embriyolarına enjekte edilmiştir. Konakçı civcivler yumurtadan çıkıp cinsel olgunluğa eriştiklerinde yabanıl-tip dişi kuşlarla eşleştirilmişlerdir. Fonksiyonel DMRT1 geni bakımından heterozigot olan erkek kuşlar ve fonksiyonel DMRT1 geni olmayan dişi kuşlar üretmişlerdir. DMRT1'in sadece tek bir fonksiyonel kopyasına sahip genetik olarak erkek (ZZ) kuşlar ovaryum geliştirmeyi başarmıştır (49).

DMRT1'in aynı zamanda biri sıcaklık cinsiyet tespiti (50), diğeri genetik cinsiyet tespiti (51) olan iki farklı kaplumbağa türünde erkek gelişimini indüklemek için hem gerekli hem de yeterli olduğu gösterilmiştir. Genetik olarak dişi (ZW) civciv embriyolarında ise DMRT1'in fazla ekspresyonunun, gonadlar üzerinde ters etkiye sahip olduğu ve erkek gelişim yolağını indüklediği görülmüştür. Bu civcivlerin medullar hücrelerinde seminifer tübül gibi yapıların oluştuğu ve erkek benzeri gonad morfolojisi sergilediği görülmüştür (52). Bütün bu çalışmalar erkek (ZZ) civcivlerin gonadlarında Z kromozomda bulunan DMRT1'in daha yüksek ekspresyonunun, testis oluşumu ile sonuçlanan moleküler bir kaskadı tetikleyerek ana gonadal cinsiyet belirleyicisi olarak hareket ettiğini göstermektedir.

5.1.2 SRY-Box Transkripsiyon Faktörü 9 (SOX9)

Omurgalı embriyolarında seksüel olarak korunmuş dimorfik ekspresyon paternine sahip olduğu bulunan ilk gen SOX9'dur. Bu gen, SRY'yi içeren SOX transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesini kodlar. SOX9, DMRT1'in aşağı yön yolağında yer alır ve tüm omurgalı türlerinin gelişmekte olan testislerinde eksprese edilir (53).

SOX9 erkek gonadlarda farklılaşan ilk hücre tipi olan medullar kordonların sertoli hücrelere farklılaşmasını kontrol eder (54). Sertoli hücre oluşumu, testis farklılaşmasına neden olan hücresel olayların kaskadını harekete geçirir. SOX9 protein ekspresyonu E5.5'te zayıftır, ancak E6.5 itibarıyla erkek tavuk gonadının medullasındaki pre-sertoli hücrelerinin nükleuslarında kolayca tespit edilmiştir. DMRT1 ekspresyonu (E4.5) ve detekte edilebilir SOX9 piki (E6.5) arasındaki zaman gecikmesi nedeniyle, DMRT1'in dolaylı olarak SOX9 ekspresyonunu aktive ettiği düşünülmektedir (55).

5.1.3 Anti-Müllerian Hormon (AMH)

Anti-müllerian hormon (AMH) ekspresyonu, E6.5'ta erkek gonad sertoli hücrelerinde upregüle edilir. Memelilerde embriyonik gelişim sırasında AMH'nin erkek gonadlarındaki rolü, müllerian kanallarının regresyonunu sağlamaktır. AMH ekspresyonu sertoli hücre gelişimi sırasında kısmen SOX9 geni tarafından kontrol edilir (56). Bununla birlikte, tavuklarda AMH mRNA'sı SOX9 geninin eksprese edilmesinden önce, E4.5'te, tespit edilebilir ve aynı zamanda embriyonik gelişim sırasında sadece erkek gonadlarda bulunan memelilerin aksine, her iki cinsiyetin gonadlarında da eksprese edilir (57). AMH'ın, bazıları müllerian kanallarından yoksun olan çeşitli balık türlerinde

testis gelişimi için gerekli olduğu bildirilmiştir. Bu durum AMH'nin diğer omurgalı türlerinde müllerian kanal regresyonuna ek olarak gonadal gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (58).

RNAi kullanılarak tavuk embriyolarında AMH'nin etkisinin azaltılmasının, ovaryum veya testis gelişim yolağını değiştirmediği, ancak bu dokuların hücrelerinde proliferasyon kaybına (mezonefros ve gonadların boyutunda azalma) neden olduğu ortaya koyulmuştur (59). AMH'nin fazla miktarda eksprese edilmesinin her iki cinsiyetin gonadları üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (60). Dişi gonadlar testis benzeri kordon morfolojisi geliştirmiştir, ancak erkek benzerleri gibi sertoli hücreleri ve steroidogenez kapasitesinden yoksun oldukları görülmüştür (60). Bu kümülatif sonuçlar birlikte ele alındığında, AMH'nin tavuktaki gonadal gelişim için önemli olmakla birlikte, tavuk testis gelişiminde belirleyici bir rolü olmadığını, ancak steroid üretimi dahil olmak üzere aşağı yönlü yolaktaki olayları etkileyebileceğini göstermektedir.

5.1.4 Hemojen (HEMGN)

Tavuklarda Z kromozomu üzerinde bulunan hemojen (HEMGN) geni, testis farklılaşmasında rol oynar. HEMGN, memelilerde hematopoez ile ilişkisi nedeniyle bu şekilde adlandırılmıştır. HEMGN, E5.5'ten E8.5'e kadar gelişen testislerin sertoli hücre gruplarında yüksek miktarlarda eksprese edilir ve daha sonra önemli ölçüde azalır (61). HEMGN'nin dişilerde fazla eksprese edilmesi DMRT1 miktarının artmasına, FOXL2 miktarının azalmasına ve fadrozol-indüklü ovaryumların testise dönmesine neden olur. HEMGN ekspresyonu DMRT1 ekspresyonunun tespit edilmesinden geç, ancak SOX9 ekspresyonunun tespit edilmesinden önce başlar.

Genetik olarak dişi (ZW) embriyolarda RCAS viral vektörü kullanılarak HEMGN'nin fazla eksprese edilmesi ile, gonadın erkek benzeri morfoloji gösterdiği ve erkek markır genlerinin (SOX9 ve DMRT1) aktive edildiği, ancak dişi-ilişkili genler olan CYP19A1 ve FOXL2'nin ifadesinin yok olduğu ortaya konmuştur (61). Fakat diğer kuş türlerinde HEMGN'nin erkeğe spesifik ekspresyonuna rastlanmamıştır (44).

5.2 Dişi Gonad Farklılaşmasının Altında Yatan Moleküler Mekanizmalar

5.2.1 Forkhead box protein L2 (FOXL2)

Forkhead box transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesi olan FOXL2'nin, balık, kuş ve memeliler dahil olmak üzere birçok türde dişi cinsiyetini belirleyen

bir gen olduğu gösterilmiştir (62). Tavuklarda FOXL2 aktivasyonunun östrojen sentezine ve ovaryum korteksinin farklılaşmasına yol açması mümkündür. Tavuklarda FOXL2 ekspresyonunun başlangıcı aromataz ekspresyonundan hemen önce E5.7 civarındadır ve E6'da ilk ovaryum farklılaşması belirtileri görülmektedir (63). Dahası, FOXL2, dişi gonadların medullalarındaki hücrelerde aromataz (CYP19A) ekspresyonu ile birlikte lokalize bulunmuştur (64). Bu nedenle, FOXL2'nin tavuklarda dişi gonadların farklılaşması sırasında aromataz transkripsiyonunu indüklediği düşünülmektedir (65).

Aromataz inhibitörleri dişi gonadlarda FOXL2 seviyesinde azalmaya neden olur, bu da bu iki gen arasında bir geri besleme döngüsünün olduğunu gösterir (66). Fakat bu genler arasındaki etkileşimin altında yatan kesin mekanizma açıklanmaya devam etmektedir. Fare embriyonik gonadlarında da, FOXL2 ekspresyonu dişiye özgüdür ve gonadal cinsiyet farklılaşmasından kısa bir süre sonra tespit edilebilir (67). Gelişimin ilerleyen evrelerinde ise, FOXL2 ekspresyonu teka ve granüloza hücrelerinde ve onların öncüllerinde bulunmuştur.

5.2.2 Aromataz (CYP19A1)

Aromataz proteini sadece E6'da dişi gonadlarda tespit edilir ve gonad farklılaşması sırasında ekspresyonu artar (68). Aromataz, gelişmekte olan dişi (ZW) gonada östrojen üretiminden sorumludur. Östrojen, ovaryum gelişimi ve olgun bir dişi kuşta sekonder seksüel özelliklerin elde edilmesi için mutlak bir gerekliliktir (69). Östrojen sentezinde aromatazın önemini ortaya koyulması amacıyla fadrozol gibi aromataz inhibitörleri dişilere (ZW) seksüel farklılaşmadan önce ya da seksüel farklılaşma sırasında uygulanmış ve cinsiyetin dişiden erkeğe döndüğü görülmüştür (66).

5.2.3 R-Spondin 1 (RSPO1)

R-spondin 1 (RSPO1), büyüme faktörleri ailesinin bir üyesidir. RSPO1, WNT4 ile birlikte WNT sinyal yolağının bileşeni olarak görev yapar ve β -katenin aktivasyonunu indükler. RSPO1 mutasyonları, bu genin memeli ovaryum farklılaşmasında önemli bir role sahip olduğunu göstermiştir (70), ancak kesin mekanizma henüz aydınlatılamamıştır.

Tavuklarda RSPO1, E6.5'te her iki cinsiyetin gonadal medullasında zayıf bir şekilde eksprese edilse de, E12.5 (33) itibarıyla sol ovaryum korteksiyle sınırlı hale gelir. Ayrıca WNT4, β -katenin ile birlikte E6.5 ve E12.5'te gelişmekte olan ovaryum korteksinde eksprese edilir. Bu nedenle RSPO1 yolağının, bu

hücrelerde bulunan β -katenin'i aktive etmek için WNT4 ile etkileşime girdiğini ve ovaryum korteksinin proliferasyonunun düzenlenmesinde rol oynadığını öngörmektedir.

Farelerde RSPO1 kaybı, WNT4/ β -katenin sinyalinin olmaması nedeniyle dişi gonadların erkek benzeri vaskülarizasyon ve steroidogenez oluşturarak maskülenleşmesine neden olur (71).

5.2.4 *Wnt Family Member 4 (WNT4)*

Memelilerde, kanonik WNT4/ β -katenin sinyal yolağının ovaryum gelişiminin önemli bir düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (72). Tavuklarda WNT4, E4.5'te her iki cinsiyetin bipotansiyel gonadlarında eksprese edilir. Seksüel farklılaşma sırasında (E6.5-E8.5 civarı) ekspresyon erkek gonaddan kaybolur ve dişi gonadın aktif sol ovaryumu ile sınırlı hale gelir (73). Farelerde de WNT4 gonadda başlangıçta her iki cinsiyette eksprese edilir, ancak gelişimin ilerleyen aşamalarında dişi gonadla sınırlı hale gelir (74). Farelerde WNT4 kaybı, müllerian kanalın yok olmasına ve testosteron sentez yolağının ektopik aktivasyonuna neden olarak dişi gonadları kısmi olarak maskülenleştirir (74). Benzer şekilde, dişi gonadlarda β -katenin kaybı, testis-spesifik çöloomik damar ve androjen eksprese eden hücrelerin oluşumuna ve dişi germ hücrelerinin yok olmasına neden olarak ovaryumları maskülenleştirir (75).

İnsanlarda WNT4 genindeki mutasyonlar, bu yolağın ovaryum gelişimindeki önemini gösterecek şekilde dişi cinsiyetinin çeşitli derecelerde erkek cinsiyetine döndürülmesine neden olur (76).

5.2.5 *Kalpain-5 (CAPN5)*

Kalpain-5 (CAPN5) geninin E6'da dişi embriyo gonadlarında eksprese edildiği gösterilmiştir. CAPN5 dişi gonadların juxta-kortikal medullasına lokalize edilmiştir (77). CAPN5, *C. elegans*'ların cinsiyet belirleme geni olan tra-3 ile homolog olup, hücre içi kalsiyum-bağlı bir sistein proteaz olarak görev yapar (78).

CAPN5 polimorfizmleri kadınlarda polikistik ovaryum sendromu ile ilişkilidir, bu da CAPN5'in ovaryum gelişiminde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (79). Bununla birlikte, CAPN5 bakımından null farelerin normal fertiliteye sahip olduğu görülmektedir, ancak gonadal gelişim ayrıntılı olarak incelenmemiştir (80).

5.2.6 G-Protein Bağlı Reseptör 56 (GPR56)

G-protein bağlı reseptör 56 (GPR56) ya da adezyon G-protein bağlı reseptör G1 (ADGRG1) E6'daki dişi gonadlarda güçlü bir şekilde eksprese edilir. GPR56, dişi gonadların korteksi içindeki hücrelere lokalize edilirken, erkek gonadların korteksi içindeki hücrelere lokalize edilmez (77).

GPR56 bakımından null erkek farelerin testis farklılaşması esnasında, bazal membran proteinlerinin kaybı nedeniyle seminifer tübüllerin yapısı bozulur ve fertilité azalır (81). Tavuklarda GPR56'nın ekspresyonu gonadal farklılaşmanın ilerleyen aşamalarında incelenmemiştir. Bu nedenle, GPR56'nın tavuklarda gonadal gelişimde korunmuş bir rolü olup olmadığı ve bu genin gonadın farklı gelişim aşamalarında farklılaşmasını nasıl düzenleyebileceği henüz açık değildir.

6. Sonuç

Tavuk embriyosunun deneysel manipülasyon bakımından erişilebilirliği omurgalı cinsiyet tespitini incelemek için mükemmel bir model olmasını sağlar. Tavuklarda gonadların farklılaşması, erkekte fazla miktarda eksprese edilen DMRT1, SOX9, AMH ve HEMGN sinyal yolakları, dişi-spesifik FOXL2, CYP19A1, RSPO1, WNT4, CAPN5 ve GPR56 yolakları ve aşağı yöndeki sinyal yolaklarının ekspresyonunu ve aktivitesini kontrol eden ana moleküler yolağın kontrolü altındadır. Tavuk çalışmalarından elde edilen önemli bir bulgu moleküler seviyedeki cinsel dimorfizmin morfolojik düzeyde cinsel dimorfizmden önce ortaya çıkabilmesidir. Örneğin, DMRT1 geni gonadal cinsiyet farklılaşmasının histolojik başlangıcı olan embriyonik gelişimin 6. gününden önce, embriyonik gelişimin 3.5 gününde dimorfik ekspresyon gösterir. Yakın zamana kadar, tavuklarda cinsiyet kromozomlarının rolü, sinyal yolakları ve hücre otonom mekanizma üzerine yapılan çalışmalar, belirli genlerin aktivitesini bloke etmek için ekspresyon analizine veya ilaçlarla yapılan çalışmalara dayanmakta idi. Tavuklarda genetik manipülasyon tekniklerinin ilerlemesi ile, aday genlerin fonksiyon analizine izin verilmektedir. Bu zamana kadar yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin entegrasyonu, transkriptom ve epigenom analizlerinden elde edilen verilerle bir araya getirildiğinde cinsiyet tespiti ve gonadal farklılaşmada yer alan temel düzenleyici genler hakkındaki anlayışı daha da ileriye taşıyacaktır.

Kaynaklar

1. Doran TJ, Cooper CA, Jenkins KA, Tizard ML. Advances in genetic engineering of the avian genome: “Realising the promise”. *Transgenic Res.* 2016;25:307-319.

2. Doran TJ, Morris KR, Wise TG, ve ark. Sex selection in layer chickens. *Animal Prod. Sci.* 2017;58:476-480.

3. Ginsburg M, Eyal-Giladi H. Primordial germ cells of the young chick blastoderm originate from the central zone of the area pellucida irrespective of the embryo-forming process. *Development.* 1987;101:209-219.

4. Tsunekawa N, Naito M, Sakai Y, Nishida T, Noce T. Isolation of chicken vasa homolog gene and tracing the origin of primordial germ cells. *Development.* 2000;127(12):2741-50.

5. Lee HC, Choi HJ, Lee HG, Lim JM, Ono T, Han JY. DAZL expression explains origin and central formation of primordial germ cells in chickens. *Stem Cells Dev.* 2016;25(1):68-79.

6. Guioli S, Nandi S, Zhao D, Burgess-Shannon J, Lovell-Badge R, Clinton M. Gonadal asymmetry and sex determination in birds. *Sex Dev.* 2014;8(5):227-42.

7. Piprek RP, Kloc M, Kubiak JZ. Early Development of the gonads: Origin and differentiation of the somatic cells of the genital ridges. In *molecular mechanisms of cell differentiation in gonad development*, (ed. Piprek RP.). Springer International Publishing, Cham; 2016:1-22.

8. Viger RS, Mertineit C, Trasler JM, Nemer M. Transcription factor GATA-4 is expressed in a sexually dimorphic pattern during mouse gonadal development and is a potent activator of the Mullerian inhibiting substance promoter. *Development.* 1998;125:2665-2675.

9. Smith OE, Morin F, Roussel V, Bertucci MC, Boyer A, Murphy BD. The role of steroidogenic factor 1 (SF-1) in steroidogenic cell function of the testes and ovaries of mature mice. *Reproduction.* 2023;165(1),1-17.

10. Hu YC, Okumura LM, Page DC. Gata4 is required for formation of the genital ridge in mice. *PLoS Genet* 9. 2013;e1003629.

11. Oreal E, Mazaud S, Picard JY, Magre S, Carre-Eusebe D. Different patterns of anti-mullerian hormone expression, as related to DMRT1, SF-1, WT1, GATA-4, Wnt-4, and Lhx9 expression, in the chick differentiating gonads. *Dev Dyn.* 2002;225:221-232.

12. Major AT, Smith CA. Sex reversal in birds. *Sex Dev.* 2016;10(5-6):288-300.

13. Guioli S, Lovell-Badge R. PITX2 controls asymmetric gonadal development in both sexes of the chick and can rescue the degeneration of the right ovary. *Development*. 2007;134:4199-4208.
14. Ishimaru Y, Komatsu T, Kasahara M, ve ark. Mechanism of asymmetric ovarian development in chick embryos. *Development*. 2008;135: 677-685.
15. Rodriguez-Leon J, Rodriguez Esteban C, Marti M, ve ark. Pitx2 regulates gonad morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:11242-11247.
16. De Melo Bernardo A, Heeren AM, Van Iperen L, ve ark. Meiotic wave adds extra asymmetry to the development of female chicken gonads. *Mol Reprod Dev*. 2015;82:774-786.
17. Carlon N, Stahl A. Origin of the somatic components in chick embryonic gonads. *Arch Anat Microsc Morphol Exp*. 1985;74:52-59.
18. Smith CA, Andrews JE, Sinclair AH. Gonadal sex differentiation in chicken embryos: expression of estrogen receptor and aromatase genes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1997;60: 295-302.
19. Shimada K. Gene expression of steroidogenic enzymes in chicken embryonic gonads. *J Exp Zool*. 1998;281(5):450-6.
20. Graves JA. Evolution of vertebrate sex chromosomes and dosage compensation. *Nat Rev Genet*. 2016;17:33-46.
21. Warren WC, Hillier LW, Tomlinson C, ve ark. A new chicken genome assembly provides insight into avian genome structure. *G3: Genes, Genomes, Genetics*. 2017;7:109-117.
22. Marshall Graves JA, Shetty S. Sex from W to Z: evolution of vertebrate sex chromosomes and sex determining genes. *J Exp Zool*. 2001; 290(5):449-62.
23. Schmid M, Smith J, Burt DW, ve ark. Third report on chicken genes and chromosomes 2015. *Cytogenet Genome Res*. 2015;145:78-179.
24. Bellott DW, Skaletsky H, Cho TJ, ve ark. Avian W and mammalian Y chromosomes convergently retained dosage-sensitive regulators. *Nat Genet*. 2017;49: 387-394.
25. Jamieson BG. (Ed.). *Reproductive biology and phylogeny of birds, Part B: Sexual selection, behavior, conservation, embryology and genetics*. USA:CRC Press; 2007:480.
26. Arnold AP. The end of gonad-centric sex determination in mammals. *Trends Genet*. 2012;28: 55-61.
27. Arnold AP, Chen X, Link JC, Itoh Y, Reue K. Cell-autonomous sex determination outside of the gonad. *Dev Dyn*. 2013;242:371-379.

28. Ayers KL, Davidson NM, Demiyah D, ve ark. RNA sequencing reveals sexually dimorphic gene expression before gonadal differentiation in chicken and allows comprehensive annotation of the W-chromosome. *Genome Biol.* 2013a;14:R26.

29. Maekawa F, Sakurai M, Yamashita Y, ve ark. A genetically female brain is required for a regular reproductive cycle in chicken brain chimeras. *Nat Commun.* 2013;4:1372.

30. Lambeth LS, Morris KR, Wise TG, ve ark. Transgenic chickens overexpressing aromatase have high estrogen levels but maintain a predominantly male phenotype. *Endocrinology.* 2016b;157:83-90.

31. Naurin S, Hasselquist D, Bensch S, Hansson B. Sex-biased gene expression on the avian Z chromosome: highly expressed genes show higher male-biased expression. *PloS one.* 2012;7: e46854.

32. Wang Q, Mank JE, Li J, Yang N, Qu L. Allele-specific expression analysis does not support sex chromosome inactivation on the chicken Z chromosome. *Genome Biol Evol.* 2017;9:619-626.

33. Ayers KL, Sinclair AH, Smith CA. The molecular genetics of ovarian differentiation in the avian model. *Sex Dev.* 2013b;7:80-94.

34. Wright AE, Moghadam HK, Mank JE. Trade-off between selection for dosage compensation and masculinization on the avian Z chromosome. *Genetics.* 2012;192:1433-1445.

35. Zimmer F, Harrison PW, Dessimoz C, Mank JE. Compensation of dosage-sensitive genes on the chicken Z chromosome. *Genome Biol Evol.* 2016;8:1233-1242.

36. Ellegren H, Hultin-Rosenberg L, Brunstrom B, Dencker L, Kultima K, Scholz B. Faced with inequality: chicken do not have a general dosage compensation of sex-linked genes. *BMC Biol.* 2007;5:40.

37. Teranishi M, Shimada Y, Hori T, ve ark. Transcripts of the MHM region on the chicken Z chromosome accumulate as non-coding RNA in the nucleus of female cells adjacent to the DMRT1 locus. *Chromosome Res.* 2001;9:147-165.

38. Wright AE, Zimmer F, Harrison PW, Mank JE. Conservation of regional variation in sex-specific sex chromosome regulation. *Genetics.* 2015;201:587-598.

39. Briggs SF, Reijo Pera RA. X chromosome inactivation: recent advances and a look forward. *Curr Opin Genet Dev.* 2014;28:78-82.

40. Roeszler KN, Itman C, Sinclair AH, Smith CA. The long non-coding RNA, MHM, plays a role in chicken embryonic development, including gonadogenesis. *Dev. Biol.* 2012;366:317-326.

41. Woodcock ME, Idoko-Akoh A, McGrew MJ. Gene editing in birds takes flight. *Mamm Genome*. 2017;28:315-323.
42. Smith CA, Sinclair AH. Sex determination: insights from the chicken. *Bioessays*. 2004;26(2):120-32.
43. Kuroiwa A. Sex-determining mechanism in avians. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1001:19-31.
44. Hirst CE, Major AT, Ayers KL, ve ark. Sex reversal and comparative data undermine the W chromosome and support Z-linked DMRT1 as the regulator of gonadal sex differentiation in birds. *Endocrinology*. 2017;158(9):2970-87.
45. Liu L, Fan Y, Zhao D, Ioannidis J, Gong D, Clinton M. Expression profile of chicken sex chromosome gene BTF3 is linked to gonadal phenotype. *Sex Dev*. 2019;13(4):212-20.
46. Smith CA, McClive PJ, Western PS, Reed KJ, Sinclair AH. Conservation of a sex- determining gene. *Nature*. 1999;402(6762):601-2.
47. Hirst CE, Major AT, Smith CA. Sex determination and gonadal sex differentiation in the chicken model. *Int J Dev Biol*. 2018;62(1-3):153-66.
48. Cooper CA, Challagulla A, Jenkins KA, ve ark. Generation of gene edited birds in one generation using sperm transfection assisted gene editing (STAGE). *Transgenic Res*. 2017;26(3):331-47.
49. Ioannidis J, Taylor G, Zhao D, ve ark. Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021;118(10):e2020909118.
50. Ge C, Ye J, Zhang H, ve ark. Dmrt1 induces the male pathway in a turtle species with temperature- dependent sex determination. *Development*. 2017;144:2222-2233.
51. Sun W, Cai H, Zhang G, ve ark. Dmrt1 is required for primary male sexual differentiation in Chinese soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*. *Sci Rep*. 2017;7:4433.
52. Lambeth LS., Raymond CS, Roeszler KN, ve ark. Over-expression of DMRT1 induces the male pathway in embryonic chicken gonads. *Dev. Biol*. 2014;389:160-72.
53. Cutting A, Chue J, Smith CA. Just how conserved is vertebrate sex determination? *Dev Dyn*. 2013;242:380-387.
54. Vidal VP, Chaboissier MC, De Rooij DG, Schedl A. Sox9 induces testis development in XX transgenic mice. *Nat Genet*. 2001;28:216-217.
55. Chue J, Smith CA. Sex determination and sexual differentiation in the avian model. *FEBS J*. 2011;278:1027-1034.

56. Arango NA, Lovell-Badge R, Behringer RR. Targeted mutagenesis of the endogenous mouse *Mis* gene promoter: in vivo definition of genetic pathways of vertebrate sexual development. *Cell*. 1999;99: 409-419.

57. Oreal E, Pieau C, Mattei MG, ve ark. Early expression of AMH in chicken embryonic gonads precedes testicular SOX9 expression. *Dev Dyn*. 1998;212: 522-532.

58. Nakamura S, Watakabe I, Nishimura T, ve ark. Hyperproliferation of mitotically active germ cells due to defective anti-mullerian hormone signaling mediates sex reversal in medaka. *Development*. 2012;139: 2283-2287.

59. Lambeth LS, Ayers K, Cutting AD, Doran TJ, Sinclair AH, Smith CA. Anti-mullerian hormone is required for chicken embryonic urogenital system growth but not sexual differentiation. *Biol. Reprod*. 2015;93:138.

60. Lambeth LS, Morris K, Ayers KL, ve ark. Overexpression of Anti-mullerian hormone disrupts gonadal sex differentiation, blocks sex hormone synthesis, and supports cell autonomous sex development in the chicken. *Endocrinology*. 2016a;157:1258-1275.

61. Nakata T, Ishiguro M, Aduma N, Izumi H, Kuroiwa A. Chicken homogen homolog is involved in the chicken-specific sex-determining mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:3417-3422.

62. Wang D, Kobayashi T, Zhou L, Nagahama Y. Molecular cloning and gene expression of *Foxl2* in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004;320: 83-89.

63. Major AT, Ayers KL, Chue J, Roeszler KN, Smith CA. *FOXL2* antagonises the male developmental pathway in embryonic chicken gonads. *J Endocrinol*. 2019;243(3):211-28.

64. Govoroun MS, Pannetier M, Pailhoux E. Isolation of chicken homolog of the *FOXL2* gene and comparison of its expression patterns with those of aromatase during ovarian development. *Dev Dyn*. 2004;231(4):859-70.

65. Fleming NI, Knowler KC, Lazarus KA, Fuller PJ, Simpson ER, Clyne CD. Aromatase is a direct target of *FOXL2*: C134W in granulosa cell tumors via a single highly conserved binding site in the ovarian specific promoter. *PLoS One*. 2010;5(12):e14389.

66. Hudson QJ, Smith CA, Sinclair AH. Aromatase inhibition reduces expression of *FOXL2* in the embryonic chicken ovary. *Dev Dyn*. 2005;233(3):1052-5.

67. Wilhelm D, Washburn LL, Truong V, Fellous M, Eicher EM, Koopman P. Antagonism of the testis- and ovary-determining pathways during ovotestis development in mice. *Mech Dev*. 2009;126(5-6):324-36.

68. Smith CA, McClive PJ, Hudson Q, Sinclair AH. Male-specific cell migration into the developing gonad is a conserved process involving PDGF signalling. *Dev. Biol.* 2005;284: 337-350.
69. Vaillant S, Dorizzi M, Pieau C, Richard-Mercier, N. Sex reversal and aromatase in chicken. *J Exp Zool.* 2001;290: 727-740.
70. Chassot AA, Gillot I, Chaboissier MC. R-spondin1, WNT4, and the CTNNB1 signaling pathway: strict control over ovarian differentiation. *Reproduction.* 2014;148(6):R97-110.
71. Chassot AA, Ranc F, Gregoire EP, ve ark. Activation of beta-catenin signaling by Rspo1 controls differentiation of the mammalian ovary. *Hum Mol Genet.* 2008;17:1264-1277.
72. Liu CF, Liu C, Yao HH. Building pathways for ovary organogenesis in the mouse embryo. *Curr Top Dev Biol.* 2010;90:263-290.
73. Smith CA, Shoemaker CM, Roeszler KN, Queen J, Crews D, Sinclair AH. Cloning and expression of R-Spondin1 in different vertebrates suggests a conserved role in ovarian development. *BMC Dev Biol.* 2008;8:72.
74. Vainio S, Heikkila M, Kispert A, Chin N, McMahan, AP. Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature.* 1999;397:405-409.
75. Liu CF, Bingham N, Parker K, Yao HH. Sex-specific roles of beta-catenin in mouse gonadal development. *Hum Mol Genet.* 2009;18:405-417.
76. Mandel H, Shemer R, Borochowitz ZU, ve ark. SERKAL syndrome: an autosomal-recessive disorder caused by a loss-of-function mutation in WNT4. *Am J Hum Genet.* 2008;82:39-47.
77. Ayers KL, Lambeth LS, Davidson NM, Sinclair AH, Oshlack A, Smith CA. Identification of candidate gonadal sex differentiation genes in the chicken embryo using RNA-seq. *BMC Genomics.* 2015;16:704.
78. Mugita N, Kimura Y, Ogawa M, Saya H, Nakao M. Identification of a novel, tissue-specific calpain htra-3; a human homologue of the *Caenorhabditis elegans* sex determination gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;239: 845-850.
79. Gonzalez A, Saez ME, Aragon MJ, ve ark. Specific haplotypes of the CALPAIN-5 gene are associated with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2006;21:943-951.
80. Franz T, Winckler L, Boehm T, Dear TN. Capn5 is expressed in a subset of T cells and is dispensable for development. *Mol Cell Biol.* 2004;24:1649-1654.
81. Chen G, Yang L, Begum S, Xu L. GPR56 is essential for testis development and male fertility in mice. *Dev Dyn.* 2010;239:3358-3367.

BÖLÜM XI

VETERİNER HEKİMLİKTE OLİGOSAKKARİTLERİN KULLANIMI

Use of Oligosaccharides in Veterinary Medicine

Pınar PORTAKAL

*Çankırı Karatekin Üniversitesi Gıda ve Tarım Meslek Yüksek Okulu,
Çankırı, Türkiye*

E-mail: pinarportakal@karatekin.edu.tr

ORCID: 0000-0002-5994-5872

1. Giriş

Türkiye'nin hızla artan nüfusu ve beslenme ihtiyaçları, hayvancılık sektörünün ülke ekonomisi ile insanların sağlıklı beslenme ihtiyaçları üzerindeki önemini artırmaktadır. Hayvancılık sektörü, gıda üretim kapasitesine ve ülke ekonomisinin büyümesine katkı sağlarken aynı zamanda istihdam yaratma ve sürdürülebilir kalkınma açısından da önemlidir. Özellikle et ve süt ürünleri üretimi, hayvan yetiştiriciliği, yem üretimi, deri, giyim, ayakkabı, aksesuar gibi birçok endüstri alanında önemli yere sahip iken koyun yünü, yün elyafı tekstil sektöründe kullanılmaktadır. İlaç ve kozmetik sektörleri için de bazı hammaddelerin kaynağıdır (1). Ayrıca hayvan refahını sağlamak, hayvan sağlığını korumak, hastalıkları önlemek ve dolayısıyla insan sağlığının korunması için veteriner hizmetleri sektörünün de gelişmesini sağlar. Türkiye'nin coğrafik konumu, doğal kaynakları ve iklim özellikleri dikkate alındığında tarımsal üretimde hayvancılık için oldukça elverişlidir. (2)

Hayvancılık sektöründe, hayvanların yemden yararlanmalarını düzenlemek, verimlerini arttırmak, sindirim sisteminde mikrobiyal gelişimi sağlamak ve patojen mikroorganizmaları kontrol altına almak için yem katkı maddeleri kullanılmaktadır. Geçmiş zamanlarda en yaygın kullanılan yem katkı maddelerinden biri de antibiyotiklerdi (3, 4). Ancak yapılan çalışmalar sonucunda hayvan yemlerinde antibiyotik kullanılması, dirençli bakterileri

oluşmasına sebep olduğu ve gıda zinciri aracılığıyla insan sağlığı için risk oluşturacağından 2002 yılında Avrupa Birliği'nin almış olduğu kararla hayvan beslenmesinde kullanılan yem katkı maddesine antibiyotiklerin katılması 2006 yılından itibaren yasaklanmıştır (5). Bu nedenle antibiyotiklere alternatif olabilecek yem katkı maddelerine yönelik çalışmalar artmıştır. Alternatif yem katkı maddeleri olarak, canlı probiyotik bakteriler veya prebiyotikler, bitkisel ekstraktlar, aromatik maddeler, enzimler, organik asitler gibi birçok madde kullanılmaktadır. (6)

Bu bölümde prebiyotik özellikte bir karbonhidrat bileşiği olan oligosakkaritlerin veteriner hekimlikteki bazı kullanım alanları hakkında bilgiler verilmesi amaçlanmıştır.

2. Oligosakkaritler

Prebiyotik özelliğe sahip oligosakkaritler bağırsaklarda yaşayan yararlı mikroorganizmaların sayılarını ve aktivitelerini arttırırken, patojen mikroorganizmaların ise çoğalmalarını engeller (7). Bu bileşenler sindirim sisteminde yarı sindirilmiş veya emilmiş olmadan kalır ve kalın bağırsakta yararlı mikroorganizmaların beslenmesini teşvik eder. Bu yararlı mikroorganizmalar genellikle *Laktobasiller* ve *Bifidobakteriler* gibi probiyotiklerdir. Prebiyotiklerin mide asidine dayanıklı olmaları, sindirim enzimleri tarafından parçalanmamaları ve üst bağırsaklarda emilmemeleri, kalın bağırsakta yararlı bakterilerin beslenmesini sağlayabilmeleri açısından önemlidir. Bağırsaklarda yaşayan bu yararlı mikroorganizmaların sayılarını artırarak bağırsak florasının dengesini sağlamak ve bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler sağlamak prebiyotiklerin ana işlevlerindedir (8). *Laktobasiller* ve *Bifidobakteriler* gibi yararlı bakterilerin popülasyonlarını artırma, bağışıklık sistemini uyararak tümör gelişimini engelleme ve enfeksiyonları önleme gibi etkiler prebiyotiklerin sağladığı faydalardan bazılarıdır. Bu tür mikroorganizmaların artışı, bağırsak mikrobiyotasının dengelemesine ve sindirim sistemi sağlığının iyileştirilmesine yardımcı olabilir. (9, 10)

Karbonhidratların önemli bir bölümünü temsil eden oligosakkaritler glikozit bağlarla bağlı 2 ila 10 monosakkarit içeren karbonhidrat molekülleridir (11). Bu moleküller çoğunlukla ince bağırsakta sindirilmeden kalın bağırsağa geçerler ve burada mikrobiyal fermantasyona uğrarlar. Oligosakkaritler, çeşitli besin kaynaklarında doğal olarak bulunabilir. Bu kaynaklardan bazıları Tablo 1' de verilmiştir. (12)

Tablo 1. Oligosakkaritlerin doğal olarak bulunduğu besin kaynakları (12)

Meyveler	Yerelması, muz
Sebzeler	Hindiba, pırasa, enginar, soğan, sarımsak, kuşkonmaz, domates
Tahıllar	Arpa, buğday
Baklagiller	Fasulye, mercimek gibi kurubaklagiller
Diğer	Süt, bal, tane yemlerdir

2.1. Oligosakkarit Türleri

Oligosakkaritler monosakkaritlerden veya disakkaritlerden sentezlenerek ya da polisakkaritlerin enzimatik hidrolizi ile ticari olarak üretilebilirler.

a. Fruktooligosakkaritler (FOS): Fruktozun birkaç monosakkarit ünitesinin bir araya gelmesiyle oluşan oligosakkaritlerdir. Bağırsakta faydalı bakterilerin büyümesini teşvik ederek sindirim sağlığını destekledikleri düşünülmektedir. (7)

b. Galaktooligosakkaritler (GOS): Galaktozun monosakkarit ünitelerinin birleşmesiyle oluşan oligosakkaritlerdir. Bağırsak mikrobiyotasının dengesini korumaya yardımcı olabilirler. Laktoz intoleransı olan insanlarda laktozu fermente eden bakterilerin gelişiminde rol oynayarak miktarının azalmasına sebep olmaktadır. (13)

c. Ksilooligosakkarit (KOS): Ksilozaya dayanan oligosakkaritlerdir. Bitkilerde bulunan ksilozaya benzer şekilde yapılanmıştır. Sindirim sisteminde faydalı bakterilerin çoğalmasına yardımcı olurken, patojen bakteriler (*Escherichia coli* ve *Colstridium türleri*) tarafından kullanılmamaktadır. (14)

d. Laktuloz (LAK): Laktuloz bir disakkarit olup, laktik asit ve fruktozun birleşmesiyle oluşur. Sindirim sağlığını desteklemek için kullanılır. Laksatif etkilidir. (15)

e. İnülin (INU): Bitkilerde bulunan bir çeşit polisakkarittir. Bağırsak mikrobiyotasını beslemeye yardımcı olarak prebiyotik etkisi gösterir. Bağışıklık sistemi üzerine de etkileri bulunmaktadır. (16)

f. İzomaltooligosakkarit: Nişasta kaynaklı bir oligosakkarittir ve genellikle sindirim sağlığına faydalıdır. (17)

g. Mannanooligosakkaritler (MOS): Mannozun birleşmesiyle oluşan oligosakkaritlerdir. Faydalı bakterileri çekerek patojenleri bağırsak sisteminden uzaklaştırabilirler. (7)

h. Kitosan Oligosakkaritleri: Kitin adı verilen bir polisakkaritten türetilen oligosakkaritlerdir. Antifungal, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklere sahip olabilirler. (18, 19)

2.2. Oligosakkaritlerin Etkileri

Oligosakkaritlerin insan sağlığı üzerinde çeşitli olumlu etkileri vardır. Bağırsak florasının sağlığına katkıda bulunarak sindirim sistemini destekleyebilirler. Ayrıca, bağırsıklık sistemi fonksiyonunu artırabilirler ve bazı durumlarda kan şekeri seviyelerinin düzenlenmesine yardımcı olabilirler. (20)

a. Prebiyotik Etki: Oligosakkaritler, bağırsak mikrobiyotasını destekleyen ve sağlıklı bağırsak bakterilerinin gelişimini teşvik eden prebiyotikler olarak kullanılabilir. Prebiyotikler, sindirilmeyen karbonhidratlar olarak kalın bağırsaklara ulaşır ve burada yararlı bakterilerin besin kaynağı olarak işlev görür. Bu bakteriler, bağırsak florasının denge sağlanmasına ve zararlı mikroorganizmaların çoğalmasının önlenmesine yardımcı olabilir.

b. Bağırsak Sağlığını Destekleme: Oligosakkaritler, bağırsak hücreleri tarafından sindirilmediği için kalın bağırsaklara ulaşırlar. Burada faydalı bakterilerin fermentasyonu sonucu kısa zincirli yağ asitleri gibi ürünlere dönüşebilirler. Bu asitler, bağırsak hücrelerini besler ve bağırsak zarının sağlığını destekler.

c. Bağırsıklık Sistemi Desteği: Sağlıklı bir bağırsak florası, bağırsıklık sistemini destekleyebilir. Oligosakkaritlerin faydalı bakterilerin büyümesini teşvik ederek, immün sistem fonksiyonunu iyileştirebilmektedir.

d. Toksinlerin Giderilmesi: Oligosakkaritlerin fermentasyonu sonucu oluşan ürünler, zararlı toksinlerin bağırsaklardan uzaklaştırılmasına yardımcı olur.

e. Bağırsak Motilitesini Artırma: Oligosakkaritlerin bazı formları, bağırsak hareketlerini düzenleyerek kabızlık gibi sindirim sorunlarını hafifletir.

f. Diyet Lif Kaynağı: Oligosakkaritler, beslenmede lif kaynağı olarak da kullanılabilir. Lif, sindirilemeyen bir bileşen olduğu için sindirim sistemine faydalı olabilir ve tokluk hissini artırır.

g. Düşük Kalorili Alternatifler: Bazı oligosakkaritler, diğer karbonhidratlara kıyasla daha düşük kalori içerebilir. Bu nedenle, düşük kalorili veya düşük glisemik indeksli alternatifler olarak kullanılabilirler.

h. Tatlandırıcı ve Tekstür İyileştirici: Oligosakkaritler, gıda ürünlerine doğal tatlandırıcılar olarak eklenebilir. Ayrıca, bazı gıdalara istenilen tekstürü ve kıvamı sağlamak için kullanılabilirler.

i. Ürün Stabilizasyonu: Oligosakkaritler, bazı gıda ürünlerinin raf ömrünü artırabilir ve ürün stabilitesini sağlayabilen etkiler göstermektedir. (7, 21, 22, 23)

3. Veteriner Hekimlikte Oligosakkaritlerin Kullanım Alanları

Son yıllarda insan beslenmesinde önemli bir rol oynayan hayvansal ürünlerin nicelik ve nitelik bakımından daha kaliteli olmaları için çalışmalar sürdürülmektedir. Özellikle performans artırıcı beslenme programları uygulanan hayvan türlerinde antibiyotik kullanımının yasaklanması sonucu çalışmalar antimikrobiyal etkili doğal kaynaklı alternatif yem katkı maddelerine yönelmiştir. Yem katkı maddelerinin öncelikli amaçları, hayvanların gereksinim duyduğu besin maddelerini daha iyi ve dengeli bir şekilde almasını sağlayarak hayvanların büyüme, gelişme ve üretim verimlerini olumlu yönde etkilemektedir. Prebiyotik özelliği olan oligosakkaritlerde hayvan yem katkısı olarak önemli bir yere sahiptir. (24, 25)

Ruminantların sindirim sisteminde özellikle rumen, sindirim sürecinin büyük bir kısmının gerçekleştiği ve mikrobiyal aktivitenin yoğun olduğu bir bölgedir. Rumen içeriğinde sindirimin büyük bir kısmı mikroorganizmalar tarafından yapılır. Bu mikroorganizmalar, selüloz gibi lifli maddeyi sindirerek hayvanın sindiremeyeceği besin maddelerini sindirilebilir formata dönüştürürler. MOS (mannan-oligosakkarit), hücre duvarında bulunan bir bileşiktir ve bazı maya türleri tarafından üretilir. Bu MOS içeren mayaların ruminantların rasyonlarına eklenmesi, sindirim sistemindeki mikroorganizmaların aktivitelerini artırarak özellikle lifli maddelerin sindirimine katkıda bulunmasına yardımcı olabilir. Aynı zamanda, MOS içeren mayaların rumen mikroorganizmaları üzerindeki olumlu etkisi nedeniyle laktik asit birikimini önlediği ve böylece sindirim sisteminde asidite seviyelerini dengelediği belirtilmiştir. Aşırı laktik asit birikimi, sindirim sistemi pH'sının düşmesine ve hayvan sağlığının olumsuz etkilenmesine neden olabilir. Bunun yanı sıra, MOS içeren mayaların rumen mikroorganizmaları üzerindeki etkisi, rumen içerisinde oksijen konsantrasyonunu da düşürebilir. Rumen mikroorganizmaları genellikle oksijensiz ortamda daha iyi çalışırlar, bu nedenle rumen içindeki oksijen seviyelerinin düşmesi, bu mikroorganizmaların etkinliğini artırabilir. Bu da hayvanların daha iyi beslenmesini ve sağlıklı bir şekilde büyümelerini destekleyebilir. (26, 27)

Özellikle, genç hayvanların sindirim sisteminde patojen mikroorganizmaların büyümesini sınırlandırarak hastalıklara karşı daha dirençli hale getirmektedir (28). Yapılan bir çalışmada MOS katkısı yapılan buzağı süt ikame yemleriyle beslenen buzağılarda yem tüketimini artırdığı ve ilk bir ayda ishal vakalarının engellediği bildirilmiştir. (29, 30)

Aynı zamanda MOS'ler, yemlerdeki aflatoksin gibi mikotoksinleri bağlama özelliğine sahiptir. Mikotoksinlerin yemlerde ve gıdalarda bulunması,

hayvanların sağlığına ve gıda güvenliğine ciddi tehditler oluşturabilir. Bu nedenle, hayvanların yemlerindeki mikotoksinleri etkili bir şekilde kontrol etmek ve azaltmak önemlidir. Bu noktada, yem katkı maddeleri olarak kullanılan MOS'lar, yemdeki mikotoksinleri, özellikle aflatoksinleri bağlayarak onların bağırsak epitellerinden emilimini engellemektedir. Bu etkileşim, mikotoksinlerin hayvan vücudunda dolaşım sistemine geçmelerini sınırlar, böylece hayvanın sağlığı korunmuş olur. Aynı zamanda, mikotoksinlerin hayvan ürünlerinde (et, süt, yumurta vb.) kalıntı bırakma riski de azaltılmış olur. (31)

Broyler tavuklar üzerinde yapılan bir çalışmada, broyler tavukların yemine 42 gün boyunca farklı oranlarda prebiyotik özellikteki kitosan oligosakkarit eklenerek broyler tavukların büyüme performansı, et verimi, iç organ ağırlıkları ve kan parametreleri üzerine etkilerini incelenmiştir. Kitosan oligosakkaritin yeme ilave edilmesi, tavukların büyüme performansı ve iç organ ağırlıkları üzerinde olumsuz bir etki göstermemiş ve kalp sağlığı için önemli olan kan HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein) kolesterol seviyesini artırdığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, kitosan oligosakkaritin antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilir prebiyotik bir madde olarak düşünülmesini desteklemektedir. (25)

Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde prebiyotik özellikteki hindibadan elde edilen inülin sindirim sistemi için yararlı olan mikroorganizmaların büyümesini teşvik eden bir madde olarak işlev görür. İnülin, sindirim kanalında bifidobacteria ve lactobacilli gibi yararlı bakterilerin büyümesini teşvik ederek, sindirim sistemi mikrobiyotasının dengesini destekler. Aynı zamanda bütirik asit üretimini artırarak, bağırsak hücrelerinin enerji kaynağı olan bütirik asit seviyelerini artırır. Bu da bağırsak hücrelerinin sağlığını destekler. Bağırsaktaki villi uzunluğunu artırarak emilim yüzeyini genişletir. Bu, besin maddelerinin daha etkili bir şekilde emilimini sağlayabilir. Bağırsak içeriğini ve dışkının pH seviyesini düşürerek asidik bir ortam oluşturur. Bu, yararlı bakterilerin çoğalmasını teşvik ederken zararlı mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilir. Ayrıca dışkıdaki amonyak konsantrasyonunu azaltarak toksisite riskini düşürebilir. Kolesterol atılımını artırdığı belirtilmektedir. Bu, kolesterol seviyelerinin kontrolü açısından olumlu bir etki olabilir (32). Ayrıca, kitosan ve KOS de benzer şekilde bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olduğu ve bağırsıklık düzenleyici, antioksidan, antimikrobiyal ve kolesterol düşürücü etkileri olduğu belirtilmektedir (33). Bu maddelerin de bağırsak sağlığı ve genel sağlık üzerindeki etkileri konusunda daha fazla araştırma yapılması önemlidir.

Grisdale-Helland ve ark. (34, 35) atlantik somonu üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, MOS, FOS ve GOS'un yeme eklenmesi, somonların büyümesi ve yemden yararlanmasını olumlu yönde etki oluşturmuştur. Özellikle FOS ile beslenen somonların yem değerlendirme oranının %5 arttığı ve enerji dönüşümünün %6 daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu, yem maddelerinin somonların beslenme ve enerji kullanımını süreçlerini destekleyebileceği bildirilmiştir. MOS destekli yemlerle beslenen balıklarda oksijen tüketiminin kontrol grubuna göre %11 daha az olduğu bildirilmiştir. Bu, yem katkı maddelerinin somonların metabolizmasını etkileyebileceğini ve oksijen kullanımını optimize edebileceğini göstermektedir. Çalışma süresince balıklarda herhangi bir sağlık sorunu veya ölüm vakası yaşanmadığı belirtilmiştir. Bu, eklenen yem katkı maddelerinin somonların sağlığını olumsuz etkilemediği ve kullanımlarının güvenli olduğunu göstermektedir.

Panigrahi ve ark. (36, 37, 38) gökkuşaağı alabalığında yemine probiyotik ile prebiyotik (FOS) karışımı ilave edilmesinin bağışıklık sistemi yanıtını artırdığı belirtilirken, sindirim sistemi mikroflorasını düzenlediği de tespit edilmiştir. Yine aynı şekilde MOS ilaveli yemlerle beslenen gökkuşaağı alabalığı, sazan ve Jian sazanlarının doğal bağışıklık sistemlerinin olumlu olarak etkilendiği belirtilmiştir. Torrecillas ve ark. (39, 40) levreklerin yemlerine eklenen MOS'un bakteriyel enfeksiyonlara karşı direnci artırdığı ve sindirim sistemini güçlendirdiğini bildirmişlerdir.

Aktaş ve ark. (41) Pasifik karidesi (*Litopenaeus vannamei*) yetiştiriciliğinde yemlere MOS, serotonin ve her ikisinin bir kombinasyonu şeklinde eklemeler yapılarak 75 günlük bir süreçte gruplardaki kabuk değişimi, büyüme, yaşama oranı, et kompozisyonu ve hepatopankreas histolojisi incelenmiş ve sonuç olarak Pasifik karides yemlerine MOS ilavesi büyümeyi teşvik edici madde olarak kullanılabilirliği sonucuna varılmış.

4. Sonuç

Sonuç olarak prebiyotik özellikte olan oligosakkaritler, genellikle yaygın ve kolay erişilebilir bitkisel kaynaklardan elde edilebilmeleri, sindirim sisteminde olumlu şekilde etkileyerek toksik veya alerjik etkilere yol açmamaları, yem işleme sırasında ısı ve basınçtan etkilenmemeleri, işlendikleri gıdalarda stabil kalabilmeleri ve etkinliklerinin sürdürülebilir olması gibi özelliklerinden dolayı sağlık, gıda ve hayvancılık alanlarında önemli bir rol oynarlar.

Özellikle çiftlik hayvanlarında sindirim sistemi mikrobiyotasının sağlıklı ve dengeli bir şekilde çalışmasına yardımcı olan prebiyotik maddeler olarak

işlev görererek hayvanların sindirim sağlığını destekler ve bağışıklık sistemini güçlendirir. Bu da hayvanların hastalıklara karşı daha dirençli olmalarını sağlamaktadır. Oligosakkaritler sindirim enzimlerinin aktivitesini artırarak besin emilimini kolaylaştırabilir ve sindirim problemlerini azaltabilir. Zararlı toksinlerin bağırsaklarda emilimini engelleyerek veya toksinleri bağlayarak vücuttan atılmasını sağlayabilir. Bu etkileriyle zehirlenmelerin önlenmesine yardımcı olabilir. Antibakteriyel ve antiviral özellikleri sayesinde enfeksiyonların önlenmesi veya tedavi edilmesinde destekleyici olarak kullanılabilirler. Hayvanların yemden elde ettikleri besin maddelerini daha etkili bir şekilde kullanmalarını sağlayarak büyüme ve verimliliği artırabilme özelliklerinden dolayı veteriner hekimlikte hayvan beslenmesi, hastalıkların önlenmesi ile antibiyotiklere alternatif olabilmeleri nedeniyle oligosakkarit kullanımı büyük önem arz etmektedir.

Kaynaklar

1. Mundan D, Memiş H, Avcı M, Avcı L. Hayvancılık Sektörünün Kalkınma ve Sanayileşme Açısından Değerlendirilmesi: Adıyaman İli Örneği. Akademik Araştırmalar ve Çalışmalar Dergisi (AKAD), 2017; 9(17): 237-244.
2. Ergün OF, Bayram B. Türkiye’de Hayvancılık Sektöründe Yaşanan Değişimler. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi, 2021; 10(2): 158-175.
3. McIntosh FM, Williams P, Losa R. ve ark. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Applied and Environmental Microbiology, 2003; 8(69): 5011-5014.
4. Yıldız G, Çetin T. Esansiyel Yağların Alternatif Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımı. Yem Magazin, 2004; 12(38): 41-47.
5. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı (2006). Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (2006/1). *Resmî Gazete* 21.01.2006 tarih ve 26056 sayı.
6. Karayağız İ., Bülbül T. Ruminantlarda verim performansı üzerine etkili yem katkı maddeleri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 2014, 9(2): 124-133.
7. Demirci M, Sağdıç O, Çavuş M, Pehlivanoğlu H, Yılmaz MT, Çağlar M. Prebiyotik Oligosakkaritlerin Kaynakları, Üretimleri ve Gıda Uygulamaları. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2017; 6(10): 20-31.
8. Kitazawa H, Ino T, Kawai Y, Itoh T, Saito T. A Novel Immunostimulation Aspect of *Lactobacillus gasei*, Induction of ‘Gasserokine’ as Chemoattractants for Macrophages. J. Food Microbiol, 2002; 77(1-2): 29-38.

9. Spring P. The effect of age and environment on the avian gastrointestinal microflora and its role in the development of competitive exclusion products. *Feed Compounder*, 1998; 18: 16-20.
10. Morita, H., He, F., Fuse, T., Ouwehand, A. C., Hashimoto, H., Hosoda, M., ... Kurisaki, J. I. Adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2 cells and their effect on cytokine secretion. *Microbiology and immunology*, 2002; 46(4): 293-297.
11. Nakakuki T. Present Status and Future of Functional Oligosaccharide Development in Japan. *Pure Appl. Chem.*, 2002; 74(7): 1245-1251.
12. Marx SP, Winkler S, Hartmeier W. Metabolization of b-(2,6)-linked fructoseoligosaccharides by different bifidobacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000; 182 (1): 163-169.
13. Azcarate-Peril MA, Ritter AJ, Savaiano D, ve ark. Impact of shortchain galactooligosaccharides on the gut microbiome of lactose-intolerant individuals. *Proc Natl Acad Sci.*, 2017; 114(3): E367-E375.
14. Fujikawa S, Okazaki M, Matsumoto, N. Effect of xylooligosaccharide on growth of intestinal bacteria and putrefaction products. *Nippon Eiyo Shokuryo Gakkaishi*, 1991; 44(1): 37-40.
15. Özyurt V H, Ötleş S. Prebiyotikler: metabolizma için önemli bir gıda bileşeni. *Akademik Gıda*, 2014; 12(1): 115-123.
16. Aşan M, Özcan N. Kanatlı beslemede inulinin prebiyotik olarak önemi. *Hayvansal Üretim*, 2006; 47(2): 48-53.
17. Shin HS, Lee H, Pestka JJ, Ustunol Z. Growth and Viability of Commercial Bifidobacterium spp. in Skim Milk Containing Oligosaccharides and Inulin. *J. Food Sci.*, 200; 65(5): 884-887.
18. Wu KY, Wu M, Fu ML ve ark. A novel chitosan CpG nanoparticle regulates cellular and humoral immunity of mice. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2006; 19(2): 87-95.
19. Sun T, Yao Q, Zhou D, Mao F. Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2008;18(21): 5774-5776.
20. Manning T, Gibson G. Prebiotic. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2004; 18(2): 287-298.
21. Delzenne, NM. Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of the nutrition Society*, 2003; 62(1): 177-182.
22. Wang Y. Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 2009; 42 (1): 8-12.

23. Çeltik C, Tayfun K, Müslümanoğlu AY. Simbiyotik özellikli gıdalar. *Bütünleyici ve Anadolu Tıbbı Dergisi*, 2022; 3(2): 3-12.

24. Erkek R. Yem Katkı Maddelerinin Gelişimi ve Kullanımı. *Yem Sanayi Dergisi*, 1991; 73:19-23.

25. Soğancı E. Broyler rasyonlarında kitooligosakkarit (KOS) kullanımının performans, karkas verimi, iç organ ağırlıkları ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı*, 2018, Kırıkkale.

26. İnal F, Gürbüz E, Çoşkun B, ve ark. Bir canlı maya kültürünün rumen fermantasyonu ve besin madde yıkılabilirliği üzerine etkisi. *V. Ulusal Hayvan Besleme kongresi*. 30 Eylül- 3 Ekim 2009. Çorlu-Tekirdağ.

27. Gümüş H, Oğuz FK. Mayanın ruminant metabolizması üzerine olan etkileri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2014; 2(2): 93-103.

28. Türkmen İİ, Biricik H, Deniz G, ve ark. Temel Yem Bilgisi ve Hayvan Besleme. *Anadolu Üniversitesi yayını*, 1. baskı, Eskişehir-Türkiye: 2011; 70-88.

29. Heinrichs AJ, Jones CM, Heinrichs BS. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 2003; 86 (12): 4064-4069.

30. Sırakaya S, Küçük O. Süte Katılan Mannan-oligosakkarit ve Kromun Buzağılarda Performansa ve Bazı Kan Parametrelerine Etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2009; 18(2); 81-87.

31. Güçlü BK, Kara K. Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı: 1. probiyotik, prebiyotik ve enzim. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009; 6(1): 65-75.

32. Keser O, Bilal T. İnülinin kanatlı beslemede kullanılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2010; 16 (4): 685-695.

33. Światkiewicz S, Światkiewicz M, Arczewska-Wlosek A, Jozefiak D. Chitosan and its oligosaccharide derivatives (chito-oligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2015; 99(1):1-12.

34. Grisdale-Helland B, Helland SJ, Gatlin DM. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 2008; 283(1-4):163-7.

35. Ciğer O. Yemlere eklenen mannan oligosakkarit (MOS) ve serotonin (5-HT)'in penaeoid karides *litopenaeus vannamei* postlarvalarının gelişimine

etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010, Hatay.

36. Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, Kobayashi T, Satoh S, Sugita H. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 2005; 243: 241-54.

37. Zhou XQ, Li YL. The effect of bio-mos on intestinal microflora and immune function of juvenile jian carp (*Cyprinus carpio* Var. Jian). *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Proceedings of Alltechs 20th Annual Symposium (Suppl. 1: Abstracts of posters presented)*. Lexington, Ky. 2004; p.109.

38. Baylan M, Mazı G, Gündoğdu S. Balık beslemede biyoteknolojik uygulamalar. *Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi* 2014; 3(3):112-6.

39. Torrecillas S, Makol A, Caballero MJ, ve ark. Immune stimulation and improved infection resistance in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannanoligosaccharides. *Fish Shellfish Immunology* 2007; 23: 969-81.

40. Altıntaş L, Tutun H, Sevin S, Yarsan E. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Prebiyotik ve Probiyotik Kullanımı. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics* 2016; 2(1): 29-37.

41. Aktaş M, Ciğer O, Genç E, Genç MA. ve Çavdar N. Effects of mannan oligosaccharide and serotonin on molting, growth, body composition and hepatopancreas histology of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2014, 14(1): 205-211.

BÖLÜM XII

GEBELİK İZLEMİNDE GÜNCEL DOPPLER ULTRASONOGRAFİK ÇALIŞMALAR

Current Doppler Ultrasonographic Studies in Pregnancy Monitoring

Tuğra AKKUŞ¹

*¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı,*

Şanlıurfa, Türkiye

E-mail: tugraakkus08@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-6002-5942

1. Giriş

Sağlıklı bir gebeliği takiben sağlıklı bir yavruya sahip olmak evcil hayvan yetiştiriciliğinin önemli hedeflerindedir. Bunu sağlamada veteriner hekimlere büyük görev düşmektedir. Son yıllardaki bilimsel gelişme ve beraberinde gelen teknolojik ilerlemeler; fetüs hakkında intrauterin dönemde ayrıntılı bilgi edinmeyi, gerektiğinde erkenden müdahale edebilmeyi beraberinde getirmiştir. Evcil hayvanların gebeliklerinin ultrasonografik olarak izlenmesi birçok veteriner kliniğinde yerleşmiş bir rutindir. Fetal sağlığı daha iyi değerlendirmek ve gebelik kayıplarını önlemek için gebe uterusun Doppler ultrasonografik değerlendirmesi gün geçtikçe daha da önemli hale gelmektedir. Doppler ultrason kullanılarak maternal ve fetal kan akışının dinamikleri üzerine araştırmalar son zamanlarda birçok türde yapılmıştır ve gelecekte gebeliğin izlenmesinde güvenilir bir tanı aracı olacağı öngörülmektedir. Gelişmekte olan fetüsün görüntülenmesi, fetüs üzerinde ölçümler ve fetal kalp hızı izleme gibi bilgiler son on yılda standardize edilmiştir. Obstetrik Doppler ultrasonografi, hekime umbilikal arter ve ven, uteroplasental arterler, fetal torasik aorta, fetal kaudal vena kava ve fetal serebral arter gibi damarları inceleyerek fetö-maternal hemodinamikleri gözden geçirmek için güvenilir bir fırsat verir. Son zamanlarda farklı türlerde Doppler ultrasonografi kullanılarak maternal ve fetal kan akışının dinamikleri üzerine araştırmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir.

2. Koyun ve Keçilerde Yapılan Çalışmalar

Gebe koyunlarda uterin arter Doppler indekslerini belirlemek amacıyla Beltrame ve ark.'ın (1) yaptığı çalışmada; artan gebelik süresi ile PI, RI ve S/D oran indekslerinin düzenli olarak azaldığını bildirmişlerdir.

Vasquez ve ark. (2) tekiz ve ikiz gebe koyunlarda umbilikal arter Doppler incelemelerinde; tekiz gebeliklerde PI ve RI değerlerinin 50-70. günlerde arttığı, 70-80. günlerde azaldığı, 80-90. günlerde arttığı ve 90-110. günlerde azaldığını; ikiz gebeliklerde PI ve RI değerlerinin 50-80. günlerde arttığı ve 80-110. günlerde azaldığını bildirmişlerdir.

Domínguez ve ark. (3) gebe koyunlarda 3 farklı anestezi kullanımı plasental dolaşım üzerindeki etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada; gebe koyunların Doppler indekslerinden PSV, EDV ve MV değerlerinin üzerine bir etkisinin olmadığını bildirmiştir.

Stankiewicz ve ark. (4) gebelik süresince gebe koyunlarda umbilikal kord çapı ve Doppler indekleri ölçümlerini belirlemek için gerçekleştirdikleri çalışmada; artan gebelik dönemi ile; umbilikal kord çapının arttığı, umbilikal arter PI, RI ve S/D oranının azaldığı, PSV ve EDV değerlerinin arttığını bildirmişlerdir.

Elmetwally ve ark. (5) koyun ve keçilerde maternal stres durumunun gebelik üzerine etkisinin incelenmesi için Doppler ultrasonografinin kullanılıp kullanılmayacağını araştırdığı çalışmada; stres oluşturulan ve oluşturulmayan gebe hayvanlarda uterin ve umbilikal arter kan akım ölçümlerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada stres oluşturulan gebe hayvanların uterin ve umbilikal arter PI ve RI değerlerinin stres oluşturulmayan hayvanlara kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Santos ve ark. (6) gebelik süresi boyunca Doppler ultrason kullanarak uterin arter, fetal aorta ve umbilikal arter kan akımını değerlendirmek için gerçekleştirdikleri çalışmada; fetal aortta gebeliğin başlangıcında EDV değerinin düşük olup gebeliğin son dönemlerinde artış gösterdiğini, PSV değerinin gebeliğin ilk dönemine kıyasla son dönemlerde daha yüksek seyrettiğini ve gebelik sırasında RI değerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Uterin arter EDV ve PSV değerlerinin gebelik sırasında önemli değişiklik göstermemesine rağmen son 3 haftada artış gösterdiğini ve gebeliğin ilk haftalarında RI değerinin daha yüksek gebeliğin son haftasında ise daha düşük olduğunu ifade etmişlerdir. Umbilikal arter EDV değerinin gebeliğin son dönemlerinde artış gözlenmesine rağmen PSV değerinde önemli bir fark görülmediğini bildirmişlerdir.

Bubols ve ark. (7) koyunlarda gebeliğin son trimesterinde yüksek polifenol antioksidan alımının duktus arteriyozus üzerindeki etkisini incelemek için

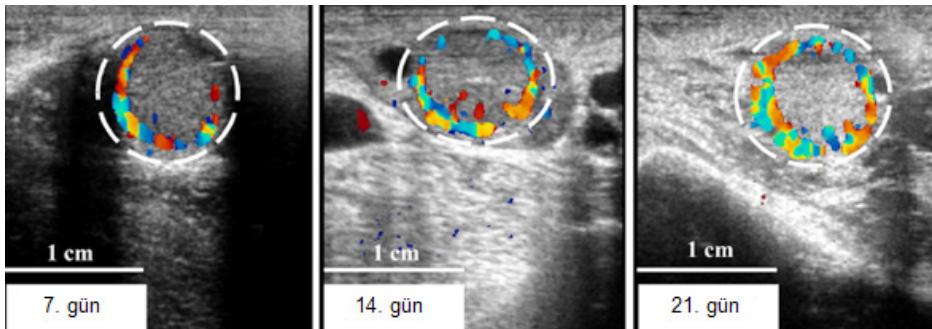
gerçekleştirdikleri araştırmada; yüksek polifenol alımının duktus arteriyozus daralmasına neden olup PI değerinin artmasına, PSV ve EDV değerlerinin azalmasına neden olduğu bildirilmiştir.

3. İneklerde Yapılan Çalışmalar

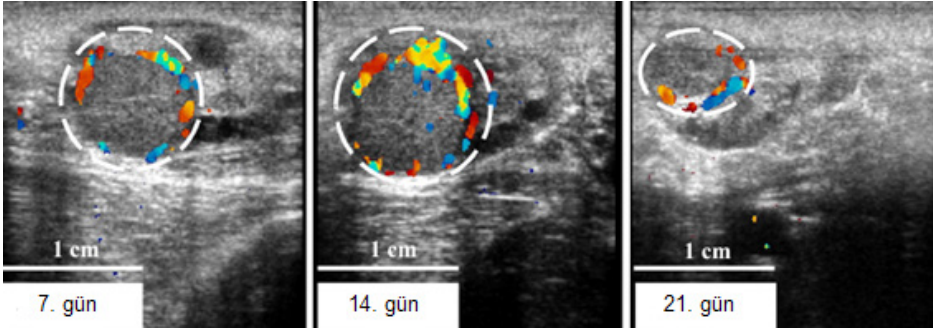
Uterus torsiyonu gelişmiş gebe hayvanlarla sağlıklı gebe hayvanlarda uterin arter kan akımını değerlendirmek için Chandolia ve ark.'ın (8) yaptıkları çalışmada; uterus torsiyonu bulunan hayvanlarda ipsilateral uterin arter kan akış hacminin normal gebe olan hayvanlara kıyasla önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda uterus torsiyonu bulunan hayvanlarda ipsilateral uterin arter kan akış hacminin kontralateral uterin arter kan akış hacmine oranla daha düşük olduğunu açıklamışlardır ancak uterus torsiyonu düzeltildikten sonra gerçekleştirilen ölçümlerde ipsilateral uterin arter kan akış hacmindeki artış önemli derecede görünürken kontralateral kan akış hacminin önemli derecede artış görülmediğini bildirmişlerdir.

Abdelnaby ve ark. (9) sağlıklı manda düvelerinde gebeliğin ilk 6 ayında uterin arter doppler indekslerini belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmada; RI ve PI değerleri arasında pozitif yönde korelasyon belirleyip gittikçe düzeylerinin azaldığını, PSV ve EDV değerlerinde ise sürekli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir.

Hassan ve ark. (10) suni tohumlamadan sonraki 3 hafta boyunca gebe olan ve gebe olmayan hayvanlarda luteal boyut, progesteron ve luteal kan akışında farklılıklar olup olmadığını araştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; luteal kan akımının gebe olanlarda (Şekil 1) 7.ve 21. günler arası gebe olmayanlara göre (Şekil 2) daha yüksek olduğunu, aynı zamanda gebe hayvanlarda luteal boyutun 6-7.günlerde ve 17. günden itibaren daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

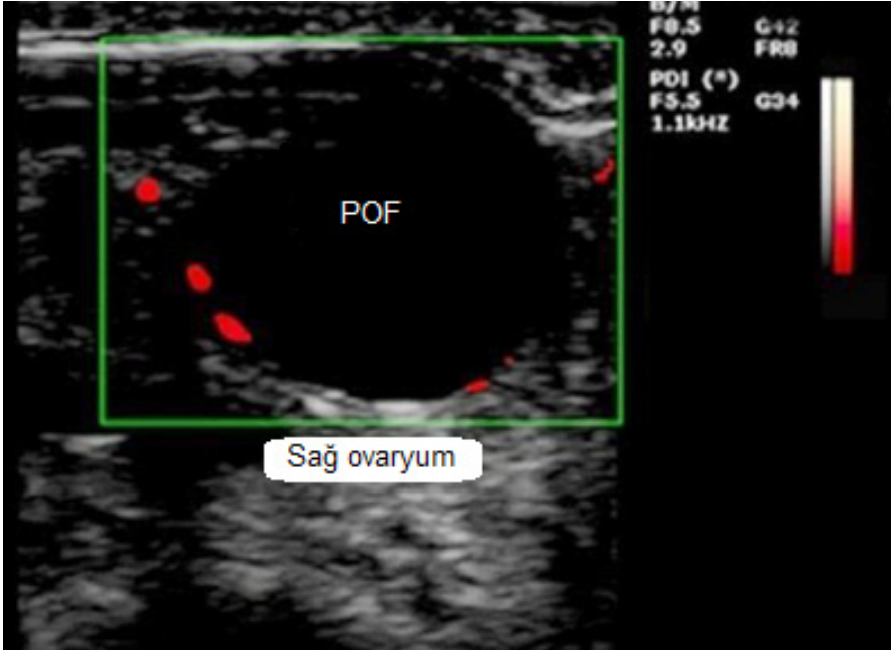


Şekil 1. Gebe hayvanlarda renkli Doppler ultrason ile luteal kan akımının değerlendirilmesi (10).

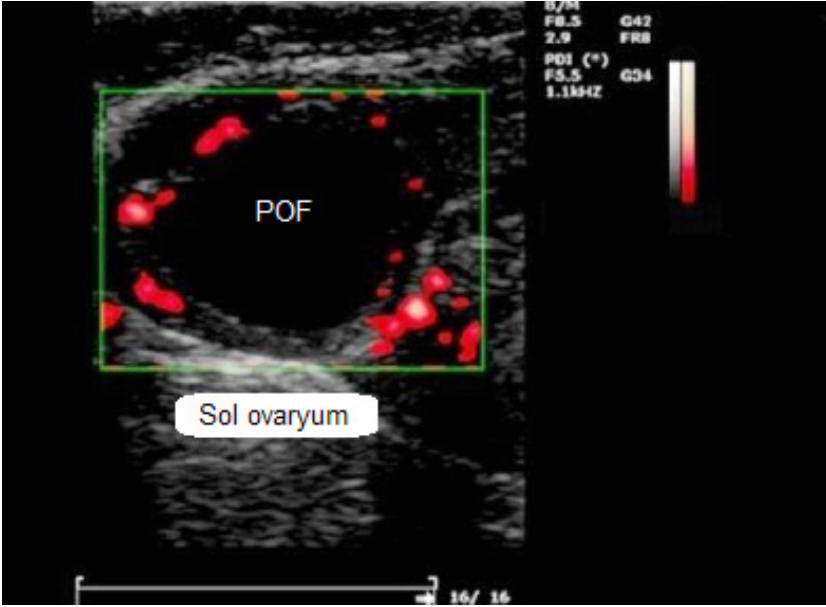


Şekil 2. Gebe olmayan hayvanlarda renkli Doppler ultrason ile luteal kan akımının değerlendirilmesi (10).

Selvaraju ve ark. (11) mandalarda doğal ve uyarılmış östrus sonrası gebelik oluşumunda preovülatör folikülün (POF) vasküler perfüzyonunun değerlendirilmesi amacı ile yaptıkları çalışmada; doğal östrusa (Şekil 3) kıyasla indüklenmiş östrusta (Şekil 4) POF'un kan akışında artış olduğunu bildirmişlerdir.



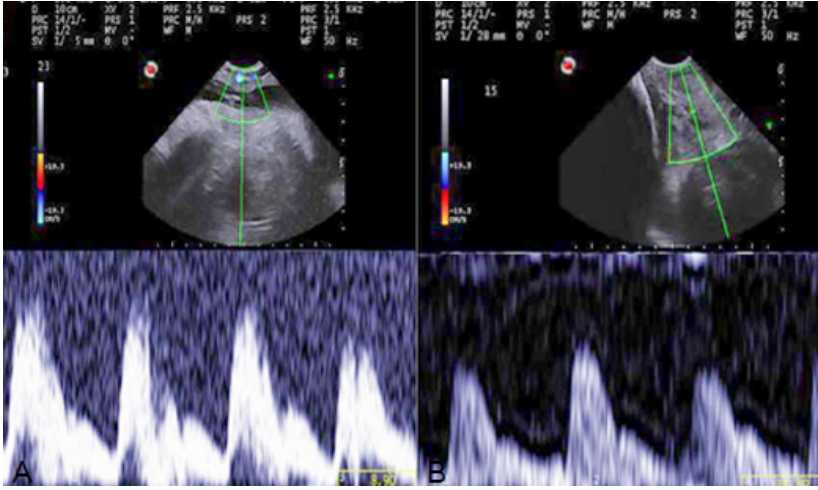
Şekil 3. Doğal olarak östrusa gelmiş mandada POF'un renkli Doppler ultrason ile değerlendirilmesi (11).



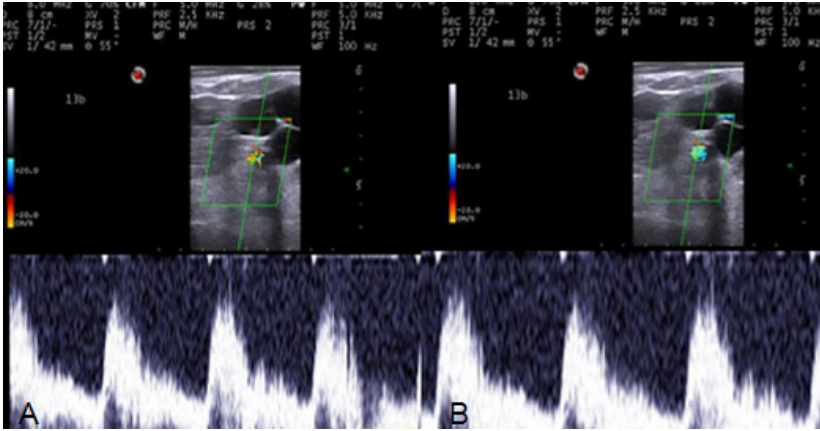
Şekil 4. İndüklenmiş olarak östrusa gelmiş mandada POF'ün renkli Doppler ultrason ile değerlendirilmesi (11).

Kim-Egloff ve ark. (12) gebeliğin son ayında uterin arterlerin ve plasentomların perfüzyonunu ölçmek ve epidural anestezi ile izoksuprin'in (düz kas gevşeticisi) perfüzyon üzerindeki etkisini değerlendirmek için gerçekleştirdikleri çalışmada; epidural anestezi yapıldıktan sonra renkli Doppler ultrason ile kontralateral uterin arter kan akımında ve izoksuprin uygulandıktan sonra ipsilateral uterin arter kan akımında artış olduğu ve her iki uterin arterde MV değerinin arttığını RI değerinin azaldığını bildirmişlerdir. Bu değerlerin yanı sıra epidural anestezi ve izoksuprin; uterus ve plasentom perfüzyonunda, fetüse besin ve oksijen desteği sağladığı sonucuna ulaşmışlardır.

Nanas ve ark. (13) sıcaklık stresinin gebe ineklerinde korpus luteum, plasentomlar, umbilikal ve uterin arterlerdeki kan akışı üzerindeki etkisini incelemek için gerçekleştirdikleri çalışma; hayvanları yaz grubu ve kış grubu olarak değerlendirmişlerdir. Yaz grubunda kortizol seviyesinin kış gruplarına oranla daha yüksek olduğunu, progesteron seviyesinin kış grubuna göre daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Umbilikal arter çapı ve kan akış hacmi yaz grubunda kış grubuna kıyasla daha düşük olarak bildirirken (Şekil 5), uterin arter hemodinamik parametrelerin ve çapının mevsimden etkilenmediğini ifade etmişlerdir (Şekil 6).



Şekil 5. Gebe ineklerde kış mevsimi (A) ve yaz mevsiminde (B) umbilikal arter spektral Doppler incelemesi (13).



Şekil 6. Gebe ineklerde kış mevsimi (A) ve yaz mevsiminde (B) uterin arter spektral Doppler incelemesi (13).

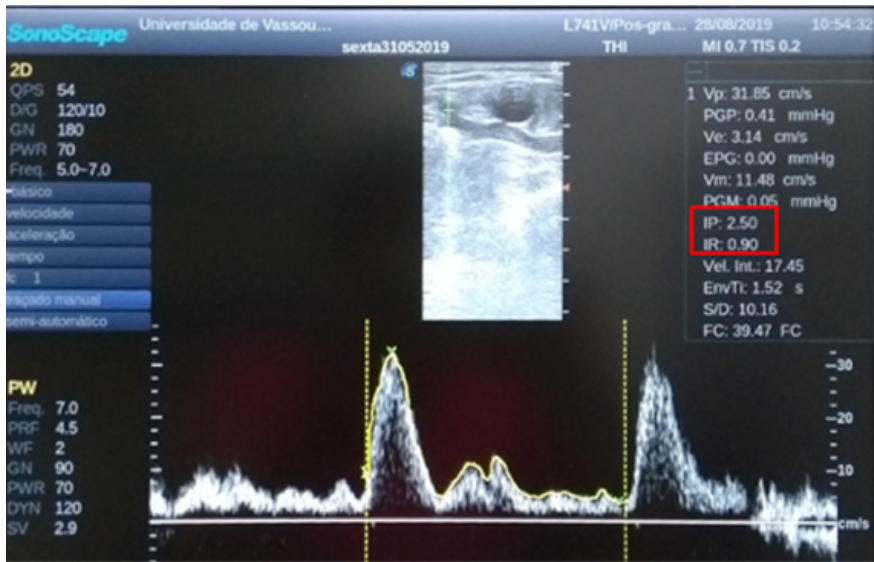
Waldvogel ve ark. (14) gebeliğin son ayındaki hayvanlarda izoksuprin, lidokain ve ksilazinin umbilikal kan akışı üzerindeki etkilerini incelemek için yaptıkları çalışmada; uterin arter kan akış hacmi izoksuprin ve lidokain uygulandıktan sonra %5 oranında artış gösterirken ksilazin uygulandıktan sonra %10 oranında azalma gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada umbilikal arter kan akış hacmini yükselten tek ilacın izoksuprin olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca ksilazinin umbilikal arter RI seviyesini arttırdığını, izoksuprinin de hem uterin hem de umbilikal arter RI seviyesini azalttığını bildirmişlerdir.

4. Kısraklarda Yapılan Çalışmalar

Farklı yaş ve doğum sayılarına sahip sağlıklı gebe kısraklar üzerinde uterin arter çapı ve kan akışını değerlendirmek için Klewitz ve ark.'ın (15) gerçekleştirdikleri çalışmada; gebeliğin 16. gününden 310. gününe kadar uterin arter çapının lineer artış gösterdiğini ve farklı yaş grupları arasında uterin arter çapında değişiklikler meydana geldiğini kaydetmişlerdir. Aynı zamanda uterin arter PI değerinin giderek azaldığını belirtmişlerdir.

Zoller ve ark. (16) nitrik oksit kaynağı olan izosorbid dinitrat kullanımının diöstrus ve erken gebelik döneminde uterin ve ovaryan arter kan akımı üzerindeki etkisini incelemek için gerçekleştirdikleri çalışmada; PI değerinin önemli derecede değişiklik göstermediğini ancak izosorbid dinitratın siklik kısraklarda uterus ve ovaryum perfüzyonunu; erken gebelik döneminde bulunan kısraklarda ise ovaryum perfüzyonunu arttırdığını ifade etmişlerdir.

Campos ve ark. (17) ileri gebe kısraklarda sağ ve sol uterin arterlerin (Şekil 7) spektral Doppler indekslerinin plasental gelişim ile ilişkisini araştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; uteroplasental kalınlığın (CTUP) 13 yaşına kadar gebelik süresi ile korelasyon içinde olduğunu ancak CTUP ve PI arasında korelasyon olmadığını, CTUP ve RI arasında ise negatif korelasyon olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca yaş grupları arasında RI değeri farklılık göstermiş ve sol uterin arter RI değeri tüm yaş gruplarında azalma eğiliminde olarak gözlenmiştir.

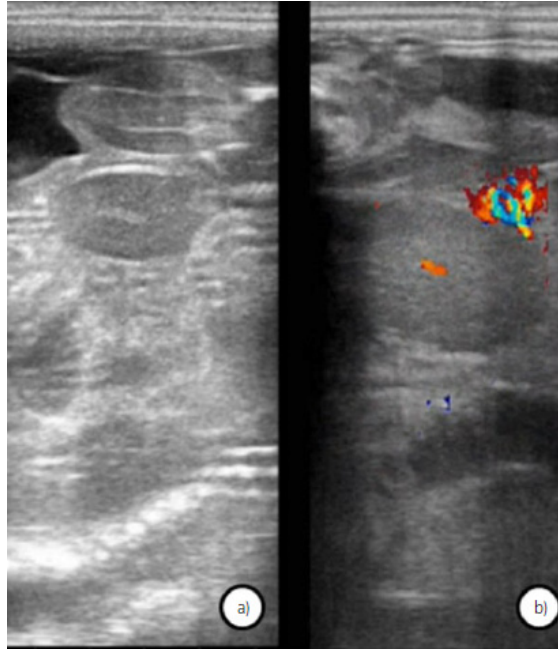


Şekil 7. Gebeliğin 240. günündeki kısraklarda sağ uterin arterin spektral Doppler ile incelenmesi (17).

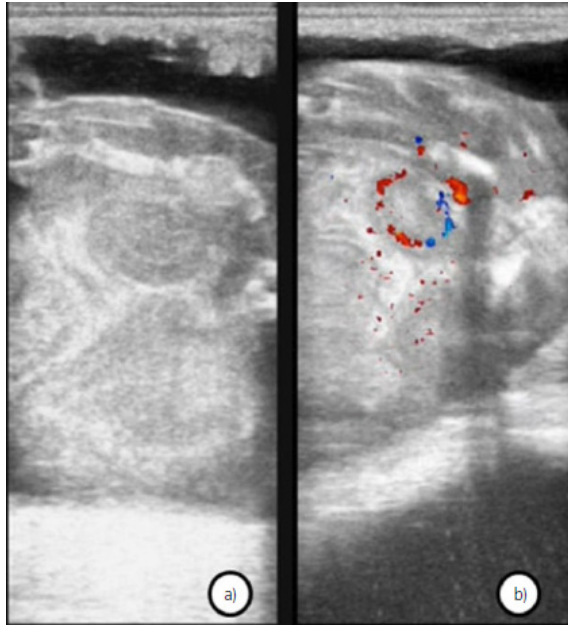
Sielhorst ve ark. (18) asetilsalisilik asidin gebe kısıraklarda uterin kan akışı, gebelik süresi, plasenta ve tay ağırlığı üzerine yaptığı etkiyi araştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; asetilsalisilik asidin günde 2 kez oral şekilde gebe kısırağa verilmesi sonucu uterin arter kan akışında kontrol grubuna ve günde 1 kez asetilsalisilik asit verilen gruba göre artış gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Ousey ve ark. (19) gebelik boyunca uterin arter kan akımı ve doppler indekslerini ölçmek ayrıca genç ve yaşlı kısıraklarda plasenta gelişimini karşılaştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; uterin arter çapının gebelik ile ilişki içinde olduğunu ve gebeliğin şekillendiği tarafta daha yüksek olarak izlendiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda yaşlı kısıraklarda genç kısıraklara kıyasla uterin arter kan akışının düşük olup yavruların daha düşük canlı ağırlığa sahip olduğunu ifade etmişlerdir. PSV, RI ve toplam kan akış hacminin, kısırak yaş grupları içinde ve arasında ipsilateral ve kontralateral uterin arter için benzer olduğunu kaydetmişlerdir. Gebelik boyunca PSV'de kısırak yaşıyla birlikte azalan pozitif, lineer bir artış; RI ise gebeliğin 42. gününe kadar yüksek ardından yaklaşık 150. günde hızla düştüğü bildirilmiştir. Toplam kan akış hacmi, özellikle gebeliğin son üç ayında, yaşlı kısıraklarda genç kısıraklardan daha düşük gözlenmiştir.

Resende ve ark. (20) sağlıklı gebe kısıraklarda farklı gebelik döneminde B mod veya renkli doppler ultrasonografi kullanılarak fetüs cinsiyetini teşhis etme amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmada; B mod ultrasonografi kullanılarak erkek fetüslerin %75, dişi fetüslerin ise %91,1 oranında cinsiyetlerinin doğru bir şekilde belirlenmesinin mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada renkli Doppler ultrasonografi kullanılarak cinsiyet belirlenmesinin erkek fetüslerde %100, dişi fetüslerde ise %98 oranında tespit edilebildiğini kaydetmişlerdir (Şekil 8, Şekil 9).



Şekil 8. B mod (a) ve renkli Doppler (b) ile erkek fetüste pampiniform pleksusun görüntülenmesi (20).



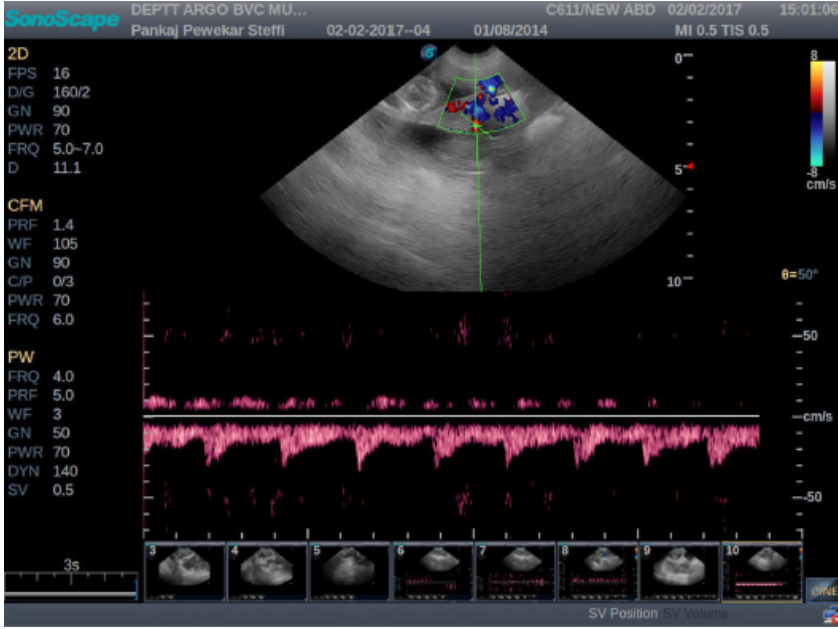
Şekil 9. B mod (a) ve renkli Doppler (b) ile dişi fetus kortikal sınır vaskülarizasyonunun belirlenmesi (20).

Ferreira ve ark. (21) kısıraklarda erken gebelik döneminde uterusun spektral doppler indekslerini ve vasküler perfüzyonunu araştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; uterin arter PSV değerinin sağ ve sol kornu uteriler arasında farklılık göstermediğini kaydetmişlerdir. RI değeri üzerine ovulasyondan sonra geçen günün etkisi olduğunu saptamışlar, ovulasyon sonrası 3-6 günler arasında RI değerinin azaldığını ve 8. günden itibaren progresif düşüş gösterdiğini bildirmişlerdir. Uterin arter vasküler perfüzyonda ovulasyon sonrası 3. günde artış kaydetmişlerdir.

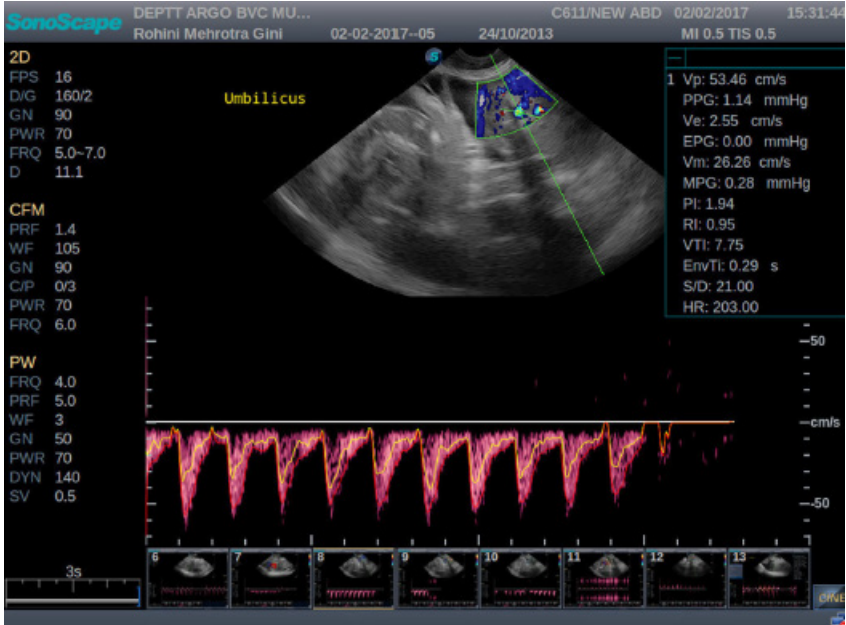
5. Köpeklerde Yapılan Çalışmalar

Normal sağlıklı ve abort riski bulunan gebe köpeklerde 40-50 ve 51-60 günler arasında uteroplental ve umbilikal arterlerin doppler indekslerinin karşılaştırılması için Gaikwad ve ark.'ın (22) gerçekleştirdikleri çalışmada; abort riski bulunan köpeklerde gebeliğin 40-50 ve 51-60 günler arası yapılan ölçümlerde uteroplental damarlarda (Şekil 10) EDV değerinin azaldığı, PI ve RI değerlerinin arttığını kaydetmişlerdir. Aynı çalışmada abort riski bulunan köpeklerde 40-50. günler arası umbilikal arter (Şekil 11) PSV ve EDV değerlerinin arttığı, PI değerinin azaldığını gözlemlenmiştir.

Köpeklerde 40-50 ve 51-60. gebelik günleri sırasında abort tehdidi vakalarında uteroplental damarların diyastolik sonu hızı azalırken, PI ve RI vücut ağırlığının azalmasıyla önemli ölçüde arttı. Köpek düşük tehdidinde gebeliğin 40 ila 50. günleri sırasında umbilikal arterlerin sistolik tepe hızı ve EDV'si artarken, PI vücut ağırlığındaki azalma ile önemli ölçüde azaldı.



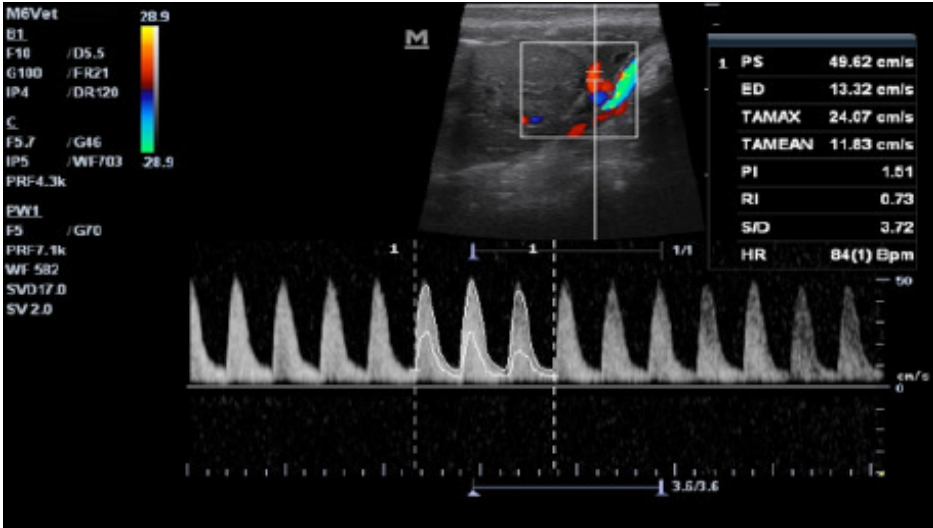
Şekil 10. Abort riski bulunan gebe köpekte gebeliğin 40-50. günler arasında uteroplental arterin spektral Doppler ile incelenmesi (22).



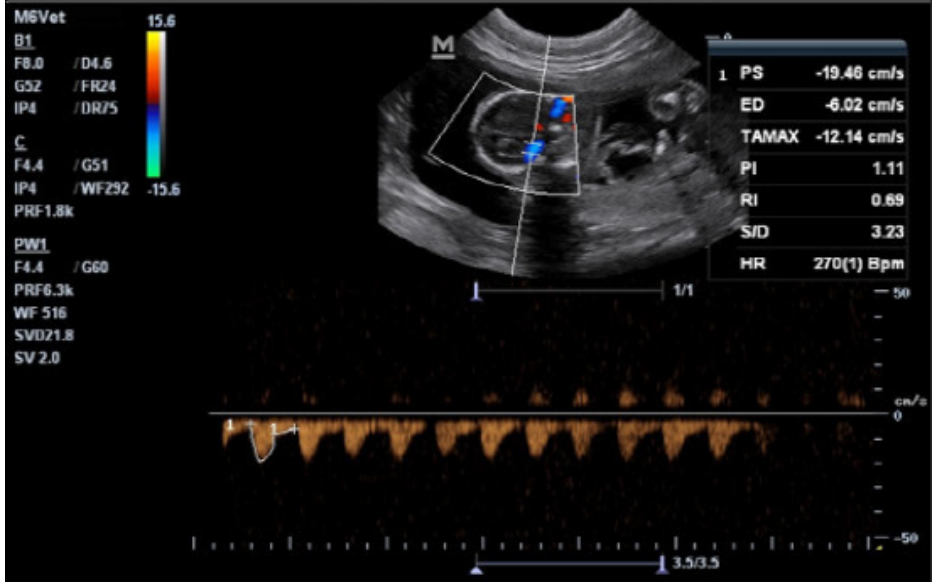
Şekil 11. Sağlıklı gebe köpekte gebeliğin 40-50.günleri arasında umbilikal arterin spektral Doppler ile incelenmesi (22).

Pati ve ark. (23) sağlıklı gebe, gebe olmayan ve pyometra semptomları gösteren köpeklerde uterin arter hemodinamik parametrelerini karşılaştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; sağlıklı gebe köpeklerde uterin arter PSV ve EDV değerlerinin gebeliğin ilerlemesi ile birlikte giderek arttığını ve bu değerlerin gebe olmayan köpeklerden fazla, pyometra semptomları gösteren köpeklerden ise düşük olduğunu kaydetmişlerdir. Gebe olan köpeklerde uterin arter RI değerinin; gebe olmayan köpeklerden daha az, pyometra semptomları gösteren köpeklerden ise daha fazla olduğu belirtilmiştir. Ayrıca gebe olmayan köpekler ve gebe köpekler, pyometra grubuna kıyasla uterin arterde daha düşük kan akım hızını sahip olduğu bildirilmiştir.

Da Silva Leitão ve ark. (24) gebeliğin son 1/3 ünde stres altındaki fetüslerde maternal-fetal damarların hemodinamik özelliklerini belirlemek ve aralarındaki ilişkiyi incelemek için gebeliğin 50-54. ve 55-60. günleri arasında gerçekleştirdikleri çalışmada; gebelik süresi arttıkça umbilikal arterin RI ve PI değerlerinde artış gösterdiği bildirilmiştir (Şekil 12). Orta serebral arter ve internal karotis arter için ise gebelik süresi arttıkça PI, RI ve S/D değerlerinde azalma gözlenmiştir (Şekil 13).

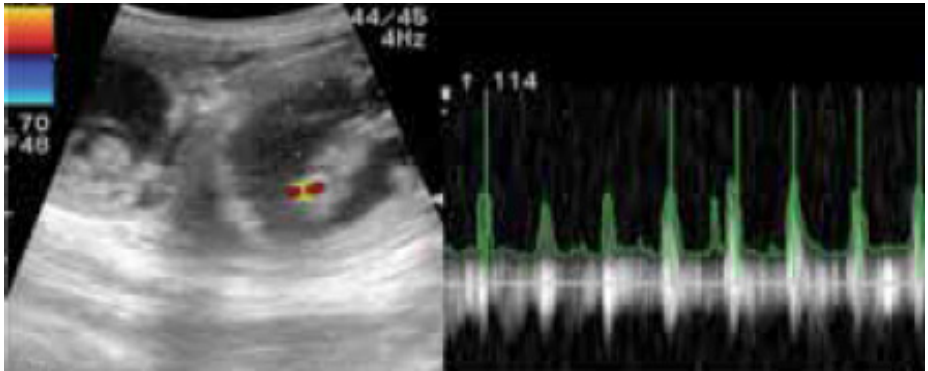


Şekil 12. Gebeliğin son 1/3'ünde fetal stres altındaki gebe köpekte umbilikal arterin spektral Doppler ile incelenmesi (24).

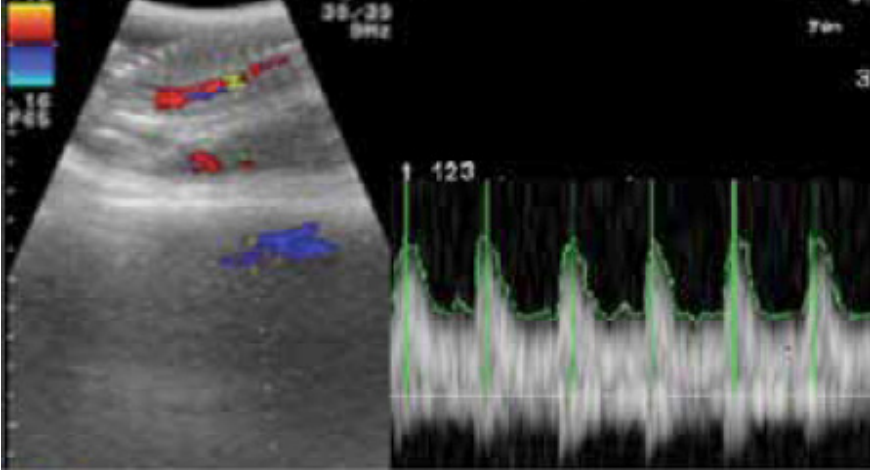


Şekil 13. Gebeliğin son 1/3'ünde fetal stres altındaki gebe köpekte orta serebral arterin spektral Doppler ile incelenmesi (24).

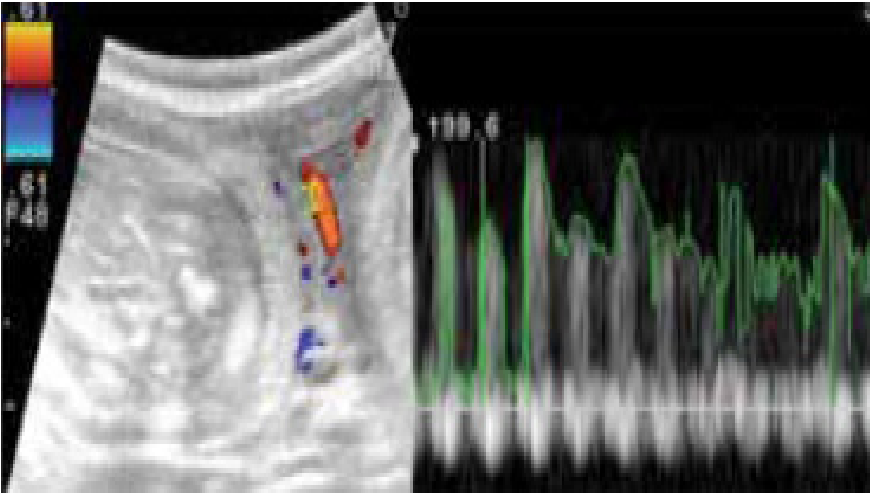
Umamageswari ve ark. (25) gebeliğin 5 ve 8. haftaları arasında sağlıklı gebe köpeklerde uterin ve umbilikal arterlerdeki kan akışını değerlendirmek için gerçekleştirdikleri çalışmada; gebeliğin 5-8. haftaları arasında umbilikal arter (Şekil 14), fetal aorta (Şekil 15) ve uteroplasental arter (Şekil 16) PSV ve EDV değerlerinde kademeli bir artış, RI ve PI değerlerinde kademeli azalma gözlemlendiğini bildirmişlerdir.



Şekil 14. Köpeklerde gebeliğin 5-8 haftaları arasında umbilikal arter spektral Doppler ile incelenmesi (25).



Şekil 15. Köpeklerde gebeliğin 5-8 haftaları arasında fetal aortanın spektral Doppler ile incelenmesi (25).



Şekil 16. Köpeklerde gebeliğin 5-8 haftaları arasında uteroplazental arterin spektral Doppler ile incelenmesi (25).

Giannico ve ark. (26) normal doğumdan önce fetal kalp atım hızının doğumun belirtici olarak kullanılabilirliğini araştırmak ve fetal kalp atımı ile umbilikal arter RI değeri kombinasyonlarının doğum zamanını doğru şekilde tahmin edilemeyeceğinin belirlenmesi için gerçekleştirdikleri çalışmada; fetal kalp atımı ve umbilikal arter RI değeri antepartum 120 ile 96 saat, 72 ile 48 saat, 24 ile 12 saat ve 12 ile 1 saat olacak şekilde doppler ultrason ölçümleri

gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmada fetal kalp atımı ile umbilikal arter RI arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Doğum yaklaştıkça umbilikal arter RI değerinde düşüş görülürken maksimum ve minimum fetal kalp atımları arasında daha büyük salınımlar görüldüğü bildirilmiştir. Fetal kalp atımı ve umbilikal arter RI parametrelerinin birlikte değerlendirilmesi ile doğumun zamanını daha doğru şekilde tahmin edebileceğini ifade etmişlerdir.

De Freitas ve ark. (27) normal ve anormal fetüsün uteroplasental ve umbilikal arter kan akışını karşılaştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada; Anormal fetüslerde 2. ve 4. haftalar arasında embriyonik rezorpsiyon ile birlikte gebelik kesesinin yapısında bozulmalar ve uteroplasental arter RI ve PI değerlerinde artış gözlendiğini bildirmişlerdir.

Batista ve ark. (28) küçük ırk köpeklerde normal gebeliğin ikinci yarısında uterin arter kan akımını değerlendirmek ve RI referans değerlerini belirlemek için gerçekleştirdikleri çalışmada; sağ ve sol uterin arterler arasında önemli derecede fark gözlenmediğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada PSV ve EDV değerlerinde kademeli bir artış gözlenirken RI değerinde azalma tespit etmişlerdir. PSV ve EDV değerleri yavru boyutundan etkilenmesine rağmen, RI değerinin etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Roos ve ark. (29) farklı büyüklükteki gebe köpekler arasındaki farklılıkları değerlendirmek ve anormal gebelikleri incelemek için gerçekleştirdikleri çalışmada; gebe olmayan köpeklere kıyasla gebe köpeklerde RI ve PI değerlerinin önemli şekilde düşük seyrettiğini bildirmişlerdir. Ancak köpeklerin büyüklükleri RI ve PI değerlerine etki etmediğini ifade etmişlerdir.

6. Kedilerde Yapılan Çalışmalar

Sağlıklı gebe kedilerde uterin arter, umbilikal arter, fetal aorta ve fetal internal karotis arterlerinin Doppler parametrelerini tanımlamak ve fetal kalp atış hızını araştırmak için Blanco ve ark.'ın (30) gerçekleştirdikleri çalışmada; uterin arterlerinin renkli ve puls dalga doppler değerlendirmesi çiftleşmeden itibaren her 10 günde bir gerçekleştirilmiştir. Uterin arter PSV ve EDV değerleri doğuma kadar sürekli artış, RI değerinde ise sürekli azalma gözlendiğini görülmüştür. Umbilikal arterlerde 40. günden itibaren RI değeri azalırken, PSV ve EDV değerlerinde artış gözlenmiştir. Fetal aort ve internal karotis arterlerinde 40. günlerden itibaren RI değerinde azalma, PSV ve EDV değerlerinde aşamalı bir artış görüldüğü kaydedilmiştir. Fetal kalp hızı ilk olarak 20. günde belirlenip 40. güne kadar artış göstermiş, 40. günden doğuma kadar fetal kalp atım hızında azalma gözlenmiştir.

Blanco ve ark. (31) kedilerde anormal gebelik durumunda uterus ve umbilikal arterlerin RI ve S/D oranını belirlemek için gerçekleştirdikleri çalışmada; incelemeleri gerçekleştirmek amacı ile gruplardan biri 24 saat ara ile 2 defa olmak üzere 10 mg/kg dozunda aglepriston uygulanmış, diğer grup ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Aglepriston uygulanan kedilerde 2. günden itibaren uterin arter RI ve S/D değerlerinde artış, kontrol grubunda ise azalma belirlenmiştir. Umbilikal arterde yapılan değerlendirmelere göre RI değeri aglepriston uygulanan kedilerde 6. günden itibaren değişmeden kalırken kontrol grubunda deney süresi boyunca giderek azalma göstermiştir. Ayrıca 8. günde umbilikal arter S/D oranı kontrol grubunda giderek azalırken aglepriston uygulanan grupta azalma gözlenmemiştir. Fetal kalp hızı aglepriston uygulanan grupta kontrol grubuna göre daha yüksek şekilde gözlenmiştir.

Uçmak ve ark. (32) sağlıklı gebe kedilerde fetal aort, fetal vena kava, umbilikal ve uteroplental arter doppler indekslerini ve değişikliklerini değerlendirmek için gebeliğin 21-60. günleri arasında gerçekleştirdikleri çalışmada; fetal aortun RI değerinde düşüş eğilimi, fetal vena kava PI değerinin nispeten sabit olarak RI değerinde ise artış kaydedilmiştir. Uteroplental arter PI ve RI değerlerinde azalma, umbilikal arter PI ve RI değerlerinde gebeliğin 36. gününe kadar artma sonrasında ise azalma olduğu belirtilmiştir.

Blanco ve ark. (33) erken gebelik döneminde pyometra belirtileri gösteren gebe kedilerin doppler parametreleri üzerindeki etkisini açıklamak için gerçekleştirdikleri çalışmada; uterin arter RI değeri pyometralı grupta sağlıklı gebe kedilere göre daha yüksek olarak ölçüldüğünü ifade etmişlerdir.

Pereira ve ark. (34) sıklık ve gebe kedilerde uterin arter RI ve PI değerlerinin kornularda bulunan yavru sayısına göre karşılaştırarak gerçekleştirdikleri çalışmada; fazla sayıda yavru bulunan kornuda uterin arter PI ve RI değerleri az sayıda yavru bulunan kornuya kıyasla daha düşük olarak gözlendiğini bildirmiştir. Az sayıda yavru bulunan kornuda gebeliğin 14. gününde uterin arter RI ve PI değerlerinde azalma kaydetmişlerdir.

7. Sonuç

Evcil hayvan gebeliklerinde Doppler ultrasonografi, olası abort riskine karşı zamanında müdahale, uzamış gebeliklerde veya güç doğumlarda sezaryen zamanına karar verme gibi çeşitli alanlarda uygulama sahası bulmaktadır. Ayrıca fetal ve/veya maternal kısımlarda anormal vasküler plasenta gelişiminin takibi, fetal kalp atış hızının izlenmesi, fetal stres durumunun tayini ve yaklaşan doğum göstergelerinin izlemi Doppler ultrasonografi ile mümkün olmaktadır.

Bununla birlikte herhangi bir olumsuz durumun vermiş olduğu işaretler Doppler ultrasonografi ile erken teşhisi mümkün olmaktadır. Geçmiş yıllarda insan fetüsleri kadar klinik olarak rutin incelenmeyen evcil hayvan fetüslerinde çoğu riskli durumlar gebelik anında ortaya çıkmakta ve gerekli önlemler için geç kalılabilmekteydi. Fakat son zamanlarda yapılan periyodik muayenelerle riskli gebelikler zamanında belirlenmektedir.

Kaynaklar

1- Beltrame RT, Covre C, Littig LB, de Barros Martins A, Quirino CR, Junior AB, Da Costa RLD. Transrectal Doppler Sonography of Uterine Blood Flow in Ewes during Pregnancy. *Theriogenology* 2017; 91: 55-61.

2- Vasquez-Hidalgo MA, Perry GA, Vonnahme KA. Hemodynamics of the Umbilical Artery and Conceptus-Related Measurements in Singleton and Twin Pregnancies in Ewes. *Reprod Biol* 2020; 20(2): 132-9.

3- Domínguez E, Del Álamo MR, Novellas R, Espada Y, Santos L, García F, Fresno L. Doppler Evaluation of the Effects of Propofol, Etomidate and Alphaxalone on Fetoplacental Circulation Hemodynamics in the Pregnant Ewe. *Placenta* 2013; 34(9): 738-44.

4- Stankiewicz T, Błaszczuk B, Udała J, Chundekkad P. Morphometric Measurements of the Umbilical Cord and Placentomes and Doppler Parameters of the Umbilical Artery through Ultrasonographic Analysis in Pregnant Sheep. *Small Rumin Res* 2020; 184: 106043.

5- Elmetwally MA, Rohn K, Meinecke-Tillmann S. Doppler Sonography is a Useful Method to Assess the Effects of Maternal Anxiety on Intrauterine Fetal Growth in Pregnant Sheep and Goats. *Qual Prim Care* 2016; 24(4): 137-45.

6- Santos VJC, Rodriguez MGK, Silva PDAD, Mariano RSG, Taira AR, Padilha-Nakaghi LC, Vicente WRR. Assessment of Dopplerfluxometric Indices of Maternal-Fetal Structures in Pregnant Ewes. *Animal Reproduction* 2021; 18(2): e20210002.

7- Bubols GB, Zielinsky P, Piccoli Jr AL, Nicoloso LH, Vian I, Moro AM, Garcia SC. Nitric Oxide and Reactive Species are Modulated in the Polyphenol-Induced Ductus Arteriosus Constriction in Pregnant Sheep. *Prenat Diagn* 2014; 34(13): 1268-76.

8- Chandolia RK, Singh G, Pandey AK, Kumari S. Evaluation of Blood Flow in Middle Uterine Artery by Color Doppler Ultrasonography in Uterine Torsion Buffaloes Before and After Detorsion. *Buffalo Bull* 2018; 37(4): 495-502.

9- Abdelnaby EA. Hemodynamic Changes in Arterial Flow Velocities throughout the First Six Months of Pregnancy in Buffalo Heifers by Doppler Ultrasonography. *Asian Pac J Reprod* 2020; 9(4): 204-10.

10- Hassan M, Arshad U, Bilal M, Sattar A, Avais M, Bollwein H, Ahmad N. Luteal Blood Flow Measured by Doppler Ultrasonography during the First Three Weeks After Artificial Insemination in Pregnant and Non-Pregnant Bos Indicus Dairy Cows, *J Reprod Dev* 2019; 65(1): 29-36.

11- Selvaraju M, Prakash S, Palanisamy M, Visha P, Chitra, R. Vascular Perfusion of the Preovulatory Follicle and its Relationship in Pregnancy Establishment during Natural and Induced Estrus in Buffaloes. *Indian J Anim Res* 2021; 1-5.

12- Kim-Egloff C, Hässig M, Bruckmaier R, Bleul U. Doppler Sonographic Examination of Uterine and Placental Perfusion in Cows in the Last Month of Gestation and Effects of Epidural Anesthesia and Isoxsuprine. *Theriogenology* 2016; 85(5): 986-98.

13- Nanas I, Barbagianni M, Dadouli K, Dovolou E, Amiridis GS. Ultrasonographic Findings of the Corpus Luteum and the Gravid Uterus during Heat Stress in Dairy Cattle. *Reprod Domest Ani*, 2021; 56(10): 1329-41.

14- Waldvogel D, Bleul U. Effect of Xylazine, Isoxsuprine, and Lidocaine on Doppler Sonographic Uterine and Umbilical Blood Flow Measurements in Cows during the Last Month of Pregnancy. *Theriogenology* 2014; 81(7): 993-1003.

15- Klewitz J, Struebing C, Rohn K, Goergens A, Martinsson G, Orgies F, Sieme H. Effects of Age, Parity, and Pregnancy Abnormalities on Foal Birth Weight and Uterine Blood Flow in the Mare. *Theriogenology* 2015; 83(4): 721-9.

16- Zoller D, Lüttgenau J, Steffen S, Bollwein H. The Effect of Isosorbide Dinitrate on Uterine and Ovarian Blood Flow in Cycling and Early Pregnant Mares: A Pilot Study. *Theriogenology* 2016; 85(9): 1562-7.

17- Campos IS, de Souza GN, Gomes GM, Pinna AE, Ferreira AM. Spectral Doppler Ultrasound in the Placental Development of Mangalarga Marchador Mares. *Theriogenology* 2022; 180: 171-5.

18- Sielhorst J, Roggel-Buecker U, Neudeck KC, Kahler A, Rohn K, Luettgenau J, Sieme H. Effect of Acetylsalicylic Acid on Uterine Blood Flow, Gestation Length, Foal Birth Weight and Placental Weight in Pregnant thoroughbred Mares—a Clinical Pilot Study. *JEVS* 2022; 118: 104107.

19- Ousey JC, Kölling M, Newton R, Wright M, Allen WR. Uterine Haemodynamics in Young and Aged Pregnant Mares Measured Using Doppler Ultrasonography. *EJV* 2012; 44: 15-21.

20- Resende HL, Carmo MT, Ramires Neto C, Alvarenga MA. Determination of Equine Fetal Sex by Doppler Ultrasonography of the Gonads. *EVJ* 2014; 46(6): 756-8.

21- Ferreira JC, Ignácio FS, Meira CD. Uterine Vascular Perfusion and Spectral-Doppler Measurements During Early Gestation in Mares: New Concepts of Evaluation. *Anim Reprod Sci* 2010; 281-3.

22- Gaikwad SM, Gulavane SU, Kumbhar UB, Shelar RR, Chaudhari RJ, Ribeiro RA. Doppler Evaluation of Maternal Vessels in Normal Gestation and Threatened Abortion in Canines. *Ir Vet J* 2020; 73(1): 1-9.

23- Pati P, Mishra PC, Patra BK, Jena GR. Haemodynamic Changes in Uterine Artery in Pregnant, Nonpregnant and Pyometra Affected Bitches. *J Entomol Zool Stud* 2021; 9(1): 558-60

24- Da Silva Leitão KR, de Carvalho PVS, da Silva Barbosa MAP, Sousa FDCA, Marques DC, Alves JDJRP, Alves FR. Fetal Distress During the Last Third of Pregnancy in Bitches-Evaluation by Doppler Ultrasound Imaging. *Acta Sci Vet* 2022; 50: 1871.

25- Umamageswari J, Sridevi P, Joseph C. Doppler Indices of Umbilical Artery, Utero-placental Artery and Fetal Aorta during Normal Gestation in Bitches. *Indian J Anim Res* 2018; 39(1): 41-3.

26- Giannico AT, Garcia DAA, Gil EMU, Sousa MG, Froes TR. Assessment of Umbilical Artery Flow and Fetal Heart Rate to Predict Delivery Time in Bitches. *Theriogenology* 2016; 86(7): 1654-61.

27- De Freitas LA, Mota GL, Silva HVR, Carvalho CF, da Silva LDM. Can Maternal-Fetal Hemodynamics Influence Prenatal Development in Dogs? *Anim Reprod Sci* 2016; 172: 83-93.

28- Batista PR, Gobello C, Rube A, Barrena JP, Re NE, Blanco PG. Reference Range of Gestational Uterine Artery Resistance Index in Small Canine Breeds. *Theriogenology* 2018; 114: 81-4.

29- Roos J, Aubanel C, Niewiadomska Z, Lannelongue L, Maenhoudt C, Fontbonne A. Triplex Doppler Ultrasonography to Describe the Uterine Arteries During Diestrus and Progesterone Profile in Pregnant and Non-Pregnant Bitches of Different Sizes. *Theriogenology* 2020; 141: 153-60.

30- Blanco PG, Rodríguez R, Olguín S, Rube A, Tórtora M, Gobello C. Doppler Ultrasonographic Assessment of Maternal and Fetal Arteries during Normal Feline Gestation. *Anim Reprod Sci* 2014; 146(1-2): 63-9.

31- Blanco PG, Vercellini R, Rube A, Rodríguez R, Arias DO, Gobello C. Evaluation of Feline Uterine and Umbilical Arteries Blood Flow in a Pharmacologically Induced Abnormal Gestation Model. *Theriogenology* 2016; 86(9): 2323-7.

32- Uçmak M, Turna O, Dal GE, Uçmak ZG, Gündüz MC. Changes in Doppler İndices throughout Pregnancy in Queens. *Acta Veterinaria Brno* 2020; 89(1): 61-7.

33- Blanco PG, Rube A, López Merlo M, Batista PR, Arioni S, López Knudsen I, Gobello C. Uterine Two-Dimensional and Doppler Ultrasonographic Evaluation of Feline Pyometra. *Reprod Domest Anim* 2018; 53: 70-3.

34- Pereira BS, Freire LMP, Pinto JN, Domingues SFS, Silva LDM. Triplex Doppler Evaluation of Uterine Arteries in Cyclic and Pregnant Domestic Cats. *Anim Reprod Sci* 2012; 130(1-2): 99-104.

CHAPTER XIII

VETERİNER HEKİMLİĞİNDE YENİ BİR ADIPOKİN: APELİN HORMONU

A New Adipokine in Veterinary Medicine: Apline Hormone

**Tünay KONTAŞ AŞKAR^{1*} & Şinasi AŞKAR² & Şeyma Nur
ERCAN³ & Bülent ERELİ⁴**

¹*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çankırı, Türkiye
E-mail: tunaykontas@yahoo.com
ORCID: 0000-0002-1121-8799*

²*Çankırı Karatekin Üniversitesi Eldivan Sağlık Hizmetleri Yüksekokulu,
Çankırı, Türkiye, E-mail: sinasia@gmail.com
ORCID: 0000-0002-7836-3798*

³*Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve
Diyetetik Bölümü, Çankırı, Türkiye E-mail: seymanurd06@gmail.com,
ORCID: 0000-0002-1533-4973*

⁴*Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri
Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, Çankırı,
Türkiye E-mail: bereli@karatekin.edu.tr
ORCID: 0009-0001-5273-5311*

1.Giriş

Yağ doku canlı vücudunun en büyük enerji deposudur. Yağ doku, sadece adipositlerden oluşan bir yağ deposu değildir, aynı zamanda adipokin olarak isimlendirilen çok sayıda hormon salgılayan aktif bir dokudur. Adipokinler adipositler ve adipositler arası yağ doku hücrelerinden salgılanır. Adipokinlerin endokrin, parakrin ve otokrin etki göstermeleri nedeni ile yağ doku bir endokrin organ olarak da kabul edilmektedir (1).

Adipokinler; karbonhidrat ve lipid metabolizmasının, enerji dengesinin düzenlenmesi ve yangının önlenmesi gibi birçok biyolojik fonksiyona sahiptirler (2).

Adipokinler genel olarak üç gruba ayrılır:

1. Yangıda rol alan adipokinler veya adipositokinler (IL-10, IL-8, IL-6, IL-1, TNF-alfa, TGF-beta gibi)
2. Akut faz cevapta rol alan adipokinler (PAI-1, ASP, serum amiloid A gibi)
3. Karbonhidrat metabolizması ile ilişkili olan adipokinler (leptin, adiponektin, visfatin, resistin gibi) (1,2).

Ayrıca kemerin, visfatin, omentin, RBP4, vaspin ve apelin gibi fonksiyonları tam belirlenmemiş ve yeni keşfedilmiş adipokinler de vardır. Apelin hormonu bu yeni keşfedilen adipokinlerden biridir ve enerji metabolizması, kardiyovasküler sistem, insülin duyarlılığı ayrıca vasküler cevaplar üzerinde lokal ve sistemik etkilere sahiptirler (1). Bu bölümde yeni keşfedilen adipokinlerden olan apelin hormonu ve sağlık üzerine etkileri hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

2. Apelin Hormonu

Bir adipokin olan Apelin ilk olarak 1993 yılında apelin reseptörünün bulunmasından sonra, 1998 yılında bu reseptörün endojen ligandı olarak keşfedilmiştir. Apelin preproapelin köken alır. Preproapelin 77 aminoasitten oluşan bir peptittir ve parçalandığında çok sayıda aminoasitlerden oluşan apelin hormonlarını (apelin-36, apelin-19, apelin-17, apelin-15, apelin-13, apelin-12, apelin-11, apelin-10 gibi) oluşturur (3,4).

Preproapelinin C ucu apelin hormonunun reseptöre bağlanması ve biyolojik aktivitesini gösterebilmesi için önemlidir. Çünkü apelin hormonunun reseptörüne bağlanması için preproapelin formlarının C ucu anahtar rol oynar. Ancak apelin reseptörünün aktivasyon için en az 12 C uç kalıntısı içeren apelin formları gerekmektedir. 12 ve daha fazla C uca sahip apelin hormonları (apelin-36, apelin-19, apelin-17, apelin-15, apelin-13 ve apelin-12 gibi) aktiftirler, bundan daha kısa olan peptidler (apelin-11, apelin-10) ise aktif değildir (5).

İnsan, fare ve ratlar üzerinde gerçekleştirilen deneysel çalışmalarla birçok dokuda apelin hormonu ve Apelin reseptörü (APJ)'nin varlığı gösterilmiştir. Apelin hormonunun akciğer, kalp, böbrekler, akciğerler, karaciğer, yağ doku, beyin, adrenal bezler ve plazmada bulunduğu belirlenmiştir (6, 7).

Apelin hormonunun formlarına göre etkileri değişmektedir. 36 aminoasit içeren apelin hormonunun, 13 ve 17 aminoasitten oluşan apelin hormonundan daha zayıf bir biyolojik etkinliğe sahiptir. Apelin-13'ün, N-terminal ucunda piroglutamat rezidüleri bulunması sebebi ile diğer apelin hormonlarından biyolojik aktivitesi daha yüksektir. Apelin-13'ün biyolojik aktivitesi Apelin-17'den 8 kat, Apelin-36'dan ise 60 kat daha etkin olarak belirlenmiştir. Bu nedenle yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğu için bilimsel çalışmalar Apelin-13 üzerinde yoğunlaşmıştır. Apelin-13'ün biyolojik olarak en aktif apelin hormonu olarak kabul edilmesine rağmen, APJ'ye bağlanma affinitesinin apelin-36'nın apelin-13'ten çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (4).

2.1. Apelin Reseptörü (APJ)

1993 yılında Anjiyotensin II Tip I reseptör gen dizilime benzeyen bir gen O'Dowd ve ark. tarafından keşfedildi. 380 aminoasitten oluşan bu gen APJ olarak isimlendirildi ve Tatemato ve ark. (4) tarafından 1998 yılında endojen ligand olarak tanımlandı. G protein bağımlı olan APJ reseptörü yedi transmembran bölgeden oluşmaktadır.

Fare ve sıçan apelin reseptörü insan APJ'sinin aminoasit dizilimiyle büyük benzerlik gösteren 377 aminoasitten oluşur (8). Birçok canlının dokularında apelin reseptörünün geniş dağılım göstermesi, bu hormonun vücutta birçok fizyolojik mekanizmada etkin olacağını göstermektedir. APJ ve Apelin hormonunun karakteristik özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. APJ ve Apelin hormonunun karakteristik özellikleri (9)

	APJ	APELİN
Moleküler Sınıfı	G protein reseptörü	Peptid ligand
Fonksiyonel Antagonist	Apelin 13	-
Aminoasit Sayısı	380	77
Moleküler Ağırlığı (Da)	42,66	8569
mRNA boyutu (bp)	1143	234
Kromozomu	11Q12	X25-26.3

2.2. Apelin Hormonunun Sağlık Üzerine Etkileri

Apelin hormonunun keşfedildikten sonra, öncelikle bu hormonun kardiyovasküler sistem üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik gerçekleştirilen

bilimsel çalışmalarla bu adipokinin; gıda alımı (10) ve sıvı-elektrolit dengesinin düzenlenmesi (11), deneysel ağrı modelleri (12), kemik metabolizması (13) ve oksidatif stres gibi çok sayıda süreçte rol oynadığı belirlenmiştir. Apelin-13, apelin-17 ve apelin-36'nın plazmada bulunan asıl apelin hormonları olduğu gösterilmesine rağmen (14), plazmada apelin hormonu miktarı diğer dokulara göre düşüktür. Bu nedenle apelinin dolaşımında bir endokrin faktör ayrıca nörotransmitter olarak da parakrin bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir (4).

Gıda alımında apelin hormonunun etkilerini ortaya koyan birçok çalışma vardır. Apelin-13 venöz (*iv*) veya santral (*isv*) enjeksiyonunun aç ratlarda besin alımını baskıladığı belirlenmiştir (10). Lv ve ark. (12) apelin hormonunun *iv* olarak uygulanmasının besin alımını etkilemediğini, fakat santral yolla uygulanmasının besin alımını azalttığını göstermişlerdir. Bu durumun Apelin-13'ün, beyinde APJ ve kortikotropin reseptörlerini aktive etmesi ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada ad libitum beslenme uygulanan ratlarda apelin-13 uygulamasından 4 saat sonra besin alımında azalmanın başladığını, fakat aç ratlarda bu etkinin 24 saat sonra ortaya çıktığını da göstermişlerdir.

Uzun süreli apelin-13 (*isv*) uygulamasının farelerde gıda alımını ve vücut ağırlığını belirgin olarak arttırdığı başka bir çalışma ile gösterilmiştir (15). Başka bir çalışmada ise uzun süreli apelin-13 uygulamasının gıda alımında üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (11). Çalışmalarda ortaya konan çelişkili sonuçların çalışmalarda kullanılan deney hayvanı türü, apelinin moleküler tipine, apelin hormonunun uygulama şekli, dozu ve zamanına bağlı olabileceği bildirilmiştir (1).

Apelin hormonu obez ve yüksek kan insülin düzeyine sahip insan ve farelerde etki gösterdiği belirlenen yeni bir adipokindir (16). Beden kitle indeksi ile kan apelin düzeyleri arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (17). Farelerde glikoz homeostasisin düzenlenmesinde, apelin hormonunun insülin sekresyonunu inhibe ederek rol oynadığı düşünülmekle birlikte, apelinin insülin sekresyonu üzerindeki etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır (18).

Obez fareler üzerinde yapılan bir çalışmada; yüksek kan insülin düzeyine sahip farelerde apelin düzeyinin anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada düşük insülin düzeylerine sahip farelerde adipositlerden apelin salgılanmasının azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada insülin gibi apelin hormonu salınımının da açlık ile inhibe edilirken, besin alımını takiben kan apelin düzeyinin hızla normal seviyeye ulaştığı da belirlenmiştir (16). Ayrıca başka bir çalışmada; farelerde apelin-36'nın glikoz alımı ile uyarılan insülin sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (18).

Diyet yaparak kilo kaybeden obez bireylerde ise 3 ay sonra hem plazmada hem de yağ dokuda apelin düzeylerinin düştüğü belirlenmiştir (19). Benzer şekilde, yüksek yağ diyeti ile obezite oluşturulan ratlarda santral apelin-13 enjeksiyonlarının besin alımını azalttığı gösterilmiştir (20).

Apelin hormonunun sıvı homeostazisinin düzenlenmesindeki etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çeşitli çalışmalarla santral ve periferik apelin uygulamalarının sıvı alımını arttırdığı veya azalttığına yönelik çelişkili sonuçlar ortaya konulmuştur (8). Reaux ve ark. (7) susuz bırakılan farelerde *icv* apelin-13 uygulamasının su alımını arttırdığını ve buna bağlı olarak apelin-13'ün sıvı homeostazisinin düzenlenmesinde etkili olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca ratlara intraperitoneal (*ip*) ve *icv* apelin-13 uygulamalarının su tüketimini arttırdığı bildirilmiştir (6, 11).

Normal koşullarda hipotalamustan salgılanan apelinin vasopressin hormonu salınımını inhibe ettiği, susuzluk durumunda ise bu etkinin apelin salınımının azaltılması ile ortadan kaldırıldığı düşünülmektedir. Mikrodiyaliz yöntemiyle hipotalamusa apelin-13 uygulamasının somatodendritik hücrelerden ADH hormonu salınımını uyardığı gösterilmiştir (22). Bu çalışmanın sonuçları apelinin su tüketimini arttırdığını göstermektedir. Ayrıca De mota ve ark. (23) apelinin hipotalamusta vazopressinin salgılanmasını inhibe ederek sıvı dengesinin düzenlenmesine etkisi olduğunu belirlemiştir.

Ayrıca bazı çalışmalarda; susuz bırakılmış farelerde apelin hormonu enjeksiyonlarının (periferik ve santral) su tüketimini artırdığı (6,11), yapılan bir başka çalışmada ise, apelin-13'ün 24 saat susuz bırakılan ratlarda su tüketimini azalttığı rapor edilmiştir (7). *İn vitro* olarak gerçekleştirilen başka bir çalışmada rat hipotalamus ekstraslarında apelin-13 uygulamasının vazopressin ve kortikotropin salgılatıcı hormon salınımını uyardığı belirlenmiştir (11). Bu durum vücudun strese karşı verdiği endokrin yanıt ile, bu hormonların seviyelerinde meydana gelen artış ile pozitif ilişkili olduğunu göstermektedir.

Apelin hormonunun, yeme davranışı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada; *icv* apelin-12 enjekte edilen ratlarda gece besin alımının azaldığı, gündüz düşük dozlarda yapılan uygulamaların besin alımında değişiklik yapmadığı rapor edilmiştir (21).

3. Sonuç

Yağ doku bir enerji deposu olmasının yanı sıra endokrin bir organ olarak da fonksiyonu bulunmaktadır. Ayrıca yağ doku birçok adipokini dolaşıma göndermek üzere üretmektedir. Apelin hormonu, yağ doku tarafından

sentezlenen ve onun endokrin fonksiyonlarına etki eden yeni keşfedilen bir adipokindir. Birçok organ sistemlerinde özellikle kardiyak kontraktilite, kan basıncı ve vasküler tonus, ön hipofiz fonksiyonları, apoptoz, inflamasyon, besin alımı, sıvı-elektrolit dengesinin ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi birçok önemli mekanizmada rol alan bir hormondur. Fakat yeni keşfedilmiş bir adipokin olması sebebi ile, apelinin sağlık üzerine etkilerine ilişkin fizyolojik mekanizmaların aydınlatılması ve hastalıklardaki değişimlerinin ortaya konulması için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- 1) Sandal S, Tekin S. Adipoz dokudan salgılanan bir hormon: Apelin, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 2013; 1: 55-62.
- 2) Emral R. Adiponektin ve Diğer Sitokinler". Türkiye Klinikleri Dergisi, 2006; 26: 409-420
- 3) Ladeiras-Lopes R, Ferreira-Martins J, Leite-MoreiraAF. The apelinergic system: The role played in human physiology and pathology and potential therapeutic applications. Arquivos Brasileiros De Cardiologia 2008; 90
- 4) Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. Biochem Biophys Res Commun. 1998; 251: 471-6.
- 5) Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. "The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism". Regul. Pept. 2001; 99 (2-3): 87-92.
- 6) Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. J. Neurochem. 2000; 74 (1): 34-41
- 7) Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, Corvol P, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. Journal of Neurochemistry 2001;77(4): 1085-1096.
- 8) Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin Receptor Nomenclature, Distribution, Pharmacology, and Function. Pharmacological Reviews 2010; 62
- 9) Klein MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine". Pharmacol. Ther. 2005;107 (2): 198-211.

10) Sunter D., Hewson, AK., Dickson, SL. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat. *Neurosci Lett*, 2003;353 (1), 1- 4.

11) Taheri S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., Dhillon, W., et al. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002;291 (5), 1208– 1212.

12) Lv SY, Yang YJ, Qin YJ, Mo JR, Wang NB, Wang YJ, Chen Q. Central apelin-13 inhibits food intake via the CRF receptor in mice. *Peptides* 2012; 33(1): 132-138.

13) Tang SY, Xie H, Yuan LQ, Luo XH, Huang J, Cui RR, Zhou HD, Wu XP, Liao EY. Apelin stimulates proliferation and suppresses apoptosis of Mouse osteoblastic cell line MC3T3-E1 via JNK and PI3- K/Akt signaling pathways. *Peptides*. 2007; 28(3): 708-18.

14) Beltowski J: Apelin and visfatin: unique “beneficial” adipokines upregulated in obesity? *Med Sci Monit*; 2006, 12: RA112-RA119.

15) Valle, A., Hoggard, N., Adams, AC., Roca, P., Speakman, JR. Chronic central administration of apelin-13 over 10 days increases food intake, body weight, locomotor activity and body temperature in C57BL/6 mice. *J Neuroendocrinol*. 2008; 20 (1), 79-84.

16) Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 2005; 146 (4): 1764–71

17) Heinonen, M. V., Purhonen, A. K., Miettinen, P., Pääkkönen, M., Pirinen, E. et al Apelin, orexin-A and leptin plasma levels in morbid obesity and effect of gastric banding. *Regul. Pept.* 2005; 130(1-2): 7-13.

18) Sorhede Winzell M, Magnusson C, Ahrén B. “The apj receptor is expressed in pancreatic islets and its ligand, apelin, inhibits insulin secretion in mice”. *Regul. Pept.* 2005; 131 (1–3): 12–17.

19) Castan-Laurell I, Vitkova M, Daviaud D, et al. Effect of hypocaloric diet-induced weight loss in obese women on plasma Apelin and adipose tissue expression of Apelin and APJ. *Eur J Endocrinol*. 2008; 158: 905- 10.

20) Clarke KJ, Whitaker KW, Reyes TM. Diminished metabolic responses to centrally-administered apelin-13 in diet-induced obese rats fed a high-fat diet. *J Neuroendocrinol*. 2009; 21:83-89.

21) O’Shea M, Hansen MJ, Tatemoto K, Morris MJ. Inhibitory effect of apelin-12 on nocturnal food intake in the rat. *Nutr Neurosci* 2003; 6 (3): 163–7.

22) Tobin VA, Bull PM, Arunachalam S, O'Carroll AM, Ueta Y, Ludwig M. The Effects of Apelin on the Electrical Activity of Hypothalamic Magnocellular Vasopressin and Oxytocin Neurons and Somatodendritic Peptide Release. *Endocrinology* 2008;149(12): 6136-6145.

23) De Mota N, Reaux-Le Goazigo A, El Messari S, et al. Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci.* 2004; 101:10464-69.