



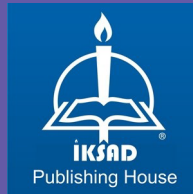
SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-III

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN



SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-III

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN

YAZARLAR

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL

Doç. Dr. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM

Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ESER

Dr. Öğr. Üyesi Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE

Dr. Öğr. Üyesi Barış Can GÜZEL

Dr. Öğr. Üyesi Çağrı KALE

Dr. Öğr. Üyesi Fatma İŞBİLİR

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YILDIZ

Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT

Dr. Öğr. Üyesi Nurettin ÇANAKOĞLU

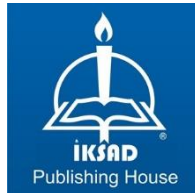
Dr. Öğr. Üyesi Osman BULUT

Dr. Ali Osman TURGUT

Arş. Gör. Mahsum BAŞAK

Veteriner Hekim Berivan KAPLAN

Zir. Müh. Gökhan GÜNDOĞDU



Copyright © 2023 by iksad publishing house
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or
transmitted in any form or by
any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical
methods, without the prior written permission of the publisher,
except in the case of
brief quotations embodied in critical reviews and certain other
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic
Development and Social
Researches Publications®
(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)
TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75
USA: +1 631 685 0 853
E mail: iksadyayinevi@gmail.com
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2023©
ISBN: 978-625-367-499-1
Cover Design: İbrahim KAYA
December / 2023
Ankara / Türkiye
Size= 16x24cm

Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluğu da yazarlara aittir.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN,
Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN, Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN.....1

BÖLÜM 1

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Veteriner Hekim Berivan KAPLAN
Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN.....3

BÖLÜM 2

KEDİLERDE SIKLIKLA KARŞILAŞILAN VE ANEMİYLE SEYREDEN HASTALIKLAR

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL
Arş. Gör. Mahsum BAŞAK.....13

BÖLÜM 3

KEDİ VE KÖPEKLERDE TORAKA-LUMBAL VERTEBRA KIRIK VE LUKSASYONLARI

Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN.....27

BÖLÜM 4

SPERMA KALİTESİNİ ETKİLEYEN GENETİK MARKERLERİN BELİRLENMESİNDE GENOM-BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARININ ÖNEMİ

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ESER.....45

BÖLÜM 5

SÜPERANTİJENLERİN ROLÜ

Dr. Öğr. Üyesi Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE.....59

BÖLÜM 6

KEÇİLERDE ÜST SOLUNUM SİSTEMİNİN PLASTİNASYON UYGULAMALARI

Dr. Öğr. Üyesi Barış Can GÜZEL

Dr. Öğr. Üyesi Fatma İŞBİLİR.....79

BÖLÜM 7

TÜRKİYE VE DÜNYA'DA KARMA YEM SEKTÖRÜ

Ziraat Müh. Gökhan GÜNDOĞDU

Dr. Öğr. Üyesi Çağrı KALE.....93

BÖLÜM 8

ANTI-MÜLLERIAN HORMON VE ANTRAL FOLİKÜL SAYISI İLE EMBRİYO ÜRETİMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YILDIZ.....105

BÖLÜM 9

DERMATOFİTOZİSLERE GENEL BAKIŞ

Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT

Doç. Dr. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM.....123

BÖLÜM 10

REKOMBİNANT AŞI TEKNOLOJİLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Nurettin ÇANAKOĞLU.....137

BÖLÜM 11

KEDİ VE KÖPEKLERDE KERATOKONJUKTİVİTİS SIKKA HASTALIĞI VE SAĞALTIM SEÇENEKLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Osman BULUT.....163

BÖLÜM 12

SÜTÇÜ SIĞIRLARDA GENOMİK SELEKSİYON

Dr. Ali Osman TURGUT.....179

ÖNSÖZ

Sayın Akademisyenler ve Kıymetli okurlarımız,

"Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Akademik Çalışmalar ve Teorik Bilgiler III" isimli bu kitabımız çeşitli akademik çalışmalar ve teorik bilgileri ele alarak farklı 12 adet bölümün bir araya gelmesi ile farklı alanlara ışık tutacak değerli eserlerden oluşmuştur. Kitabın ortaya çıkmasında emeği geçen değerli bilim insanlarına ve yayın aşamasında desteklerinden ötürü İKSAD yayınevi ve ekibine teşekkürü bir borç biliriz. Birbirinden değerli bilimsel çalışmaların ele alındığı **Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Akademik Çalışmalar ve Teorik Bilgiler III** isimli önemli kitabımızı akademi camiası ve siz okurlarımızla paylaşmaktan büyük bir onur duyuyoruz.

Sağlıcakla Kalın.....

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN

BÖLÜM 1

GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Veteriner Hekim Berivan KAPLAN¹

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10401991>

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji (Veteriner) Ana Bilim Dalı, Van, Türkiye, vetberivan@gmail.com, Orcid ID: 0000-0003-1671-8562

²Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Siirt, Türkiye, ozgul.gulaydin@siirt.edu.tr, ORCID ID 0000-0001-8376-2008

*Bu kitap bölümü 1. yazarın '**Köpeklerin Ürogenital Sisteminden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz ve Plazmidik Ampc Direncinin Karakterizasyonu**' başlıklı yüksek lisans tez eserinin bir kısmından özetlenmiştir.

1.GİRİŞ

Bakteriyel etkenlerin beta laktamaz enzimleri sentezlemesi, beta laktam antibiyotiklere karşı en sık rastlanan direnç mekanizmasıdır. Gram pozitif bakteriyel etkenlerde beta laktamaz enzimi ürettiği bilinen en önemli patojenler stafilokoklardır. Gram negatif bakteriler, Gram pozitif bakterilere kıyasla daha fazla beta laktamaz enzimi üretmektedirler. Başta *Enterobacteriaceae* ailesinde sınıflandırılan bakteriyel etkenler olmak üzere diğer Gram negatif bakterilerde beta laktam direncine neden olan mekanizma da beta laktamaz enzimi üretimidir (Bradford, 2001; Pool, 2004).Genişlemiş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) Ambler moleküler sınıf A ve D, Bush grup 2be, 2e ve 2d'de yer alırlar. Bu enzimler oximino beta laktamlara da etkili oldukları için bu ismi almışlardır. GSBL'ler, geniş spektrumlu penicillin, ilk 3 kuşak cephalosporin, monobactam, aztreonam ve kısmen de cefepimin'lerin etkisini inhibe edebilirken; carbapenem, cephamycin ve beta laktamaz inhibitörlerine duyarlıdır (Sader ve ark., 2007). GSBL'lerin önemli bir kısmı TEM, SHV (Bush ve ark., 1995) ve OXA enzimlerinden köken almıştır (Gür, 2005). GSBL enzimleri, özellikle *Klebsiella* türleri ve *E. coli* izolatlarında yaygın olmakla birlikte, bakteriyel etkenler arasında hızla yayılmaları nedeniyle ciddi sorunlara neden olduğu bildirilmiştir (Sanders ve Sanders, 1992).Bu bölümde bakteriyel etkenlerde beta laktamlara karşı gelişen dirençte rol oynayan beta laktamaz enzimlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden bahsedilecektir.

2.GENİŞLEMİŞ SPEKTRUMLU BETA LAKTAMAZ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

GSBL üreten *Enterobacteriaceae* ailesindeki türlerde artan prevalans, klinik izolatlarda bu enzimlerin varlığını doğru tespit edecek laboratuvar test yöntemlerinin kullanılmasını gerektirmiştir. GSBL'lerin belirlenmesinde kullanılan testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü test edilen cephalosporin'lere göre değişmektedir. Bazı araştırmacılar cefpodoxime ile yapılan disk difüzyon duyarlılık testinde ceftazidime, cefotaxime ve ceftriaxone gibi diğer cephalosporin'lerden daha fazla GSBL saptadığını öne sürmüşlerdir (Emery ve Weymouth, 1997). GSBL tespitine duyulan ihtiyaç, GSBL üreten izolatların bu ilaçlarla güvenilir bir şekilde tedavi edilip edilemeyeceğini ayırt etmekle birlikte, cephalosporinler ve aztreonam için kırılma noktalarının belirlenmesini de sağlamıştır. Bu yaklaşım tartışmalı olsa da, Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) ve Klinik Laboratuvar Standartları Komitesi (CLSI) tarafından benimsenmiştir (Kahlmeter, 2008). Sınırlı terapötik sonuç ve farmakokinetik / farmakodinamik verilere dayanarak, cephalosporin minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri ne kadar düşükse başarılı tedavi olasılığının da o kadar yüksek olacağı öngörülmektedir (Paterson ve ark., 2001; Bhavnani ve ark., 2006; Kahlmeter, 2008).

2.1. Tarama Testleri

GSBL'leri tespit etmenin en uygun yolu, disk difüzyon ya da seyreltme yöntemleriyle cefpodoxime, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime veya aztreonam'a karşı duyarlılığın azalmasının saptanmasıyla doğrulama testlerine gidilmesidir. Bu bağlamda, CLSI tarama testlerinde Tablo 1'de gösterilen disk difüzyon çapı ve MİK değerlerinin baz alınarak, GSBL varlığının saptanmasında doğrulama testinin yapılması önerilmiştir (Gibb ve Crichton, 2000; CLSI, 2018).GSBL tarama testlerinin duyarlılığı kullanılan antimikrobiyal ajana göre değişmektedir. NCCLS'ya göre tarama testleri için önerilen beş gösterge cephalosporin'den birden fazlasının kullanımının tespit hassasiyetini arttıracakı belirtilmiştir (NCCLS, 2003). Araştırmalarda tek bir tarama göstergesi kullanılmak istendiğinde, cefpodoxime veya ceftazidimin'in cephalosporin'ler arasındaki en iyi seçeneklerden biri olduğu daha önce yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Ho ve ark., 2000; Mackenzie ve ark., 2002).

Tablo 1. CLSI tarama testinde GSBL tespiti için önerilen inhibisyon zon çapı ve MİK değerleri (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli*, ve *P. mirabilis* için) (CLSI, 2018).

Antimikrobiyal madde	Disk difüzyon direnç eşik değeri (mm)	MİK (µg/ml)
Cefotaxime	≤ 27	≥ 2
Ceftyroxone	≤ 25	≥ 2
Ceftazidimine	≤ 22	≥ 2
Cefpodoxime	≤ 17	≥ 8
Aztreonam	≤ 27	≥ 2

2.2. Doğrulama Testleri

GSBL'ların fenotipik doğrulama testleri, clavulanic acid ve bir gösterge cephalosporin arasındaki sinerjinin tespit edilmesi esasına dayanmaktadır (Özsoy, 2001; Livermore, 2001). GSBL doğrulamasında kullanılan birçok laboratuvar test yöntemi bulunmasına karşın bunlardan bazıları rutin teşhis için daha pratik seçenekler sunmaktadır (Dağlar ve Öngüt, 2012).

2.2.1. Kombine Disk Yöntemi

Kombine disk yöntemi, clavulanic acid içeren ve içermeyen cephalosporin disklerinin oluşturduğu üreme inhibisyon zon çaplarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır (Carter ve ark., 2000). Bu testin yapılışında, 10 µg clavulanic acid eklenmiş ve eklenmemiş cefotaxime (30µg) veya ceftazidime (30 µg) diskleri kullanılmaktadır. McFarland 0.5 standardında hazırlanmış olan bakteri süspansiyonunun inokule edildiği mueller-hinton agara (MHA) clavulanic asit içeren ve içermeyen sefalosporin antibiyotik disklerinden yerleştirilir. İnkübasyona bırakıldıktan sonra diskler etrafında meydana gelen inhibisyon zon çapları ölçülür. Kombinasyon diskleri etrafında oluşan inhibisyon çapı, clavulanic acid içermeyen disk etrafındaki inhibisyon çapından daha geniş (≥ 5 mm) çıkarsa GSBL pozitif olarak değerlendirilir (Gülay, 2004; CLSI, 2018).

2.2.2. Çift Disk Sinerji Yöntemi

Bir diğer doğrulama testi Jarlier ve ark. (1988)'nin bulduğu çift disk sinerji testidir. Bu yöntemde uygun standartta hazırlanan bakteri süspansiyonu MHA'ya yayıldıktan sonra amoxicillin/clavulanate içeren bir disk besi yerinin merkezine yerleştirilir. Daha sonra oksimino beta laktam antibiyotiklerinden (ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime, aztreonam, cefpodoxime vb.) birini içeren diskler merkezden 30 mm uzak olacak şekilde yerleştirilir. 35°C de bir gece inkübasyondan sonra cephalosporin disklerinden birinin etrafındaki inhibisyon zonu amoxicillin/clavulanate diskine doğru genişlemişse, GSBL pozitif olarak değerlendirilir. Diskler arasındaki mesafenin 15 ya da 20 mm'ye düşürülerek bu testin duyarlılığının artırılabilceği de öne sürülmüştür. Bu yöntemin uygulaması ve yorumlanması kolay olup maliyet olarak da avantajlıdır. Fakat diskler arasındaki mesafenin bir standardının olmaması bu yöntemin bir dezavantajı olarak kabul edilmektedir (Jarlier ve ark., 1988; Thomson ve Sanders, 1992; Coudron ve ark., 1997; Gülay, 2004).

2.2.3. E-Test Yöntemi

E-test GSBL şeritleri, bir kenarında ceftazidim diğer kenarında ise ceftazidime/clavulanate içeren çift taraflı şeritlerdir. Şeridin her iki ucundaki MİK değerleri birbiri ile oranlandığında ≥ 8 kat fark olması, GSBL pozitif olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte cefotaxime ve ceftazidime/clavulanate içeren E-test şeritler de vardır. Bu şeritlerin özelliği, clavulanatın diğer kenara da yayılmasından dolayı şeritin orta kısmında fantom zon oluşturmasıdır. Oluşan bu zon da GSBL varlığını ifade etmektedir. Daha doğru bir sonuca ulaşmak için bu test hem ceftazidime/clavulanate hem de ceftazidime/clavulanate şeritleri kullanılarak yapılması önerilmektedir. Bu testin klinik izolatlarda GSBL'leri saptamadaki duyarlılığının çift disk sinerji

yönteminden daha düşük olduğu bildirilmiştir (Cormican ve ark., 1996; Brown ve ark., 2000; M'Zali ve ark., 2000).

2.2.4. Mikrodilüsyon Yöntemi

Bir beta laktamaz inhibitörü varlığında bir cephalosporin'in direnç seviyesinde meydana gelen azalmayı incelemenin diğer bir yolu mikrodilüsyon yöntemidir. Bu yöntemde cefotaxime ve ceftazidime MİK değerleri tek başına veya clavulanate varlığında saptanmaktadır. Clavulanate varlığında MİK değerlerinde 8 kat veya daha fazla azalma GSBL pozitifliğini göstermektedir (Sirot ve ark., 1987; NCCLS, 2003; Gülay, 2004).

2.2.5. Üç Boyutlu Test Yöntemi

GSBL'lerin saptanması için önerilen yöntemlerden bir diğeri de Thomson ve Sanders (1992) tarafından geliştirilen üç boyutlu test yöntemidir. Teste tabi tutulacak mikroorganizma MHA'ya ekildikten sonra besi yerinin ortasında bir oyuk oluşturulur açılır ve bu oyuğun içi şüpheli mikroorganizmanın sıvı kültürü (Tryptic Soy Broth) ile doldurulur. Oluşturulan bu yarıktan 30 mm uzak olacak şekilde antibiyotik diskleri (cefotixin, 30 µg) yerleştirilir. İnkübasyon periyodu sonrasında yarığa bakan tarafta meydana gelen daralma ve bozulmalar testin pozitif olduğuna işarettir (Thomson ve Sanders, 1992; Barroso ve ark., 2000).

2.2.6. Moleküler Tanı Yöntemleri

GSBL enzimlerinin spesifik olarak türünü tipini belirleyebilmek için moleküler tanı yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. GSBL'lerin ilk tespit edilmeye başlandığı dönemlerde izoelektrik noktasını belirlemek yeterliydi. Ancak özellikle *TEM* tipi enzimlerin özdeş izoelektrik noktasına sahip olması nedeniyle sadece izoelektrik noktasına bakılarak enzim tipinin belirlenmesi mümkün olmamaktadır (Randall ve ark., 2009). GSBL'lerin tanımlanmasına yönelik ilk moleküler yöntem Ouellette ve arkadaşları tarafından *TEM-1* ve *TEM-2* enzimleri arasında ayırım yapmak için kullanılan beta laktamaz genlerine spesifik oligonükleotid dizilerinin kullanıldığı PCR yöntemidir (Ouellette ve ark., 1988). Oligotiplemede nokta mutasyonlarını tespit etmek için tasarlanmış oligonükleotid problemleri da kullanılmaktadır (Mabilat ve Courvalin, 1990).

3.KAYNAKÇA

- Barroso, H., Freitas-Vieira, A., Lito, L. M., Cristino, J. M., Salgado, M. J., Neto, H. F., & Duarte, A. (2000). Survey of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases at a Portuguese hospital: TEM-10 as the endemic enzyme. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45(5), 611-616.
- Bhavnani, S. M., Ambrose, P. G., Craig, W. A., Dudley, M. N., & Jones, R. N. (2006). Outcomes evaluation of patients with ESBL-and non-ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 54(3), 231-236.
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933-951.
- Carter, M. W., Oakton, K. J., Warner, M., & Livermore, D. M. (2000). Detection of extended-spectrum β -lactamases in klebsiellae with the Oxoid combination disk method. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 4228-4232.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals. 4th ed. CLSI supplement VETO8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- Dağlar, D., & Öngüt, G. (2012). Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar GSBK ve Tanı Yöntemleri. *Annals of Health Sciences Research*, 1(1), 1-9.
- Emery, C. L., & Weymouth, L. A. (1997). Detection and clinical significance of extended-spectrum beta-lactamases in a tertiary-care medical center. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(8), 2061-2067.
- Gibb, A. P., & Crichton, M. (2000). Cefpodoxime screening of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. by Vitek for detection of organisms producing extended-spectrum β -lactamases. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 38(4), 255-257.
- Gülay Z. ESBL'lerin Tanı Yöntemleri. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebicioğlu H, Öztürk R, Köksal İ, editörler. Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2004.

- Gür D. Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamazlar. Ulusoy S, editör. Beta laktamazlar ve Klinik Önemi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi; 2005.
- Kahlmeter, G. (2008). Breakpoints for intravenously used cephalosporins in *Enterobacteriaceae*-EUCAST and CLSI breakpoints. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 169-174.
- Livermore, D. M. (2001). Detection of beta-lactamase mediated resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 8(1), 59-64.
- Mabilat, C., & Courvalin, P. (1990). Development of " oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34(11), 2210-2216.
- NCCLS. M100-S13. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirteenth Informational Supplement. NCCLS. NCCLS documents. Wayne, Pennsylvania, USA, National Committee for Clinical Laboratory Standards. NCCLS documents. 2003.
- Ouellette, M., Paul, G. C., Philippon, A. M., & Roy, P. H. (1988). Oligonucleotide probes (TEM-1, OXA-1) versus isoelectric focusing in beta-lactamase characterization of 114 resistant strains. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(3), 397-399.
- Özsoy, M. F., Öncül, O., Yıldırım, A., & Pahsa, A. (2001). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamazlar: klinik önemi ve getirdiği sorunlar. *Flora*, 6(1), 3-23.
- Paterson, D. L., Ko, W. C., Von Gottberg, A., Casellas, J. M., Mulazimoglu, L., Klugman, K. P., ... & Yu, V. L. (2001). Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(6), 2206-2212.
- Pool, K. (2004). Resistance to beta-lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61, 2200-2223.
- Randall, L. P., Kirchner, M., Teale, C. J., Coldham, N. G., Liebana, E., & Clifton-Hadley, F. (2009). Evaluation of CHROMagar CTX, a novel medium for isolating CTX-M-ESBL-positive Enterobacteriaceae while inhibiting AmpC-producing strains. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(2), 302-308.
- Sader, H. S., Hsiung, A., Fritsche, T. R., & Jones, R. N. (2007). Comparative activities of cefepime and piperacillin/tazobactam tested against a global collection of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. with an ESBL

phenotype. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 57(3), 341-344.

Sanders, C. C., & Sanders Jr, W. E. (1992). β -Lactam resistance in gram-negative bacteria: global trends and clinical impact. *Clinical Infectious Diseases*, 15(5), 824-839.

Thomson, K. S., & Sanders, C. C. (1992). Detection of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family Enterobacteriaceae: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36(9), 1877-1882.

BÖLÜM 2

KEDİLERDE SIKLIKLA KARŞILAŞILAN VE ANEMİYLE SEYREDEN HASTALIKLAR

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL¹
Arş. Gör. Mahsum BAŞAK²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10401997>

¹Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Siirt, Türkiye.
gulsahakgul@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-4804-6502

²Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Siirt, Türkiye.
mahsum.basak@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-1257-8283

1.GİRİŞ

Anemi, dolaşımdaki alyuvar sayısının azalması anlamına gelir. Bu eritrositlerin kaybı, yapımında yetersizlik veya yıkımlanmasının artışı olarak gerçekleşebilir. Hematokrit (PCV) anemiyi ölçmenin en yaygın yoludur ve eritrositler tarafından alınan kan hacminin yüzdesini ifade eder. Bir kedi için normal PCV %25-45'tir ve %25'in altındaki PCV anemik olarak kabul edilir. Eritrositler vücudun dokularına oksijen ve besin taşır. Bu hücreler, dolaşımdan uzaklaştırılmadan ve kemik iliğinden yeni eritrositler ile değiştirilmeden önce yaklaşık 70-80 gün boyunca dolaşır. Dolaşımda yeterli eritrosit olmadığında, hücreler hayatta kalmak için yeterli oksijen veya besin alamaz, bu nedenle anemi çok hızlı bir şekilde kritik ve hatta ölümcül bir durum haline gelebilir (Feldman, 2005). Anemi çeşitli klinik semptomlara neden olur (Örn. kardiyak üfürüm, halsizlik, durgunluk, pika vb.). Ancak bazen klinik semptom göstermeyebilir ve sadece genel diyagnostik çalışmalar sırasında tespit edilebilir. Anemi vücudu oksijensiz bıraktığından ilk belirti genellikle halsizliktir. Anemik bir kedi oynamak için çok az enerjiye sahip olabilir veya normalden daha fazla uyuyabilir. Kedinin dış etleri, eritrosit yıkımı nedeniyle neredeyse beyaz veya hatta sarı görünebilir. Aşırı durumlarda, kedi nefes almakta zorlanabilir ve vücut eritrositler tarafından sağlanan düşük oksijeni telafi etmeye çalışırken solunum ve kalp atış hızları artabilir. Aneminin nedenine bağlı olarak, bir enfeksiyon veya enflamatuar yanıt nedeniyle ateş ve iştah kaybı meydana gelebilir. Gastrointestinal sistemde kan kaybı meydana gelirse siyah dışkı görülebilir. Bununla birlikte, anemi belirtileri çok belirsiz olabilir ve bir kedi uzun süredir anemikse, vücut muhtemelen telafi etmek için zamana sahip olmuştur ve kediler hiçbir belirti göstermeyebilir. Anemi bir semptomdur, teşhis değildir. Aneminin farklı sınıflandırmaları, kesin nedenin belirlenmesine yardımcı olmak ve başarılı tedavi planlarının geliştirilmesine rehberlik etmek için kullanılır. Tanı koymak için laboratuvar sonuçlarının yanı sıra radyografi, diğer test sonuçları, anamnez ve diğer klinik bulgulardan elde edilen bilgilerin kullanılması çok önemlidir (Tvedten, 2022).

2. OTOİMMUN HEMOLİTİK ANEMİ

İmmün hemolitik anemi (IHA), immünoglobulin G (IgG) ve/veya immünoglobulin M (IgM) antikorlarının kırmızı hücre yüzey antijenlerine bağlandığı ve kompleman sistemi ve retikülo-endotelyal sistem yoluyla kırmızı hücre yıkımını başlattığı klinik durumdur (Gehrs ve Friedberg, 2002). İmmün aracılı hemolitik anemi (IMHA), kedilerde köpeklerden daha az görülmektedir (Kohn ve Ark., 2006). Hemolitik anemi, kırmızı kan hücrelerinin hayatta kalma süresinin azalması ile karakterizedir. Kedilerde hemolitik anemiye bulaşıcı hastalıklar (örneğin Hemotropik mikoplazmalar (hemoplazma), babesiosis), kalıtsal hastalıklar (örneğin piruvat kinaz eksikliği), kimyasallara veya toksinlere maruz kalma (örneğin asetaminofen, soğan), şiddetli hipofosfatemi

veya kırmızı kan hücrelerine karşı bağışıklık reaksiyonları neden olabilir (Werner ve Gorman, 1984). Antikor üretiminden sorumlu uyarıcı olamazsa tanımlanan anemiye primer veya idiyopatik immün aracılı hemolitik anemi (IMHA) denir. Kedilerde sekonder immün aracılı hemolitik anemi (sIMHA), kedi lösemi virüsü (FeLV), felin infeksiyöz peritonitis (FIP) ve Mycoplasma haemofelis gibi bulaşıcı ajanlar tarafından tetiklenebilir. Ayrıca, ilaçlar (örneğin, Propiltiyourasil) veya tümörler (örneğin, malign lenfoma) immün aracılı hemolize neden olabilir (Scott ve ark., 1973; Peterson ve ark., 1984; Werner ve Gorman, 1984). IMHA ayrıca sistemik lupus eritematozuztan muzdarip kedilerde veya uyumsuz donörlerden kan transfüzyonlarından sonra da oluşabilir (Auer ve Bell, 1983; Lusson ve ark.,1999).İmmün reaksiyonlar çoğunlukla dalak veya karaciğerdeki fagositik hücreler vasıtasıyla eritrositlerin yıkımlanmasına yol açarlar (ekstravasküler hemoliz). Monositler ve monositten kaynaklanan doku makrofajları özellikle dalak, karaciğer, akciğer ve kemik iliğinde bulunurlar. Makrofajlar antikor veya komplement ile kaplanmış hücreleri uzaklaştırırlar. Dalak, immünglobulin G ile kaplı olan ve anormal şeklindeki hücrelerin uzaklaştırıldığı primer organdır. İnvasküler ve ekstravasküler hemolizde, hemoglobin bilirubine dönüştürülür. Karaciğer tarafından konjuge edilebilenden ve ekskrete edilebilenden daha fazla bilirubin oluşturulursa, hiperbilirubinemi ve bilirubinüri oluşur (Turgut, 2000). İmmün aracılı hemolitik aneminin teşhisi, kalıcı eritrosit aglütinasyonuna veya eritrosite bağlı IgG ve IgM nin saptanmasına dayanmaktadır (Coombs testi) (Slappendel, 1979).

3. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

Demir, hemen hemen tüm canlı organizmalar için önemli bir elementtir ve demir homeostazının bozulması bir dizi klinik belirtiyeye yol açabilir. Demir, hem hemoglobin hem de miyoglobinin yanı sıra çok sayıda enzim sisteminin oluşumunda kullanılır (McCown ve Specht., 2011). Tüm hücreler tarafından az miktarda demire ihtiyaç duyulur, ancak demirin büyük çoğunluğu hemoglobin üretiminde eritroid öncülleri tarafından kullanılır. Bu nedenle, demir eksikliği sonucu demir homeostazındaki anormallikler tipik olarak belirgin bir özellik olarak anemiye neden olur. Hayvanlarda kilogram başına yaklaşık 9-22 mg demir bulunur ve 2 ml kanda yaklaşık 1 mg demir bulunur (Smith ve ark., 1997). Sağlıklı bir hayvanda demir vücuda yalnızca diyet yoluyla girer. Fazla demir atılabilmesi için fizyolojik bir yol yoktur; Bu nedenle diyetten emilen demir miktarının düzenlenmesi demir dengesinin korunmasında kilit rol oynamaktadır (Andrews, 2008). Demir eksikliği, yetersiz alım, yetersiz demir emilimi veya kronik kan kaybından kaynaklanabilir. Veteriner hekimlikte yetersiz alıma bağlı demir eksikliği nadirdir. Bazen, büyüme için gereken demir miktarı diyet ve vücut depolarından temin edilebilen arzı aşarsa, genç, büyüyen hayvanlar yetersiz kalabilir. Emziren hayvanlar bu soruna en çok duyarlıdır çünkü sütte demir miktarı düşüktür. Dengeli, ticari diyetlerle beslenen

hayvanlarda sütten kesme sonrası demir eksikliğinin ortaya çıkması pek olası değildir. Köpeklerde inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi demir emilimini azaltan durumlarda demir eksikliği anemisi şekillenebilir (Ristic ve Stidworthy., 2002). Küçük hayvanlarda demir eksikliğinin başlıca nedeni kronik kan kaybıdır. Gastrointestinal sistem yaygın bir kronik kan kaybı kaynağıdır. Potansiyel nedenler arasında kanamalı neoplazmalar (leiomyomlar, leiomyosarkomlar veya karsinomlar gibi), ülseratif ilaçlar (örneğin glukokortikoidler, NSAİD ve salisilatlar), inflamatuvar bağırsak hastalığı ve parazitler bulunmaktadır. Kancalı kurtlar gibi gastrointestinal parazitlere sekonder kan kaybı miktarı, parazit yüküne bağlı olarak 100 mL / gün kadar yüksek olabilir. Ayrıca ektoparazitler de demir eksikliği anemisine neden olabilir. Şiddetli pire istilası, özellikle yavru köpeklerde ve yavru kedilerde önemli ölçüde kan kaybına neden olabilir. Örneğin 100 pire günde yaklaşık 1 mL kan tüketebilir (Rust ve Dryden., 1997). Demir eksikliğine bağlı klinik olarak anlamlı anemi çok geç aşamada ortaya çıkar. Demir eksikliği anemisi, demir depolarının olmaması, düşük serum demir konsantrasyonu, düşük transferrin doygunluğu ve düşük hemoglobin ve hematokrit değerleri ile karakterizedir (Giger, 2005). Anemiye bağlı demir eksikliğinin klinik belirtileri arasında mukozalarda solgunluk, halsizlik, uyuşukluk, zayıf egzersiz toleransı, taşipne ve taşikardi bulunur. Demir eksikliği genellikle haftalar veya aylar boyunca yavaş yavaş gelişmektedir. Bu nedenle, hastaların anemiye uyum sağlamaları için çok vakitleri vardır bu nedenle istirahatte minimal klinik belirtilere sahip olabilirler. Vücuttaki demir durumunun değerlendirilmesine yardımcı olmak için kullanılacak birkaç serum analizi vardır. Serum demir konsantrasyonları sadece demir eksikliğinde değil, aynı zamanda inflamatuvar reaksiyonlar, hipoproteinemi, hipotiroidizm, böbrek hastalığı ve kronik inflamatuvar durumlarla da azalır. Serum demir seviyeleri hemoliz, demir takviyesi, transfüzyonlar, kortikosteroid uygulaması ve et tüketiminden de etkilenebilir. Bu nedenle serum demir konsantrasyonları toplam vücut depolarının bir ölçüsü olarak kullanılmamalıdır (McCown ve Specht., 2011). Kan kaybına bağlı gelişen demir eksikliğinde demir bağlama kapasitesi artabilirken, serum demir konsantrasyonu düşebilmektedir. Demir eksikliği, demir eksikliği anemisinin karakteristik özelliği olarak düşünülen tipik mikrositik-hipokromik eritrositlerin oluşumuna neden olmaktadır (Turgut, 2000).

4. HEMOPLAZMA ENFEKSİYONU

Kedilerin infeksiyöz anemisi olarak da adlandırılan hemoplazma enfeksiyonunun etkeni, ilk olarak 1942 yılında Güney Afrika'daki anemi bulguları belirlenen bir kedide *Eperythrozoon felis* olarak tanımlanmıştır. Sonrasında ise 1953 yılında ABD'deki bir kedide benzer bir mikroorganizma tespit edilmiş ve bu etken 1955 yılında *Haemobartonella felis* (*H. felis*) olarak adlandırılmıştır (Clark, 1942; Flint ve Moss, 1953; Tasker ve Lappin, 2002).

Moleküler tekniklerin geliştirilmesiyle birlikte mikroorganizmaların genomları üzerinde yapılan 16S rRNA çalışmaları sonucunda daha önce *Rickettsiaceae* ailesinde sınıflandırılan *Haemobartonella* ve *Eperythrozoon* türlerinin *Mycoplasma* cinsine dahil edilmesine karar verilmiştir. Bu doğrultuda *H. felis* suşlarının büyük formu (Ohio mikroorganizması) ile *H. muris* (ratlarda) ve *H. canis* suşları *Mycoplasma* cinsi içinde sırasıyla *Mycoplasma (M.) haemofelis*, *M. haemomuris* ve *M. haemocanis* olarak yeniden sınıflandırılmıştır (Messick, 2004). *H. felis* suşlarının küçük formu (Kaliforniya mikroorganizması) ile kemirgen ve alpakadan izole edilen ve tam olarak tanımlanamayan yeni hemotropik mikoplazma suşları da *Candidatus M. haemominutum*, *Candidatus M. haemodidelphis* ve *Candidatus M. haemolamae* olarak tanımlanmıştır (Foley ve Pedersen, 2001; Neimark ve ark., 2001; Messick, 2004). Hemotropik mikoplazmalar (hemoplazma) eritrosit yüzeyinde bulunan, cansız ortamda üretilmeyen, Gram negatif, hücre duvarı olmayan mikroorganizmalardır. Pek çok memeli türünde tespit edilen bu mikroorganizmalar kedilerde enfeksiyöz anemiye sebep olmaktadır (Barker ve Tasker, 2013; Tasker, 2010; Torkan ve ark., 2013). Anemi bulguları gözlenen insanlarda da tespit edilen ve bu nedenle zoonotik potansiyeli olduğu düşünülen (Sykes, 2010) hmeoplazmalardan *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis* türlerinin kedilerde enfeksiyöz anemiye neden olduğu bildirilmektedir (Willi ve ark., 2006). Bunların arasında virülensi en yüksek olan türün *Mycoplasma haemofelis* olduğu belirlenmiştir (Tasker ve ark., 2003; Tasker ve ark., 2006). Kedilerde *Mycoplasma haemofelis* enfeksiyonlarının sıklıkla depresyon, anoreksi ve dehidrasyona neden olduğu bilinmektedir. Buna ek olarak, bazı kedilerde aneminin bir sonucu olarak halsizlik, zayıflama, soluk mukoza zarları, taşipne ve taşikardi görülebilir. Enfeksiyonun akut ve şiddetli seyrettiği durumlarda nadirer de olsa bayılma ve sinirsel semptomların ortaya çıkabileceği bildirilmektedir. Klinik muayenede şipenomegali, kardiyak üfürüm, sarılık, bazı kedilerde ateş, hastalığın son döneminde ise hipotermi geliştiği de belirtilmektedir (Willi ve ark., 2006). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), klinik ve hematolojik semptomlar ve yayma kan preparatlarında eritrosit yüzeylerindeki mikroorganizmaların görülmesiyle hastalık teşhis edilebilir (Tasker ve Lapin, 2002). Bunların yanı sıra *Mycoplasma haemofelis*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* ve *Candidatus Mycoplasma turicensis*'in TEM ve geçirimli elektron mikroskopi yöntemleriyle görüntülenmeleri ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi de tanıda oldukça önemlidir (Tasker, 2010; Willi ve ark., 2011).

5. HEİNZ BODY ANEMİSİ

Kedi hemoglobini, çok sayıda serbest sülfhidril grubundan kaynaklanan oksidatif hasara karşı çok duyarlıdır. Bu nedenle, Heinz body oluşumu, kedilerde in vivo oksidatif stresin oldukça hassas bir göstergesidir (Christopher ve ark 1995; Hill ve ark., 2001). Soğan tozu içeren bebek maması ile besleme

(Robertson ve ark., 1998), diabetes mellitus, hipertiroidizm, lenfoma, metilen mavisi, propilen glikol toksisitesi ve asetaminofen kedilerde heinz cisimcikleri oluşuna neden olabilir (Christopher, 1989). Heinz cisimcikleri mikroskopik olarak denatüre oksitlenmiş hemoglobin kümeleri şeklinde gözlenir. Kedilerde dalak heinz cisimciği taşıyan eritrositlere karşı duyarlılığı azdır bu yüzden normal kedi kanında %10 oranında heinz cisimciğine sahip eritrositler bulunabilir. Heinz cisimciklerinin önemini belirlemek için, Heinz cisimciklerinin hacmi, sayısı, HCT değer ve retikülosit cevabı göz önünde bulundurulmalıdır. Genellikle %10'dan fazla eritrositin etkilenmesi, hastalığın göstergesi olarak kabul edilir. Ancak, Heinz cisimciklerinin sayısı, eritrositlerin hacmi ve diğer destekleyici bulgularla birlikte yorumlanmalıdır. Heinz cisimciği normal şekildeki eritrositte çıkıntı oluşturduğundan, eritrositin hacmi anormal derecede büyür. Normal kedilerde Heinz cisimcikleri genellikle küçüktür. Hemoliz ve lipemi olmadığında, yüksek MCHC oranına sahip hayvanlarda Heinz cisimciklerinden şüphelenilmelidir. Heinz cisimcikleri eritrositlerin ömürlerinin kısalmasına yani erken fagositoza ve sonuç olarak hemolitik anemiye neden olur. Hızlı ve şiddetli hemoliz, hemoglobinemi ve hemoglobinuriye yol açabilir. Sekonder olarak gelişen hemoglobin nefrozisi, büyük bir risk oluşturabilir. BUN ve serum kreatinin konsantrasyonlarında orta-belirgin derece de artışlar olur. İdrar analiz bulguları pozitifdir. Ayrıca serum bilirubin, özellikle konjuge olmayan bilirubin konsantrasyonu yükselir (Turgut, 2000).

6. İNFLAMATUAR HASTALIK ANEMİSİ

İnflamatuvar hastalık anemisi, veteriner sahada aneminin yaygın bir nedenidir. Çoğunlukla hafif ila orta, normositik, normokromik ve nonrejeneratif anemi ile karakterizedir. İnflamatuvar hastalık anemisinin çok faktörlü sebepleri olmasına rağmen, başlıca patofizyolojik mekanizma fonksiyonel demir eksikliğidir. Ek olarak, inflamatuvar hastalık anemisinin klinikopatolojik özellikleri arasında kısaltılmış kırmızı hücre ömrü, demir metabolizmasının inhibisyonu ve kemik iliğinde eritropoietin aracılı eritropoezin bozulması bulunur. Bununla birlikte, veteriner tıbbında yardım için güvenilir tanı kriterleri henüz belirlenmemiştir (Fry, 2010).

Sistemik demir dengesinin birincil düzenleyicisi, öncelikle karaciğerde üretilen ve idrarla atılan bir peptid hormonu olan hepsidindir. Hepsidin üreten tümörler, demir kullanımını bozması nedeniyle ciddi demir yetmezliğine neden olurken, doğumda yüksek hepsidin üretimi olan hayvanlar demir eksikliğinden hızla ölür. Hepsidin, demir depolanmasını ve kullanımını düzenlemenin yanı sıra demirin plazmadan çıkmasını engelleyerek demir dengesini kontrol eder. Hepsidin makrofaj akışını, demirin yaşlı eritrositlerden plazmaya transferini ve demirin hepatik rezervlerden mobilizasyonunu yavaşlatır. Ayrıca ince bağırsaktan demir emilimini de azaltır. Vücuttaki demir depolarının azalması, hipoksi ve yüksek eritropoietik aktivite hepatik hepsidin üretiminde azalmaya

neden olur. Organizmaya demir yüklenmesi ve inflamasyon ise hepsidin sentezini artırır (Uysal, 2008). İnterferon- α , - β ve - γ gibi sitokinlerin yanı sıra tümör nekroz faktörü- α , interlökin-1 ve interlökin, enflamatuar durumlarda üretilir ve bir akut faz proteini olan hepsidin indüksiyonu ile nispi bir demir eksikliği oluşturur (Chalhoub ve ark., 2011). Vücut depolarında yeteri miktarda demir bulunmasına rağmen hipoferremi görülür ve bu da demir metabolizmasında bir bozulmaya işaret eder. Bu değişikliğin, demire mikrobiyal erişimi sınırlamak için önemli bir immünolojik yanıtının bir parçası olduğu düşünülmektedir. Gastrointestinal demir emiliminin baskılanması ve inflamasyona karışan makrofajlarda artan demir tutulumu da hastalığın etiolojisinde önemli rol oynar (Chikazawa ve Dunning., 2016).

7. KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ ANEMİSİ

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) poliüri, polidipsi ve zayıflama gibi semptomlarla kendini gösteren bir durumdur. Böbrek fonksiyonları yaşla birlikte azaldığından, KBY her yaşta evcil hayvanlarda görülebmesine rağmen, özellikle orta yaşlı ve yaşlı kediler için sorun teşkil eder. Güçlü kompenzasyon kapasiteleri sayesinde böbrekler, sağlam nefronların %10'u kalana kadar glomerüler filtrasyonu sürdürür. Bu, özellikle kedilerin kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) son aşamalarına kadar idrar konsantrasyon edebilmeleri nedeniyle klinik belirtilerin daha geç ortaya çıkacağı anlamına gelir (İmren, 1998). Kby'li kedilerin% 30-65'inin böbrek hasarına bağlı anemi gelişmektedir. Uygun eritropoez eksikliğine ek olarak, ilerleyen böbrek hastalığından kaynaklanan üremi, eritrosit (RBC) sağkalımını azaltabilir. Böbrek hastalığının anemisi patogeneğinde çok faktörlüdür, ancak ana neden, böbrek hastalığı ilerledikçe kemik iliğinin kırmızı kan hücrelerinin üretimini kontrol eden bir böbrek hormonu olan eritropoietin üretiminin azalmasıdır (Chalhoub ve ark., 2011). Eritropoez, anemiye yanıt olarak hematopoetik büyüme faktörü eritropoietinin üretimi ile kontrol edilir. Eritropoietin esas olarak böbrekteki iç böbrek korteksinin ve dış medullanın peritübüler interstisyel hücrelerinde üretilir. Karaciğer, beyin, uterus, periferik endotel hücreleri, kaslar ve insülin üreten hücreler de eritropoietin üretir, ancak çok daha az ölçüde. Böbrek hastalığı ilerledikçe böbreklerde daha az eritropoietin üreten hücre bulunur. Eritropoietin sentezi için ana uyaran renal hipoksidir. Hipoksi mevcut olduğunda, hipoksi ile indüklenebilir faktör 1'in (HIF-1 α) düşüşü inhibe edilir ve HIF-1 α , oksijenle düzenlenmiş genlerin hipoksi yanıt elemanlarına bağlanması serbesttir. Bu yanıt böbreklerdeki eritropoietin genini kontrol eder ve HIF-1 α 'nın bağlanması eritropoietin üretiminde bir artışı uyandır. Eritropoietin üretim hızı, kanın oksijen taşıma kapasitesi ile ters orantılıdır (Chalhoub ve ark., 2011). Böbrek yetmezliği anemisinin ana faktörü eritropoietin eksikliği olsada buna katkıda bulunana ek faktörler vardır. Böbrek yetmezliği anemisine katkıda bulunan ek faktörler arasında inflamasyon anemisi, üremik toksinlerin RBC sağkalımını üzerindeki etkisi ve gastrointestinal

kanamalar bulunur (Chalhoub ve ark., 2011).KYB bağlı anemi genellikle normositik, normokromik, non-rejeneratif karakterdedir. Sadece hemogram bulgularına bakarak KYB'ne bağlı anemi teşhisi konulması zordur bu yüzden hemogram bulguları kronik böbrek yetmezliğine bağlı oluşan azotemi, hiperfosfatemi, metabolik asidoz, hipokalemi, izostenüri ve proteinüri gibi bulgularla desteklenmelidir.

8. FELV-FIV ENFEKSİYONLARI

Kedi immün yetmezlik virüsü (FIV), ve Kedi lösemi virüsü (FeLV) evcil kedilerin sağlığı üzerinde küresel etkisi olan retrovirüslerdir. İki virüsün hastalığa neden olma potansiyelleri farklıdır. FIV, fırsatçı enfeksiyonlar, nörolojik hastalıklar ve tümörler geliştirme riskini artıran edinilmiş bir immün yetmezlik sendromuna neden olabilir. Bununla birlikte, doğal olarak enfekte olmuş kedilerin çoğunda, FIV'in kendisi ciddi klinik belirtilere neden olmaz ve FIV ile enfekte olan kediler, herhangi bir sağlık sorunu yaşamadan uzun yıllar yaşayabilir. FeLV daha patojeniktir ve uzun süredir kedilerde diğer tüm ajanlardan daha fazla klinik sendromdan sorumlu olduğu düşünülmektedir. FeLV, tümörlere (esas olarak lenfoma), kemik iliği baskılanma sendromlarına (esas olarak anemi) neden olabilir ve virüsün kemik iliği ve bağışıklık sistemi üzerindeki baskılayıcı etkilerinden kaynaklanan ikincil bulaşıcı hastalıklara yol açabilir. FeLV enfeksiyonu ile ilişkili klinik belirtiler değişkendir. Virüs, adını ilk kez dikkatini çeken bulaşıcı tümörden almasına rağmen, enfekte olmuş kedilerin çoğu veterinere tümörler için değil, anemi veya bağışıklık baskılaması nedeniyle sunulur. FeLV ile enfekte kedide en sık görülen bulgular çeşitli ko-enfeksiyonlar. FIV enfeksiyonu, FIP, üst solunum yolu enfeksiyonu, hemotropik mikoplazmoz ve stomatit (%15), ardından anemi (%11), lenfoma (%6), lökopeni veya trombositopeni (%5) ve lösemi veya miyeloproliferatif hastalık (%4) meydana getirebilir (Cotter, 1991).FeLV enfeksiyonu ile ilişkili klinik belirtiler, tümörler, immünsupresyon, hematolojik bozukluklar, immün aracılı hastalıklar ve diğer sendromlar (nöropati, üreme bozuklukları, solgun yavru kedi sendromu dahil) olarak sınıflandırılabilir. Etkilenen kedilerde lenfopeni ve nötropeni yaygındır. Ek olarak, progresif olarak enfekte olan kedilerin nötrofilleri, normal kedilere kıyasla kemotaktik ve fagositik fonksiyonları azaltmıştır. İmmün baskılamaya ek olarak, FeLV ile enfekte olmuş kediler, virüse karşı aşırı aktif veya düzensiz bir bağışıklık tepkisinin neden olduğu bağışıklık aracılı hastalıklar geliştirebilir. Spesifik stimülasyona karşı hümmoral bağışıklık azalmasına rağmen, IgG ve IgM'de spesifik olmayan artışlar kaydedilmiştir. T-hücresi aktivitesinin kaybı ve antijen antikor komplekslerinin oluşumu, immün düzensizliği teşvik eder (Pedersen ve ark., 1990).FeLV ile enfekte kedilerde açıklanan immün aracılı hastalıklar arasında otoimmün hemolitik anemi, glomerülonefrit, iris ve siliyer cisimde immün kompleks birikimi olan üveit ve poliartrit . Kronik ilerleyici poliartrit, FeLV tarafından tetiklenebilir; poliartritli

kedilerin yaklaşık %20'sinde FeLV ilişkili bir ajan gibi görünmektedir (Hartmann, 2011). Hematopoietik bozukluklar, özellikle kemik iliği baskılanmasının neden olduğu sitopeniler, FeLV ile enfekte olmuş kedilerde yaygın bir bulgudur. FeLV ile ilişkili olarak tanımlanan hematolojik bozukluklar arasında anemi (rejeneratif olmayan veya rejeneratif), kalıcı, geçici veya siklik nötropeni, trombosit anormallikleri (trombositopeni ve trombosit fonksiyon anormallikleri), aplastik anemi (pansitopeni) ve panleukopeni benzeri sendrom yer alır (Hartmann, 2011). FeLV ile enfekte kedilerde aneminin çeşitli nedenleri olabilir. FeLV ile ilişkili anemilerin yaklaşık %10'u rejeneratiftir (Shelton ve Linenberger, 1995), ancak FeLV ile ilişkili anemilerin çoğu rejeneratif değildir ve hematopoietik kök hücrelerin birincil enfeksiyonundan kaynaklanan virüsün kemik iliğini baskılayıcı etkisinden kaynaklanır (Hartmann, 2011).

Yaygın klinik belirtiler

- Erken-fötal ölümler
- Kilo kaybı
- Solgunluk (anemi)
- Kronik sinüzitis
- Ateş, ishal, depresyon, lökopeni
- Latent enfeksiyonlu kediler asemptomatik olabilir.
- Sekonder enfeksiyonlar ile immun baskılanma hastalık ve ölümün başlıca sebebidir
- Kemik iliği baskılanması rejeneratif olmayan anemi, lökopeni ve trombositopeniye sebep olur
- Malignansinin çeşitli formları vardır. Lenfoma FeLV enfeksiyonu ile ilişkili en yaygın neoplazidir.
- Lenfomanın klinik belirtileri ilgili bölgeye yansır ve dispne (mediastinal); Gremi (renal) ve ataksi, felç ya da nöbetler içerir.
- Nadiren hematopoietik habislikler (lösemiler) şekillenebilir ve herhangi bir hücre dizisini içerebilir, klinik belirtileri normal hematopoietik hücre sayılarında azalma gösterir.
- Bunların dışında immun ilişkili hemolitik anemi (IMHA), glomerulonefrit, infertilite, abort ve osteokondromatozis görülebilir.

10. KAYNAKÇA

- Andrews, N. C. (2008). Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 112(2), 219-230. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-12-077388>
- Auer, L., & Bell, K. (1983). Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. *Research in Veterinary Science*, 35(2), 145-152. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)32171-4](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32171-4)
- Barker, E., & Tasker, S. (2013). Haemoplasmas: lessons learnt from cats. *New Zealand veterinary journal*, 61(4), 184-192. <https://doi.org/10.1080/00480169.2013.771760>
- Chalhoub, S., Langston, C., & Eatroff, A. (2011). Anemia of renal disease: what it is, what to do and what's new. *Journal of feline medicine and surgery*, 13(9), 629-640. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2011.07.016>
- Chikazawa, S., & Dunning, M. D. (2016). A review of anaemia of inflammatory disease in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 57(7), 348-353. <https://doi.org/10.1111/jsap.12498>
- Christopher, M. M. (1989). Relation of endogenous Heinz bodies to disease and anemia in cats: 120 cases (1978-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 194(8), 1089-1095.
- Christopher, M. M., Broussard, J. D., & Peterson, M. E. (1995). Heinz body formation associated with ketoacidosis in diabetic cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 9(1), 24-31. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1995.tb03268.x>
- Clark, R. (1942). Eperythrozoon felis (sp. nov.) in a cat. *Journal of the South African Veterinary Association*, 13(1), 15-16.
- Cotter, S. M. (1991). Management of healthy feline leukemia virus-positive cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 199(10), 1470-1473.
- Feldman, B. F. (2005). Nonregenerative anemia. *Textbook of veterinary internal medicine*, 1908-1917.
- Flint, J. C., & Moss, L. C. (1953). Infectious anemia in cats. *Journal of the American veterinary medical association*, 122(910), 45-48.
- Foley, J. E., & Pedersen, N. C. (2001). 'Candidatus Mycoplasma haemominutum', a low-virulence epierythrocytic parasite of cats. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 51(3), 815-817.

- Fry, M. M. (2010). Anemia of inflammatory, neoplastic, renal, and endocrine diseases. *Schalm's veterinary hematology*, 246-250.
- Gehrs, B. C., Friedberg, R. C. (2002). Otoimmün hemolitik anemi. *Ben J Hematol.* 69 :258–71.
- Giger, U. R. S. (2005). Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis. *Textbook of veterinary internal medicine*, 2, 1886-1907.
- Hartmann, K. (2011). Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary immunology and immunopathology*, 143(3-4), 190-201.
- Hill, A. S., O'Neill, S., Rogers, Q. R., & Christopher, M. M. (2001). Antioxidant prevention of Heinz body formation and oxidative injury in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 62(3), 370-374. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.370>
- İmren, H. Y. (1998). Kedi ve köpek hastalıkları. *Medisan Yayınları. Ankara.*
- Kohn, B., Weingart, C., Eckmann, V., Ottenjann, M., & Leibold, W. (2006). Primary immune-mediated hemolytic anemia in 19 cats: Diagnosis, therapy, and outcome (1998–2004). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(1), 159-166. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02836.x>
- Lusson, D., Billiemaz, B., & Chabanne, J. L. (1999). Circulating lupus anticoagulant and probable systemic lupus erythematosus in a cat. *Journal of feline medicine and surgery*, 1(3), 193-196. [https://doi.org/10.1016/S1098-612X\(99\)90208-5](https://doi.org/10.1016/S1098-612X(99)90208-5)
- McCown, J. L., & Specht, A. J. (2011). Iron homeostasis and disorders in dogs and cats: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(3), 151-160. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-5553>
- Messick, J. B. (2004). Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(1), 2-13. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x>
- Messick, J. B. (2004). Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): a review and new insights into pathogenic potential. *Veterinary Clinical Pathology*, 33(1), 2-13. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x>
- Pedersen, N. C., Torten, M., Rideout, B., Sparger, E., Tonachini, T., Luciw, P. A., ... & Yamamoto, J. (1990). Feline leukemia virus infection as a potentiating cofactor for the primary and secondary stages of experimentally induced feline immunodeficiency virus

- infection. *Journal of virology*, 64(2), 598-606.
<https://doi.org/10.1128/jvi.64.2.598-606.1990>
- Peterson, M. E., Hurvitz, A. I., Leib, M. S., Cavanagh, P. G., & Dutton, R. E. (1984). Propylthiouracil-associated hemolytic anemia, thrombocytopenia, and antinuclear antibodies in cats with hyperthyroidism. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184(7), 806-808.
- Ristic, J. M. E., & Stidworthy, M. F. (2002). Two cases of severe iron-deficiency anaemia due to inflammatory bowel disease in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 43(2), 80-83.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00034.x>
- Robertson, J. E., Christopher, M. M., & Rogers, Q. R. (1998). Heinz body formation in cats fed baby food containing onion powder. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212(8), 1260-1266.
- Rust, M. K., & Dryden, M. W. (1997). The biology, ecology, and management of the cat flea. *Annual review of entomology*, 42(1), 451-473.
- Scott, D. W., Schultz, R. D., Post, J. E., Bolton, G. R., & Baldwin, C. A. (1973). Autoimmune hemolatic anemia in the cat. *Journal of the American Animal Hospital Association*.
- Shelton, G. H., & Linenberger, M. L. (1995, November). Hematologic abnormalities associated with retroviral infections in the cat. In *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (small animal)* (Vol. 10, No. 4, pp. 220-233).
- Slappendel, R. J. (1979). The diagnostic significance of the direct antiglobulin test (DAT) in anemic dogs. *Veterinary immunology and immunopathology*, 1(1), 49-59.
[https://doi.org/10.1016/0165-2427\(79\)90007-2](https://doi.org/10.1016/0165-2427(79)90007-2)
- Smith, J. E. (1997). Iron metabolism and its disorders. In *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press, 223-239.
<https://doi.org/10.1016/B978-012396305-5/50010-5>
- Sykes, J. E. (2010). Feline hemotropic mycoplasmas. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 20(1), 62-69.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00491.x>
- Tasker, S. (2010). Haemotropic mycoplasmas: what's their real significance in cats?. *Journal of feline medicine and surgery*, 12(5), 369-381.
<https://doi.org/10.1016/j.jfms.2010.03.011>

- Tasker, S. L. M. R., & Lappin, M. R. (2002). Haemobartonella felis: recent developments in diagnosis and treatment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 4(1), 3-11. <https://doi.org/10.1053/jfms.2001.0155>
- Tasker, S., Caney, S. M., Day, M. J., Dean, R. S., Helps, C. R., Knowles, T. G., ... & Gruffydd-Jones, T. J. (2006). Effect of chronic FIV infection, and efficacy of marbofloxacin treatment, on Mycoplasma haemofelis infection. *Veterinary microbiology*, 117(2-4), 169-179. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.06.015>
- Tasker, S., Helps, C. R., Day, M. J., Gruffydd-Jones, T. J., & Harbour, D. A. (2003). Use of real-time PCR to detect and quantify Mycoplasma haemofelis and “Candidatus Mycoplasma haemominutum” DNA. *Journal of clinical microbiology*, 41(1), 439-441. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.1.439-441.2003>
- Torkan, S., Aldavood, S. J., Rafie, S. M., Hejazi, H., Shirani, D., & Momtaz, H. (2013). Prevalence and risk factor analysis of Haemobartonella felis in cats using direct blood smear and PCR assay. *Comparative Clinical Pathology*, 22, 1103-1109.
- Turgut, K. (2000). Veteriner klinik laboratuvar teşhis. Bahçivanlar Basım Sanayi AŞ. Konya, 2, 17-79
- Tvedten, H. (2022). Classification and laboratory evaluation of anemia. *Schalm's veterinary hematology*, 198-208.
- Uysal, Z. (2008). Hepsidin ve demir metabolizması. *VI. Hematoloji İlk Basamak Kursu, Ankara, s, 9.*
- Werner, L. L., & Gorman, N. T. (1984). Immune-mediated disorders of cats. *The veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 14(5), 1039-1064. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(84\)50106-5](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(84)50106-5)
- Willi, B., Museux, K., Novacco, M., Schraner, E. M., Wild, P., Groebel, K., ... & Hofmann-Lehmann, R. (2011). First morphological characterization of ‘Candidatus Mycoplasma turicensis’ using electron microscopy. *Veterinary microbiology*, 149(3-4), 367-373. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.11.020>
- Willi, B., Tasker, S., Boretti, F. S., Doherr, M. G., Cattori, V., Meli, M. L., ... & Hofmann-Lehmann, R. (2006). Phylogenetic analysis of “Candidatus Mycoplasma turicensis” isolates from pet cats in the United Kingdom, Australia, and South Africa, with analysis of risk factors for infection. *Journal of clinical microbiology*, 44(12), 4430-4435. <https://doi.org/10.1128/jcm.00987-06>

BÖLÜM 3

KEDİ VE KÖPEKLERDE TORAKA-LUMBAL VERTEBRA KIRIK VE LUKSASYONLARI

Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402008>

¹Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Ana Bilim Dalı, Siirt, Türkiye, a.gulaydin@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7200-1040

1.GİRİŞ

Kedi ve köpeklerde toraka-lumbal vertebra kırık ve luksasyonlarında oluşan klinik semptom geniş bir alana yayılır. Bu tür olgularda en sık görülen klinik tablo nörolojik fonksiyon kayıplarının olduğu arka ekstremiteleri kullanamamadır (paraparesiz, parapleji). Paraparesiz; her iki ekstremitedeki güçsüzlük olarak adlandırılırken, parapleji, iki ekstremitedeki motor kabiliyetin kaybı olarak tanımlanır. Toraka-lumbal kırıklar en fazla dış travma kaynaklı olarak meydana gelirler (trafik kazası, yüksekten düşme) (Dewey, 2017) VFL (vertebral kırık ve luksasyon) hemen hemen her zaman ağrıya ve nörolojik defisitlere sebep olur. Nörolojik defisitler, medulla spinalisin ezilmesinden kaynaklanırken; ağrı, medulla spinalisin ezilmesi veya dokuların hareketli olmalarından dolayı ortaya çıkabilir. Medulla spinalisin devamlı olarak baskıya maruz kalması, demiyelinizasyona, şiddetli nöronal ve aksonal lezyona sebep olur. Tedavinin ilk amacı, fonksiyonel kalan sinir dokusundaki fonksiyonunu korunmasıdır. Bu durumu sağlayabilmek için genellikle cerrahi dekompresyon, fragmentlerin stabilizasyonu, fizyoterapi ve rehabilitasyon gerekir. Özellikle nörolojik defisiti minimal olan vakalarda, medulla spinalisdeki travmayı önlemek için vertebral kolonun doğal stabilitesine güvenerek, sadece medikal tedaviyle fonksiyonun geri gelmesi beklenebilir (Jeffery, 2010). VFL genellikle travmaya bağlı olduğundan vücutta birçok sistemin yaralanmasının da meydana gelebileceği unutulmamalıdır. Bu kapsamda solunum ve dolaşım sistemlerini etkileyen lezyonlar, omurgayı etkileyenlerden daha ciddi ve ölümcül olabilir. Bununla birlikte VFL olgularında üst motor nöron fonksiyon kaybı ile idrar kesesi disfonksiyonu çok yaygındır. Bu hastalarda idrar çıkışının sağlanması hasta bakımının önemli bir aşamasıdır (Dewey, 2017).

Bu bölümde kedi ve köpeklerde toraka-lumbal kırık ve luksasyonların etiyolojisinden tedavisine kadar detaylı bilgiler sunulması amaçlanmıştır.

2. KEDİ VE KÖPEKLERDE TORAKA-LUMBAL VERTEBRA KIRIK VE LUKSASYONLARI

2.1. Anatomi

Vertebral aksın spesifik anatomik özellikleri ve omurganın yapısını bilmek, tetikleyici travma ile VFL tipi arasındaki farklılıkları anlamak ve ayrıca uygun fiksasyon yöntemlerini belirlemek için önemlidir (Jeffrey, 2010).

2.1.2. Torakal Vertebra Anatomisi

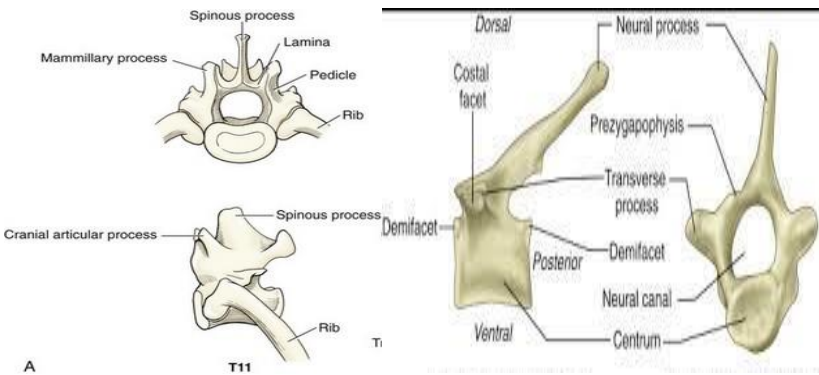
Sırt omurgası sırt omurlarının bir araya gelmesi ile oluşur. On üç adet torakal vertebra vardır. Bu vertebralarda corpus vertebra, lamina, pedikül, processus articularis, processus transversus, dorsal processus spinosus gibi bölümler bulunmaktadır. Kısmen üst üste binmiş, hafif sınırlı bir esnekliğe sahiptirler. Sırt omurlarının fonksiyonları özel anatomik özelliklerinden

kaynaklanır. Sırt omurlarının kranial bölümü omurganın tamamında olduğu gibi vücut ağırlığını sırtta iletir, kaburgalar ile birlikte sırt ve omuz bölgesi kaslarının tutunması işlevini yerine getirir (König ve Liebich, 2007) (Şekil 1).

Sırt omurları kaburgalar ile eklem yaparlar. Sırt omurlarının tamamı aşağıdaki ortak özellikleri gösterir:

- Kısa bir gövde ile basık ekstremiteler (extremities),
- Kısa eklem çıkıntıları (processus articulares),
- Birbirine yakın omur kemerleri (arcus vertebrae),
- Gayet uzun bir processus spinosus'u
- Her iki tarafta kaburga başları ile kaburga tüberkülleri için processus transversus üzerinde (foveae costales) çukurların bulunması.
- Omurga gövdesi sırt bölgesinin kranialinde kısa, fakat kaudale gidildikçe uzunluğu artar ve aynı zamanda crista ventralis bulunur (König ve Liebich, 2007).

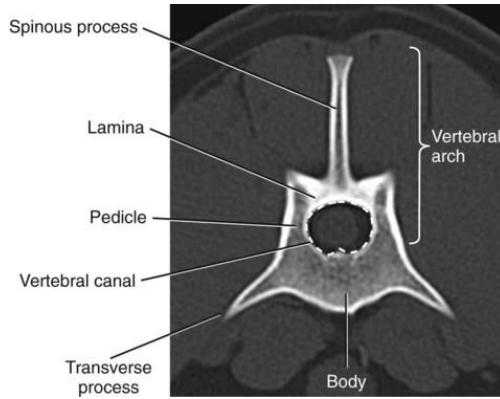
Kaudale doğru sırt omurlarının art arda gelen kranial ve kaudal ekstremiteleri intervertebral disklere uygun bir şekilde basıklaşır. Intervertebral delikler spinal sinirler ve damarların geçişine imkân vermek için nispeten büyüktür. Processus spinosus sırt bölgesi boyunca yavaş yavaş kısalmır. Omurlarda belirgin bir şekilde kısalmır ve sonrasında hemen hemen aynı uzunlukta kalır. Processus spinosus'un vücudun uzun eksenine tam düşey pozisyonda bulunduğu sırt omur diyaframatik omur olarak tanımlanır: Bu köpekte 10. sırt omurudur (König ve Liebich, 2007).



Şekil 1. Torakal vertebra bölümleri (Johnston ve Tobias, 2017).

2.1.3. Lumbal Vertebra Anatomisi

Bel omurları gövde şekillerin daha uniform yapıda ve uzun olması ile sırt omurlarından farklılık gösterirler. Yedi adet lumbal vertebra vardır. Processus spinosus kısa ve craniodorsal yönlüdür, processus transversus uzun, yassı ve laterale doğru uzanmıştır. Kranial ve kaudal uçlar düz eklem yüzlerine sahiptir. Processus spinosus genellikle kranialde boy ve en olarak eşit uzunluktadır. İlk dört ya da beş bel omuru diğerlerine göre daha uzundur (König ve Liebich, 2007) (Şekil 2). Bel omurlarında processus transversus'un geniş olması karakteristiktir. Bunlar rudimenter kaburgalar olarak kabul edilir ve processus costalis olarak da tanımlanır. En kısa processus transversus ilk bel omurunda bulunur. Genellikle üç ya da dördüncü bel omurunda en uzundur. Buna bağlı olarak intervertebral delikler dorsal ve ventral olmak üzere ayrılırlar. Processus transversus ve spinosus'lar crista ventralis ile hem iç lumbal kaslar için hem de abdominal, axial ve pelvik kaslar için geniş yapışma yüzeyi sağlar (König ve Liebich, 2007).

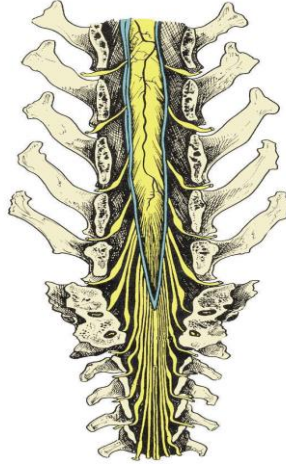


Şekil 2. Lumbal vertebra bölümleri (Dewey ve Da Costa, 2015).

2.1.4. Medulla Spinalisin Anatomisi

Torakal bölgenin kaudalindeki ve lumbal bölgenin kranialindeki segmentler aynı pozisyondaki vertebraların içerisinde yer alır. Lumbal bölgenin orta kısmından geriye doğru lokalize olan medulla spinalis segmentleri, belirgin bir şekilde kısalarak genellikle son lumbal eklem düzeyinde sonlanır (Şekil 3). Orta ve büyük ırk köpeklerde medulla spinalisin son kısmı L6 veya L7 düzeyinde sonlanabilir. Kedilerde ve küçük ırk köpeklerde medulla spinalisin L7'nin kaudal kenarından S3'ün kaudal kenarına kadar olan düzeylerde sonlandığı farklı yazarlar tarafından ifade edilmiştir. Küçük cüsseli köpeklerde medulla spinalisin son kısmı çok az belirgin olup sakruma ulaşabilmesine

rağmen, büyük cüsseli köpeklerde medulla spinalisin son kısmı köpeklerde L4 düzeyinde sonlanabilir. Cauda equina; medulla spinalisin sonlanmasından sonra geriye kalan spinal sinir demetidir. Bu demet L6-Cd5 spinal sinir lifleri ile birlikte nervus ischiadicus (L6-S1) ve nervus pudendus'u (S2-S3) oluşturan lifleri kapsar. Her bir spinal sinir kendi segmentine ait foramen intervertebrale'den çıkar (Dyce ve Sack, 2009).



Şekil 3. Medulla spinalisin dorsal görünümü (Dyce ve Sack, 2009).

Epidural boşluk lumbal vertebraların kranialinde dardır (özellikle kondrodistrofik köpeklerde). Bu durum minimal vertebral hareketlerde bile şiddetli nöral lezyonlara neden olabilir. VFL olgusu özellikle C4-T3 ve L3-L5 omurları açısından önemlidir. Bu bölgeden köken alan sinirler ekstremiteleri, idrar kesesini ve anüsü innerve eden sinirlerdir. Bu sinirler bu bölgede omurga kanalına göre daha büyük çaplara sahiptir. Bu yüzden yaralanmalarında kalıcı felç riski yüksektir. Bu bölgedeki sinirlerin bir diğer özelliği ise gri madde oranının fazla olmasıdır. İyileşme yeteneği gri madde lezyonları için beyaz madde lezyonlarına göre daha kısıtlıdır (Jeffery ve Blakemore, 1999). Bu veriden kaynaklandığı düşünülen literatür bilgilerine göre L5 vertebranın şiddetli lezyonları; idrar kesesi işlevinin geri gelmesi açısından prognozu kötüdür (Beal ve ark.,2001; Jeffrey, 2010).

2.2. Etiyoloji

Kedi ve köpeklerde vertebra kırık ve çıkıkları genellikle dış travma kaynaklı olarak meydana gelmektedir. Trafik kazaları (%40-60) ve yüksekten düşmeler bu nedenlerin başında gelmektedir. Diğer nedenler arasında hayvanların saldırıları, ateşli silah yaralanmaları, neoplazi, enfeksiyon patolojik kırıklar yer almaktadır (Jeffrey, 2010; Bali, 2009; Fugazzotto, 2022). Özellikle

yaşlı köpeklerde patolojik kırıklar önemli yer tutar. Patolojik kırıklara neden olan hastalıklar; osteomyelit (diskospondilit ve spondilit), kitle infiltrasyonu, hiperparatiroidizm ve osteosarkomlar gibi kemik tümörleri vertebral aksta görülebilir (Heyman, 1992; Jeffrey, 2010). Omurilik fonksiyon bozukluğunun en önemli sebebi; omurilik travması olarak gösterilmektedir. Travmaların sonucu hayvanın travmaya uğradığı andaki durumuna, iletilen kuvvetin çeşidine, etkilenen bölgenin büyüklüğüne ve vertebraların anatomik özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Vertebral kırıklar, luksasyonlar tüm omurilik bozukluklarının kedilerde %6'sını, köpeklerde %7'sini kapsamaktadır. (Bali, 2009; Fugazzotto, 2022) Nörolojik hasar major vertebral kırıklar sonucu olabileceği gibi minör defisitler sonucunda meydana gelebilir (Marioni-Henry, 2004). Kedi ve köpeklerde Sabit torasik vertebra ile stabil kaslı lumbal vertebra arasındaki konumu nedeniyle; T10-L2 arasındaki toraka-lumbal omurlarda VFL çok sık görülmekte olup, bütün vertebra kırıklarının %50 sini oluşturmaktadır (Bruce, 2008; Letesson ve ark., 2022). Bu bölgenin, vertebral eklemlerin şekli ve doğrultusu değiştiği için VFL yatkınlığı artar. Etkiyen kuvvetin şiddetine ve yönüne göre birden fazla VFL çeşidi meydana gelebilir (Jeffrey, 2010).

2.3. Klinik Muayene

VFL olguları genel olarak şiddetli dış travma sonrası sırt bölgesi ağrısı, nörolojik defisit veya her ikisiyle birlikte kliniklere getirilir. Bu noktada etkilenen hayvanlarda sıklıkla, ciddi ölümcül olabilecek bazı semptomlar da (hipotansiyon, ritim bozuklukları, pnömotoraks vb.) göz önünde bulundurulmalıdır (Jeffrey, 2010).

VFL vakalarında nörolojik belirtiler akut olarak gelişir (Jeffrey, 2010). Nörolojik hasar, nörolojik fonksiyon bozukluğuna göre 5'e ayrılır; I: sadece ağrı; II: propriyoseptif defisitler veya ekstremitede paraparezi veya her ikisi; III: yatalak paraparezi; IV: parapleji; V: derin ağrı duygusu kaybı ile birlikte paraplejidir (Vallefuoco, 2014).

2.4. Nörolojik Muayene

Nörolojik muayene sistemli bir şekilde çoğu vakada 10-15 dk yapılabilir. Muayenede cevabı bulunması gereken iki önemli soru vardır; biri hastada nörolojik bir hasar var mı, ikincisi varsa hangi bölgededir. Nöro-anatomik lokalizasyon, bir lezyonun gözlenen klinik belirtilerle sonuçlanacağı sinir sistemi içindeki bölgeyi ifade eder. Somatik sinir sistemi; merkezi ve periferik sinir sistemi olarak ikiye ayrılır. Merkezi sinir sistemi ise beyin (ön-orta ve cerebellum) ve medulla spinalis (Servikal, torakal, toraka-lumbal, lumbal ve sakro-koksial) olarak ikiye ayrılır. Periferik sinir sistemi de kranial ve spinal sinirler olmak üzere ikiye ayrılır. Nörolojik muayene; Tavır ve duruş, duruş reaksiyonları, yürüyüş, spinal refleksler, ağrı hissi, olmak üzere 5 bölüme

ayrılır (Dewey, 2017). Torakolomber ve lomber bölgede rastlanılan travmalarda Schiff-Sherrington vakaları oldukça sık görülür. Bu durum başlangıçta torasik sinirlerin kranialindeki merkezi sinir sistemini etkileyen bir lezyonu düşündürülebilir. Klinik olarak birbirinden ayırmak gerekir. Omurilik travmalarından hemen sonra spinal şokun yarattığı etki ile hasar gören bölgenin kaudalindeki reflekslerde, kayıp veya azalma görülür, fakat yaygın olarak anal reflekslerde azalma gözlenir. Bu durum, lezyonun daha kranialden ziyade omuriliğin alt motor nöron bölümünde yer aldığı kuşkusu yaratabilir. Panikülüs refleksi T3 ile L3 omurilik segmenti içinde lezyona işaret ettiği için bu olasılıklar arasında ayırım yapmayı kolaylaştırır. Ayrıca Spinal şok belirtileri 24-48 saat içinde kendiliğinden kaybolur. Sinirsel lezyonun belirlenmesindeki bir diğer sorun ise birden fazla lezyon olma durumudur. Böyle bir durumda alt motor nöron lezyonu üst motor nöron lezyonunun varlığını gizleyecektir (Jeffrey, 2010).

2.5. Görüntüleme

VFL'nin büyük bölümünde tanı için direk radyografik muayene yeterlidir. Vertebraların radyografik çekimi genellikle lateral pozisyonda yapılır. İhtiyaç duyulduğunda ventro-dorsal pozisyondan da yararlanılabilir. Bu noktada önemli olan röntgen çekimleri sırasında daha fazla hasara sebep olmamak için hastanın hareketlerinin sınırlandırılmasıdır (Kinns, 2006). VFL tanısında bir diğer yöntem ise 3 boyutlu görüntüleme sağlayan ve son dönemlerde omurga kemik yapılarının değerlendirilmesinde altın standart olarak kabul edilen bilgisayarlı tomografidir (Gallastegui, 2019). Manyetik rezonans görüntüleme ise (MRG) omuriliğin, intervertebral diskin (IVD) ve çevredeki yumuşak doku yapılarının doğru şekilde değerlendirilmesine olanak sağlar. Ancak kemiklerin görüntüsü noktasında istenilen detayı vermeyebilir (Johnson, 2012). Kontrastlı görüntüleme (miyelografi veya BT miyelografi) ise pozisyonlama gereği (yani, omurganın fleksiyonu) bazen hayvanı daha fazla riske maruz bırakabileceği ve kemik parçalarının görüntülenmesini engelleyeceği nedeniyle çok sık kullanılmamalıdır (Jeffrey, 2010).

2.6. Tedavi

VFL'den kuşku duyulan hastalarda ilk önce sinirsel hasarı artırma durumu göz önüne alınarak muayene sırasında kontrolsüz hareketlerden kaçınmak gerekir. Bu noktada hastayı bir yere sabitlemek (tahta, sedye, atel) önemli olacaktır (Dewey, 2017). VFL tedavisindeki ilk amaç hasara uğramış sinir dokularının fonksiyonlarını geri kazandırabilmektir. Bu noktada tedavi seçeneği hastanın nörolojik durumuna, lezyonun biyomekanik ve kompresif özelliklerine dayanmaktadır (Patterson, 1992; Bagley, 2000). Vertebra kırığı-luksasyonlarının tedavisi, operatif tedavi ve medikal tedavi olarak ikiye ayrılır. Hangisine karar verileceği hala tartışma konusu olup klinik, nörolojik ve radyolojik muayeneler yapılarak instabilitenin değerlendirilmesine bağlıdır. Bu

konudaki genel kanı söz konusu vakada minimal ağrı ve minimal instabilite, minör nörolojik defisit varsa medikal tedavi ile başarı sağlanacağı üzerinedir. Travma sonucu vertebralarda ciddi nörolojik defisitler söz konusu ise sağlam kalan sinir dokusunu korumak için genellikle cerrahi dekompresyon ve stabilizasyon gerekir. Bu nedenle cerrahiye karar vermek instabilite durumuna bağlıdır. Vertebral kortda stabilitenin olup olmadığı son zamanlarda sıklıkla kullanılan 3 bölmeli yöntemle belirlenmektedir. Bu yöntem; vertebral kolonun uzunluğu boyunca uzanan 3 kolon olduğu ve bu kolonlardan 2 veya daha fazlasının bozulması durumunda instabilite olduğu şeklinde tanımlanabilir. Fakat bu yöntemin etkilenen segmentin olay sırasındaki hareketin kapsamını yansıtama gibi olumsuz bir yönü olduğu gözden kaçırılmamalıdır (Jeffrey, 2010; Vallefucio ve ark., 2014; Letesson ve ark., 2022). Ayrıca endike bir medikal tedavi uygulanmasına rağmen klinik tablonun kötüye gitmeye devam ettiği durumlarda operatif tedaviye geçilebileceği belirtilmektedir (Jeffrey, 2010; Vallefucio ve ark., 2014). Tedavi noktasındaki bir diğer tartışma konusu ise cerrahi müdahalenin ne zaman yapılması gerektiğidir. Bu konu değerlendirilirken hastanın çoklu organ travmasına maruz kalabileceği ve bu yüzden anesteziyenin doğabilecek sonuçlar gözden kaçırılmamalı ve kritik bir acil durum triyaj sistemi uygulanmalıdır. Fakat son yıllarda bütün olası durumlar göz önüne alındığında hastaya erken cerrahi müdahalenin hastanın lehine sonuçlandığı noktasında fikir birliği vardır (La Rosa ve ark., 2004; Fehlings ve ark., 2006). Fakat yine de anesteziyi çok hızlı başlatmanın sonucu meydana gelebilecek yaşam risklerini veya hipotansiyon durumunu düşünmek kritik önem taşır (Jeffrey, 2010).

2.7.1. Medikal Tedavi

Konservatif tedavi seçenekleri arasında atel uygulamaları, bandaj, kafes istirahati, egzersiz sınırlandırması, analjezik ve antienflamatuvar ilaç uygulamasını kapsar (Jeffery ve Blakemore, 1999; Crowe, 2009)

Torasik ve lomber VFL için atelleme ve alçılama gibi yöntemler vertebrayı sabitlemekte kullanılsa da genellikle uygulama zorluğu ve olumlu sonuç alınmadığı belirtilmektedir (Patterson ve Smith, 1992). Bu sebeple bu bölgenin konservatif olarak tedavisi uygun ölçülere ve zemine sahip kafeslerde hastanın tutulması sadece bazı ihtiyaçları için dışarı çıkartılmasını kapsamaktadır (Jeffrey, 2010).

2.7.2. Cerrahi Tedavi

Cerrahi sağaltım vertebranın redüksiyonu ve fiksasyonu ile medulla spinalisin dekompresyonunu kapsamaktadır (Fluehmann ve ark., 2006). VFL olgularında genellikle fragmentleri normal pozisyonuna getirmenin dekompresyonu sağlayacağı ve laminektomi veya hemilaminektomiye her zaman ihtiyaç olmadığı belirtilmektedir. Fakat radyolojik muayenede

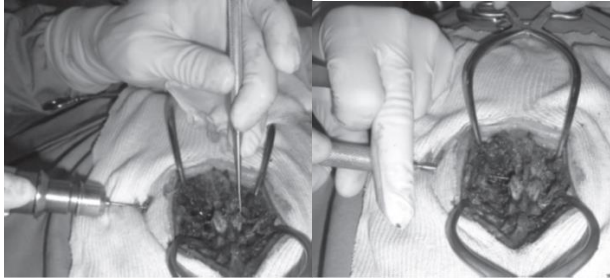
intervertebral diskin herhangi bir bölümünün medulla spinalis üzerine baskı yaptığı görüldüğünde (vertebral kanal çapının yaklaşık %35-%50'si daraldığında) bu operasyonlar yapılabilir (Dimar ve ark., 1999; Jeffrey, 2010). Laminektomi veya hemilaminektomi operasyonlarından bir diğer kaçınma sebebi ise daha fazla instabiliteye neden olma ve stabilizasyon için implantların uygulanmasındaki zorluktur (Jeffrey, 2010).

Satabilizasyon için kullanılan malzeme ve teknikler; omurların anatomik yapılarının ve pozisyonlarının farklılığından dolayı çeşitlilik gösterir. Bu nedenle tek bir tekniğin tüm VFL'ye genel olarak uygulanamayacağı anlamı çıkmaktadır. Bu açıdan her bir VFL'yi eşsiz bir vaka olarak değerlendirmek ve karşılaşılan belirli sorunların üstesinden gelmek için iyi tanımlanmış temel teknikleri amaca uygun olarak uyarlamak gerekmektedir. VFL'de tam redüksiyonu sağlamaya çalışırken omuriliğin daha fazla hasar görmesini veya iatrojenik hasar riskini unutmamak gerekir. Bu yüzden tam redüksiyona yakın pozisyona getirildiğinde 2., 3. denemeler yapılmadan sabitlemenin yapılması uygun olacağı belirtilmektedir (Jeffrey, 2010). Son zamanlarda implantların vertebraya maksimum güvenlik ve iyi kemik alımı sağlayarak yerleştirilebilmesi için güvenli implantasyon koridorları tanımlanmıştır. Bunlar; yerleştirme noktası, açı (midsagittal düzlemde derece), genişlik, uzunluk ve implantın çıkış noktasını belirlemiştir. (Vallefuoco ve ark., 2013 Vallefuoco ve ark., 2014). Yapılan bir çalışmada kedilerde torako-lomber vertebral kırık-luxasyonları için optimal güvenli implantasyon yolları belirlenmiştir (Vallefuoco ve ark., 2013). Bu koridorlar; torasik omurlarda, sagittal düzlemde ortalama optimal açı $90,2^{\circ}$, maksimum sapma açısı dorsalde 10° ve başlangıç noktasından ventralde $8,8^{\circ}$ olarak bulunmuştur. Lomber vertebralarda ise sagittal düzlemde ortalama optimal açı $90,5^{\circ}$ olup, maksimum sapma açısı yerleştirme noktasından dorsalde $8,4^{\circ}$ ve ventralde $7,6^{\circ}$ olarak bulunmuştur (Vallefuoco ve ark., 2013). Operatif tedavi seçenekleri; çiviler veya vidalar ve polimetilmetakrilat (PMMA) ile omurga stabilizasyonu, spinöz proses kaplaması, vertebral gövde kaplaması, omurga zımbalaması, gergi bandı tekniği, modifiye segmental spinal enstrümantasyon, dorsal plastik (Lubra) plaklama, SOP plak uygulamaları, UniLock kilitli plak uygulamaları, eksternal fiksator uygulamaları ve pedikul vida sistemi gibi birçok tekniği kapsamaktadır (Bruecker ve Seim, 1992; Vallefuoco ve ark., 2013 Fugazzotto ve ark., 2022; Letesson ve ark., 2022).

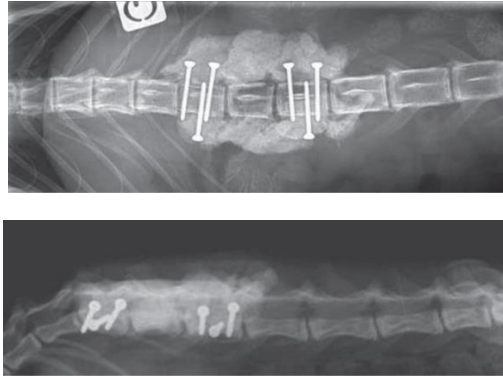
Torako-lomber bölgedeki VFL'nin operatif sağaltımında olumlu sonuç alınabilecek birçok yöntem vardır. En fazla kullanıma sahip yöntemler; vertebral gövde kaplaması (McKee, 1990), pinler ve PMMA (Vallefuoco ve ark., 2013), segmental pin ve teller ve plak uygulamalarıdır (Letesson ve ark., 2022).

2.7.3. Bikortikal Vida, Pin ve PMMA Fiksasyonu

Toraka-lumbal bölgede son 10 yılda en popüler olan stabilizasyon yöntemi bikortikal vida, pin ve polimetilmekatriolat uygulamalarıdır. Bunun nedeninin erişilebilir (ve nispeten büyük) vertebra gövdelerine sahip herhangi bir vertebraya uygulanabilen esnek bir yöntem olması ve spinal stabilite ve kaynamaya olanak sağlamak için yeterli fiksasyon sağlaması sayılabilir (Jeffrey, 2010). Uygulama için dorsal processus spinosuslar ve laminaları açığa çıkaran dorsal bir yaklaşım tekniği uygulanır. Pinleri yerleştirmek için konum ve açı belirlendikten sonra termal kemik nekrozunu ve erken pin gevşemesini önlemek için her iki kortkse de ön dirilleme işlemi yapılır (Watine ve Catheland, 2006) (Şekil 4, Şekil 5). PMMA uygulanmasının enfeksiyon riskinin artırması, operasyon bölgesinin kapatılmasındaki zorluk, paravertebral kas sistemine büyük miktarda yabancı cisim olması ve polimerizasyon sırasında oluşan ekzotermik reaksiyonun çevre dokulara zarar vermesi gibi komplikasyonları olabilir (Letesson ve ark., 2022). PMMA genellikle çift taraflı kullanımı görülmektedir. Fakat iki taraflı PMMA pin ünitesi, vertebral gövdenin lateraline yerleştirilen tek taraflı PMMA pin ünitesine kıyasla herhangi bir biyomekanik üstünlük göstermediği belirtilmiştir (Fluehmann ve ark., 2006).



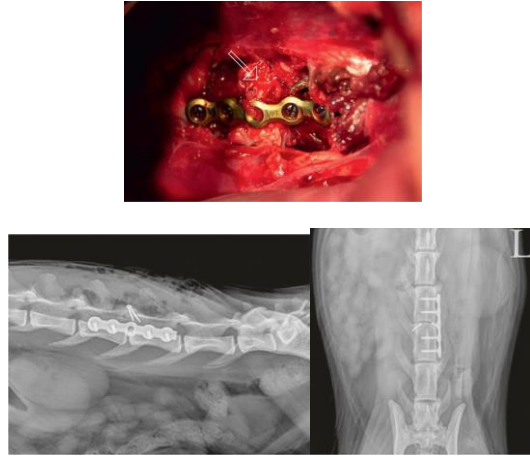
Şekil 4. Vertebraların drilllenmesi ve pinlerin yerleştirilmesi (Vallefuoco ve ark., 2014).



Şekil 5. Post- Op PMMA stabilizasyonu (Vallefuoco ve ark., 2014).

2.7.4. Vertebral Plak Fiksasyonu

Vertebral stabilizasyonda standart plakların uygulanmasının stabil olması için kemik-plak uyumunun mükemmel olması gerekmektedir (Barnhart ve Maritato, 2018). Bölgenin anatomisi nedeniyle bu bölgede kemik plak uyumunu sağlamanın kolay olmadığı belirtilmektedir. Bu sorun kilitli plakların kullanımıyla çözülmüş durumdadır. Kilitli plakların (Zincir Plakalar (SOP) plakası ve kilitli kompresyon plağı (LCP)) mükemmel şekillendirilmeye ihtiyaç duymadan monokortikal vidalarla (Hettlich ve ark., 2017) yeterli stabilite sağlamaları, kemiğin gerilimsiz bir yüzeyine yerleştirilebilir olması, normal omurga sertliğine daha yakın olması gibi avantajları vardır. Bu özellikler torako-lomber bileşke gibi büyük fleksiyon kuvvetlerinin mevcut olduğu bölgelerde oldukça önemlidir. Son dönemde yapılan bir çalışmada 2-0 UniLock kilitli implantların tasarımı ve titanyum bileşimi omurga stabilizasyonuna uygun olduğu ve MR görüntüleme avantaj getirdiği vurgulanmıştır (Letesson ve ark., 2022). Küçük köpekler ve kediler genellikle 2.7 mm vida ve plakaları kabul edilirken, orta ve daha büyük köpeklerde 3.5 mm implant kullanılabilir (McKee, 2008) (Şekil 6).

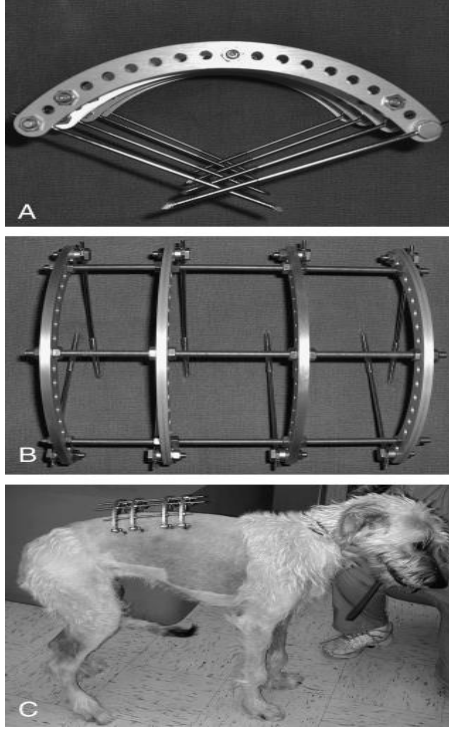


Şekil 6. Toraka-lomber omurgaya tek taraflı SOP plak uygulaması (Letesson ve ark., 2022).

2.7.5. External Fiksasyon Uygulaması

Vertebral kolona eksternal fiksasyonu uygulaması açık yaklaşımla veya floroskopik kılavuzla kapalı yaklaşımla yapılabilir. Kapalı pin uygulamasının kemik iyileşmesi ve paravertebral damarlardaki hasarı azalttığı gözlemlenmiştir. Eksternal fiksasyon uygulanırken pinler iki taraflı olarak yerleştirilir, tipik olarak lezyonun olduğu kraniyal ve kaudal iki omurunu kapsar. Pinler dışarıdan sabit bir çerçeve oluşturmak için birbirine bağlanan

karbon fiber rotlara bağlanır. Eksternal fiksasyonun en önemli faydası büyük bir ameliyat olmaksızın implantın çıkarılabilmesidir. Olumsuz tarafı, hasta sahibine günlük bakım gerektirir ve post-operatif rehabilitasyon gerektirebilir (Wheeler ve ark., 2007) (Şekil 7).



Şekil 7. Eksternal fiksasyon uygulaması (Wheeler, 2007).

2.8. Post-Operatif Bakım

Operatif müdahale yapılan hayvanların ilgili kırık fragmentleri stabilize edildiği için ağrı azalır ve bu açıdan post-operatif bakımları daha kolaydır. Post-operatif bakımda yapılması gerekenler; ağrının azaltılması, yatış pozisyonunun riskli hala gelmesinin önlenmesi, idrar ve dışkı çıkışının sağlanması, ekstremitelerde kullanımı teşvik etmek ve fizik tedavi ile kas atrofisini engellemektir (Bubenik ve Hosgood, 2008).

Ağrının azaltılması için non-steroid anti-enflamatuvarlar ilaçlar, opioidler gibi ajanlar kullanılabilir. Bazı yazarlar VFL olgularında şiddetli ağrı olduğu için opioid kullanımının zorunlu olduğunu ve metadon ve morfin gibi ilaçların en uygun ilaçlar olduğunu belirtir. Bununla birlikte buprenorfin ve oral opioid ilaçlar da ağrı kontrolünü sağlayabilir. Opioid kullanımının ardından kısa süreli iştah kayıpları yaşandığı rapor edilmiştir. Yatış pozisyonlarının takibi

oldukça önemlidir bu konudaki en iyi önlem askı ve benzeri destekleri kullanarak hayvanın pozisyonunu sık sık (2-4 saatte bir) değiştirmektir (Bubenik ve Hosgood, 2008; Jeffery, 2010).

Fizik tedavi uygulamalarının yoğun şekilde başlaması hastaların acı çekme ihtimali olduğu için çok doğru değildir. Bunun yerine bölgedeki dolaşımı arttırmak için hafif masajlar şeklinde uygulamalar yapılmalıdır. Daha sonra etkilenen ekstremiteye normal yürümeyi taklit eden hareketler yaptırılabilir. Hayvan daha da uygun hale geldiğinde yüzme veya koşu bandı yürüyüşü yaygın olarak kullanılmaktadır. VFL olgularında hayvanlarda fonksiyonların geri gelmesi 3 ay kadar sürebileceği ve ötenazi kararlarının acele alınmaması gerekliliği vurgulanmaktadır (Jeffery, 2010).

3.KAYNAKÇA

- Bagley, R.S. (2000). Spinal fracture or luxation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 30(1), 133-153.
- Bali, M.S., Lang, J., Jaggy, A., et al. (2009). Comparative study of vertebral fractures and luxations in dogs and cats. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 22(1), 47-53.
- Barnhart, M.D., Maritato, K.C. (2018). Locking Plates in Veterinary Orthopedics. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons.
- Beal, M.W., Paglia, D.T., Griffin, G.M., et al. (2001). Ventilatory failure, ventilator management, and outcome in dogs with cervical spinal disorders: 14 cases (1991–1999). *J Am Vet Med Assoc*, 218(10), 1598-602.
- Bruce, C.W., Brisson, B.A., Gyselinck, K. (2008). Spinal fracture and luxation in dogs and cats: a retrospective evaluation of 95 cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 21(3), 280-284.
- Bruecker, K.A., Seim, H.B.I. (1992). Principles of spinal fracture management. *Semin Vet Med, Surg (Small Anim.)*, 7, 71-84.
- Bubenik, L., Hosgood, G. (2008). Urinary tract infection in dogs with thoracolumbar intervertebral disc herniation and urinary bladder dysfunction managed by manual expression, indwelling catheterization or intermittent catheterization. *Vet Surg*, 37(8), 791-800.
- Crowe, D.T. (2009). Patient triage. In: Siverstein DC, Hopper K, eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. 1st edn. Missouri: Elsevier; pp. 5-9.
- Dewey C.W., Da Costa R.C. (2015). *Practical Guide to Canine and Feline Neurology*, 3rd edn. New Jersey, ABD: Wiley-Blackwell,
- Dewey, C.W. (2017). Nörolojik muayene ve ilgili nöroanotomi. In: Fossum TW, eds. *Küçük Hayvan Cerrahisi*. 4. baskı. Malatya, Türkiye: Medipres. pp. 1422-1434.
- Dimar JR, Glassman SD, Raque GH, et al. (1999). The influence of spinal canal narrowing and timing of decompression on neurologic recovery after spinal cord contusion in a rat model. *Spine*, 24(16), 1623-1633.
- Dyce, K.M., Sack, W.O. (2009). *Textbook of Veterinary Anatomy*. 4th edn., Amsterdam, Hollanda: Elsevier Health Sciences.
- Fehlings, M.G., Perrin, R.G. (2006). The timing of surgical intervention in the treatment of spinal cord injury: a systematic review of recent clinical evidence. *Spine*, 31(Suppl 11), 28-35.

- Fluehmann, G., Doherr, M.G., Jaggy, A. (2006). Canine neurological diseases in a referral hospital population between 1989 and 2000 in Switzerland. *J Small Anim Pract*, 47(10), 582-587.
- Fugazzotto, D., Devoti, C.C. , Dumas, M. P., Teani, C.B., Elisa, Z. (2022). Offer diagnostic and treatment of spinal fracture and luxation in Italian Wolves (*Canis lupus italicus*). *Animals*, 12, 3044.
- Gallastegui, A., Davies, E., Zwingenberger, A. L., Nykamp, S., Rishniw, M., Johnson P. J. (2019). “MRI has limited agreement with CT in the evaluation of vertebral fractures of the canine trauma patient. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 60(5), 533-542.
- Hettlich, B.F., Fosgate, G.T., Litsky, A.S. (2017). Biomechanical comparison of 2 veterinary locking plates to monocortical screw/polymethylmethacrylate fixation in canine cadaveric cervical vertebral column. *Veterinary Surgery*, 46(1), 95-102.
- Heyman, S.J., Diefenderfer, D.L., Goldschmidt. M.H., et al. (1992). Canine axial skeletal osteosarcoma. A retrospective study of 116 cases (1986 to 1989). *Vet Surg*, 21(4), 304-10.
- Jeffery, N. (2010). Vertebral fracture and luxation in small animals. *Vet Clin Small Anim*, 40, 809-828.
- Jeffery, N.D., Blakemore, W.F. (1999). Spinal cord injury in small animals. 1. Mechanisms of spontaneous recovery. *Vet Rec*, 144(15), 407-413.
- Johnson, P., Beltran, E., Dennis, R., Taeymans, O. (2012). Magnetic resonance imaging characteristics of suspected vertebral instability associated with fracture or subluxation in eleven dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 53(5), 552-559.
- Johnston, S.A, Tobias, K.M. (2017). *Veterinary Surgery: Small Animal Expert Consult*. 2nd edn. baskı, Amsterdam, Hollanda: Elsevier Inc.
- Kinns, J., Mai, W., Seiler, G., et al. (2006). Radiographic sensitivity and negative predictive value for acute canine spinal trauma. *Vet Radiol Ultrasound*, 47(6), 563-570.
- König, H.E., Liebich, H.G. (2007). *Veteriner Anatomi (evcil memeli hayvanlar) Metin ve Renkli Atlas*. 6. baskı. Malatya, Türkiye: Medipres; p. 89-102.
- La Rosa, G., Conti, A., Cardali, S., et al. (2004). Does early decompression improve neurological outcome of spinal cord injured patients? Appraisal of the literature using a meta-analytical approach. *Spinal Cord*, 42(9), 503-512.

- Letesson, J., Goin, B., Trouillet, J. L., Barthez, P. (2022). Long-term follow-up of dogs and cats after stabilization of thoracolumbar instability using 2-0 unilock implants. *Hindawi Veterinary Medicine International*, 1-14.
- Marioni-Henry, K., Vite, C.H., Newton, A.L, et al. (2004). Prevalence of diseases of the spinal cord of cats. *J Vet Intern Med*, 18(6), 851-858.
- McKee, WM. (1990). Spinal trauma in dogs and cats: a review of 51 cases. *Vet Rec*, 126 (12), 285-289.
- McKee, WM., Downes C.J. (2008). Vertebral stabilisation and selective decompression for the management of triple thoracolumbar disc protrusions. *J Small Anim Pract*, 49(10), 536-539.
- Patterson, R.H., Smith, G.K. (1992). Backsplinting for treatment of thoracic and lumbar fracture/luxation in the dog: principles of application and case series. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 4, 179-187.
- Vallefuoco, R., Bedu, A.S, Manassero, M, et al. (2013). Computed tomography study of the optimal safe implantation corridors in feline thoraco-lumbar vertebrae. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 26, 372-378.
- Vallefuoco, R., Manassero, M., Leperlier, D., Scotti, S., Viateau, V., Moissonnier, P. (2014). Surgical repair of thoraco-lumbar vertebral fracture-luxations in eight cats using screws and polymethylmethacrylate fixation. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 27, 306-312.
- Watine, S.C.J., Catheland S. (2006). Computed tomographic study of implantation corridors in canine vertebrae. *Small Anim Pract*, 47, 651-657.
- Wheeler, J.L., Lewis, D.D., Cross, A.R., Sereda, C.W. (2007). Closed fluoroscopic-assisted spinal arch external skeletal fixation for the stabilization of vertebral column injuries in five dogs. *Vet Surg*, 36(5), 442-448.

BÖLÜM 4

SPERMA KALİTESİNİ ETKİLEYEN GENETİK MARKERLERİN BELİRLENMESİNDE GENOM-BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARININ ÖNEMİ

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ESER¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402012>

¹Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, ahmet.eser@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-1326-2678

1.GİRİŞ

Tarım ve hayvancılık sektörü, başlıca et ve süt olmak üzere temel besin kaynaklarının karşılanması, sanayi sektörüne hammadde temini ve yüksek derecede istihdam alanı oluşturmasından dolayı ülkeler için önemli bir ekonomik kaynak olarak görülmektedir. Ancak, insan nüfusunda meydana gelen aşırı artış kişi başına düşen tarımsal ürünlerin, özellikle de et ve süt gibi insan gelişiminde önemli rol oynayan hayvansal ürünlerin giderek ulaşılabilir bir hal almasına neden olmaktadır. Bu olumsuz tablonun düzeltilmesi için izlenmesi gereken yegâne yol; reproduktif biyoteknolojik yöntemlerin planlı bir şekilde uygulanması ile ıslah çalışmalarına hız kazandırılarak birim hayvan başına alınan verimin artırılmasıdır. Bu amaçla kullanılan başlıca yöntemlerden biri, yüksek damızlık değere sahip, genetik olarak üstün verim özellikleri barındıran ve bu özellikleri sonraki jenerasyonlara aktarabilen erkek hayvanlardan elde edilen spermaların dondurulması ve geniş bir coğrafyada dişilere uygulanacak olan suni tohumlama işlemlerinde kullanılarak jenerasyon aralığının azaltılması, dolayısıyla ıslah çalışmalarının etkinliğinin artırılmasıdır. Tüm bu süreçlerin başarılı bir şekilde yürütülmesi için atılması gereken ilk adım değerli damızlık hayvanların seçilmesi ve geliştirilmesidir. Günümüzde erkek damızlık materyalinin seçiminde kullanılan en yaygın yöntem progeny testidir. Bu yöntem küresel olarak en çok sığırlarda uygulanmakta, boğanın sonraki jenerasyonlardaki kızlarının fenotipik ve verim özellikleri incelenerek damızlık değeri ortaya konulmaktadır. Hızla gelişen modern genetik teknolojiler sayesinde erkek veya dişi hayvanların damızlık değerleri son yıllarda genomik yöntemlerle de tahmin edilmeye başlanmıştır. Diğer yandan, suni tohumlama amaçlı sperması kullanılacak aday erkek materyalde fertilitiyi etkileyen spermatolojik parametrelerin tahmin edilmesi de önemli bir konudur. Örneğin klasik ve/veya genomik yöntemlerle damızlık değeri tahmin edilen suni tohumlama adaylarının, ilk aşım olgunluğuna gelmeden spermatolojik parametreleri ve buna bağlı olarak fertilitate gücü hakkında fikir sahibi olmak mümkün değildir. Dolayısıyla bu hayvanların ilk aşım olgunluğuna geldiği tarihte yapılacak spermatolojik muayeneler sonucunda, infertilite nedeniyle suni tohumlama boğası/koçu/tekesi damızlık adaylığından çıkarmak gerekebilmektedir. Bu durum hem zaman kaybı hem de ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

2. ERKEK HAYVANLARDA POTANSİYEL FERTİLİTE YETENEĞİ ÜZERİNE ETKİLİ GENETİK MARKERLERİN ÖNEMİ

Son yıllarda hızla gelişen moleküler teknolojiler sayesinde hayvan ıslahı çalışmalarında genomik testlerin kullanılması ve genomik seleksiyon yöntemlerinin geliştirilmesini imkân sağlamıştır. Genomik testler ile hayvanın verim özellikleri üzerinde etkili olan genler araştırılmakta ve saptanan genomik

bölgeler yardımıyla hayvanın sahip olduğu, aynı zamanda da sonraki jenerasyonlara aktaracağı verim özellikleri ortaya konulmaktadır (Inanç ve Daşkın, 2015). Bu teknolojinin kullanılması ile erken yaşlarda (doğumdan itibaren) hayvanın damızlık değeri hakkında fikir sahibi olunabileceği için jenerasyon süresi oldukça kısalmakta ve genetik ıslah ilerleme hızı artmaktadır (Özbeyaz ve Kocakaya, 2011). Benzer şekilde, üstün damızlık vasfa sahip olan erkek materyalin potansiyel fertilite yeteneğini de teorik olarak doğduğu günden itibaren genomik yöntemlerle tahmin etmek mümkündür. Damızlık hayvan üretim merkezlerinde hayvanlara ait verim özelliklerinin belirlenmesinin yanında diğer önemli bir konu erkek hayvanlar için sperma kalitesi ve spermatozoonların donmaya karşı gösterdikleri direnci etkileyen faktörlerin belirlenmesidir. Hayvanlar genetik olarak her ne kadar yüksek verim kapasitesine sahip olsalar da bu özelliklerini sonraki jenerasyonlara aktaramadığı sürece damızlık olarak kullanılamazlar. Bundan dolayı, damızlık hayvanlara ait reproduktif parametreler düzenli aralıklarla kontrol edilmektedir. Hayvanlarda sperma kalitesi yaş, beslenme, endokrin fonksiyon bozuklukları, mevsim, sperma alma yöntemi, ejakülasyon sıklığı gibi birçok faktörler yanında (Mathevon ve ark., 1998; Fuerst-Waltl ve ark., 2006; Sato ve ark., 2020), bireysel genetik faktörlerden de etkilenmektedir (Druet ve ark., 2009; Wolf 2010; England ve ark., 2010). Damızlık adayı erkek materyalde yukarıda sayılan çevresel faktörler bireyler arasında standardize edildiğinde geriye kalan varyasyonun genetik faktörlerden ileri geldiği varsayılır. Dolayısıyla, çevresel faktörlerin optimum hale getirilmesi tek başına spermatolojik parametrelerin geliştirilebileceğini garanti etmez, genetik faktörlerin de göz önünde bulundurulması gerekir. Sperma üretimi ve kalite değerlendirilmesinin yapıldığı laboratuvarlarda spermatozoon motilitesi (%), spermatozoon konsantrasyonu ($\times 10^9/\text{ml}$) ve sperma hacmi (ml) parametreleri öncelikli olarak dikkate alınır (Sato ve ark., 2020; Serrano ve ark., 2021). Sperma hacmi ve spermatozoon konsantrasyonu payet içerisine koyulacak optimal spermatozoon sayısının hesaplanmasında kullanılır iken; spermatozoon motilitesi hayvanın potansiyel fertilizasyon yeteneği için birincil indikatör olarak değerlendirilir (Gadea 2005; Broekhuijse ve ark., 2012). Boğalarda yapılan çalışmalarda fertilite yeteneğini ilgilendiren parametrelerin genel olarak düşük/orta düzeyde kalıtım derecesine (0,05-0,22) sahip olduğu ve bu parametreler üzerinde genetik etkinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Berry ve ark., 2014). Bu sebepten dolayı spermatolojik parametreler gibi fertilite ile ilgili faktörleri etkileyen genetik varyasyonların keşfi, kalıtım modellerinin anlaşılması ve bu bilgilere dayalı yapılacak genomik seleksiyon sonucunda reproduktif başarı oranını artırmak, suni tohumlama adaylarının potansiyel fertilite yeteneklerini çok erken yaşlarda tahmin etmek mümkün olabilmektedir. Diğer önemli bir konu; damızlık hayvan geliştirilmesi amacıyla yapılan ıslah çalışmalarının ağırlıklı olarak et verimi, süt verimi, vücut yapısı vb. gibi fenotipik özellikleri etkileyen faktörler üzerine olmasıdır. Bu durum

pleiotropik etkiye (bir genin birçok fenotipik özelliği etkilemesi) bağlı gelişen döl verimi sorunlarına neden olabilmektedir. Örneğin; son birkaç yılda etçi sığırların fertilitite başarı oranlarında düşüşler meydana geldiği tespit edilmiştir (Thundathil ve ark., 2016). Bu duruma neden olan olumsuz etki olarak; et veriminin geliştirilmesinde olumlu etkiye sahip genlerin pleiotropik etkiye neden olarak fertilitite yeteneğini olumsuz yönde etkilemesi gösterilmektedir (Cánovas ve ark., 2014; Fonseca ve ark., 2018). Erkek ve dişi hayvandan yavruya aktarılan milyonlarca genetik varyasyon olduğu düşünüldüğünde tüm genomik haritanın çıkartılması elbette ki günümüz şartlarında çok ekonomik değildir (Inanç ve Daşkın 2015). Ancak en azından hayvanın verim yönünü etkileyen faktörlerle birlikte reproduktif özellikleri etkileyen genetik etkilerin de araştırılması, ayrıca bu genlerin muhtemel çapraz etkilerin ortaya çıkartılması üretim başarısı ve karlılığını artıracığı söylenebilir.

3. GENOM-BOYU İLİŞKİLENDİRME ÇALIŞMALARINI İLE SPERMA KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLİ GENETİK MARKERLERİN TESPİTİ: GÜNCEL ÇALIŞMALAR

Tüm genom boyunca dağılım gösteren on binlerce hatta yüz binlerce tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotide Polymorphisms-SNP) bir defada tarayarak bu SNP'lerin fenotip üzerine etkisini görmek günümüzde artık ulaşılabilir bir teknoloji haline gelmiştir. Geliştirilen Microarray çipler sayesinde, küçükbaş hayvanlarda >50.000, büyükbaş hayvanlarda ise >700.000 SNP yönünden genotiplendirme yapmak artık mümkündür ve bu teknoloji ülkemizde de yaygınlaşmaya başlamıştır. Bahsedildiği şekliyle, bir defada yüz binlere varan SNP genotiplendirilerek yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmaları (genome-wide association study; GWAS) sayesinde, tespit edilen SNP'ler veya SNP kümeleri ile bir hastalık veya kantitatif bir özellik arasında olması muhtemel ilişkilerin ortaya konulması ve elde edilen genetik bilginin Marker Yardımlı Seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılması günümüzde artık mümkündür. Son yıllarda, sperma parametrelerini etkileyen genetik faktörlerin belirlenmesi amacıyla insan, boğa, domuz, aygır, koç, horoz gibi çeşitli hayvan türlerinde GWAS yönteminin kullanılması ile çalışmalar yürütülmüş ve farklı aday genlerin tespiti yapılmıştır (Tablo). Bu çalışmalar incelendiğinde araştırmaların genel olarak taze sperma ile yapıldığı ve spermatozoon hareket parametreleri, spermatozoon konsantrasyonu, sperma hacmi gibi temel spermatolojik parametreler ve pubertaya ulaşma yaşı gibi temel parametrelerin incelendiği dikkat çekmektedir.

Tablo1. GWAS ile tespit edilen ve erkek fertilitesi üzerine etkili aday gen bölgeleri ile ilişkili olduğu parametreler.

Tür	Gen bölgesi	İlişki	Kaynak
İnsan	<i>ERBB4</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon motilitesi 	Sato ve ark., 2018
	<i>LRR1Q1, TSPAN19</i>	<ul style="list-style-type: none"> Plazma inhibin B seviyesi 	Sato ve ark., 2020
	<i>KIF17</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon konsantrasyonu 	Markantoni ve ark., 2021
Boğa	<i>MAP3K1, VIP</i>	<ul style="list-style-type: none"> Skrotal çevre uzunluğu 	Sweett ve ark., 2020
	<i>SOD2, TCPI1, PACRG, SPEF2, PRLR</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon konsantrasyonu Spermatozoon motilitesi 	
	<i>ADAM11, PARP2, PARP9, NECTIN3, SPA17, PRSS21, TRIP13, NDRG2, RNASE4, TEX14, MEIOC, SLX4, RAD51C, BRCA1, CSNK2A, CREBBP, TIMP2</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatogenezis süreci 	Stafuzza ve ark., 2020
	<i>ETNK1, PDE3A, PDGFRB, CSF1R, WT1, DSCAM1, SOD1, RUNX2</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülât hacmi Spermatozoon motilitesi Spermatozoon konsantrasyonu Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı Ejakülattaki motil spermatozoon sayısı 	Qin ve ark., 2017
	<i>PSMB5, PRMT5, ACTB, PDE3A, NPC1, FSCN1, NR5A2, IQCG, LHX8, DMRT1</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülât hacmi Spermatozoon progresif motilitesi Spermatozoon konsantrasyonu Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı 	Yin ve ark., 2019

		<ul style="list-style-type: none"> Ejakülattaki toplam progresif motil spermatozoon sayısı 	
	<i>DCP1A, SFMBT1, TMEM110</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülata hacmi Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı 	Hering ve ark., 2014
	<i>SIPA1L2</i>	<ul style="list-style-type: none"> Gebelik oranı 	Abril-Parreño ve ark., 2023
	<i>DYRK1A, TEC, TXK</i>	<ul style="list-style-type: none"> Kitle hareketi 	
	<i>FHDC1, ATP13A4</i>	<ul style="list-style-type: none"> Eritme sonrası spermatozoon motilitesi 	
Domuz	<i>MTFMT</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon motilitesi 	Diniz ve ark., 2014
	<i>PLA2G4A, PTGS2, HPGDS</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon progresif motilitesi 	Marques ve ark., 2018
	<i>STRA8, ZSWIM7, TEKT3, UBB, CATSPER1</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon motilitesi 	Zhang ve ark., 2023a
	<i>EIF2B2, MLH3, ZSWIM7, TEKT3, UBB</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon abnormalite oranı 	
	<i>CCDC70</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı 	
	<i>PTBP2, STRA8</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon progresif motilitesi 	
Ayrır	<i>FKBP6</i>	<ul style="list-style-type: none"> Akrozom reaksiyonu 	Raudsepp ve ark., 2012
	<i>MIER1</i>	<ul style="list-style-type: none"> Jelsiz sperma hacmi 	Gottschalk ve ark., 2016
	<i>NEGR1</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon konsantrasyonu 	
	<i>CTNNA3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülattaki progresif spermatozoon sayısı 	
	<i>CTNNA3, C1QTNF7</i>	<ul style="list-style-type: none"> Spermatozoon progresif motilitesi 	
	<i>NXPE3</i>	<ul style="list-style-type: none"> Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı 	
	<i>NME8, OR2AP1, OR6C4, PHACTR4</i>	<ul style="list-style-type: none"> Eritme sonrası spermatozoon motilitesi 	Nikitkina ve ark., 2022

Koç	<i>SPEF2</i>	<ul style="list-style-type: none">Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı	Serrano ve ark., 2021
	<i>SCAPER, PSMA4</i>	<ul style="list-style-type: none">Sperma hacmi	
	<i>PARM1</i>	<ul style="list-style-type: none">Ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı	
	<i>SLC9C1, FUT10</i>	<ul style="list-style-type: none">Sperma kitle hareketi	
Horoz	<i>FAPPI, OSBPL6, SESTD1, SSFA2</i>	<ul style="list-style-type: none">Sperma hacmi	Zhang ve ark., 2023b

4. SONUÇ

Spermanın donma öncesi ve eritme sonrası dönemdeki potansiyel fertilite yeteneği hakkında fikir veren birçok spermatojistik analiz mevcuttur. Son yıllardaki gelişmeler sayesinde daha güvenilir ve teferruatlı sonuçlar sağlayabilen spermatojistik analiz yöntemleri kullanıma girmiştir. Bilgisayar destekli sperma analiz sistemleri (CASA) ile spermatozoon hareket parametrelerinin objektif muayenesi yapılabilmekte, spermatozoonun fertilizasyon kapasitesini belirlemede önemli rol oynayan total motilite (%), progresif motilite (%) ve kinetik hareket parametrelerine (VAP/eğrisel ortalama yol hızı, VSL/doğrusal yol hızı, VCL/eğrisel salınımlı yol, ALH/spermatozoon başı sapma, salınım hızı) ait veriler elde edilebilmektedir (Kathiravan ve ark., 2011). Ayrıca floresan boyama protokollerin kullanılması, özellikle de akış sitometrisi (flow-cytometry) muayene yöntemleri ile yüksek sayıda (5.000-10.000 gibi) spermatozoonunda mitokondriyal aktivite, canlılık, DNA fragmentasyonu, membran bütünlüğü, akrozom bütünlüğü, kapasitasyon, oksidatif stres gibi birçok parametre incelenebilmektedir (Eser, 2021). Taze sperma ile kıyaslandığında, donmuş sperma ile yapılan tohumlamalar ile elde edilen gebelik oranları kriyopreservasyon kaynaklı hücrede meydana gelen fiziksel, biyokimyasal ve fonksiyonel hasarlardan dolayı olumsuz yönde etkilenmektedir (Watson, 2000). Spermanın kriyopreservasyonunda elde edilen başarı türler arasında spermatozoonların yapısal farklılıklardan dolayı çeşitlilik göstermektedir. Aynı tür içerisindeki bireyler ile yapılan çalışmalarda da özellikle donma sonrası başarının bireye bağlı olarak farklılık gösterdiği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Thurston ve Watson, 2002). Donmuş spermanın global düzeydeki pazar hacmi düşünüldüğünde, aynı hayvan türü ve yaş grubunda, eşit bakım, besleme ve çevre koşullarına tabii tutulan hayvanlar arasındaki spermatozoonların donmaya karşı gösterdiği direnç farklılıklarına, diğer bir söylemle hücresel hasar boyutlarında meydana gelen farklılıklara neden olan genetik altyapının araştırılması oldukça önem arz etmektedir. Bu şekildeki genotip-fenotip ilişkilendirme çalışmalarında, CASA ve akış sitometrisi gibi objektif değerlendirme kriterleri sunan gelişmiş analiz sistemlerinin kullanılmasıyla elde edilen spermatojistik parametrelerin

değerlendirilmesi önerilmektedir (Gottschalk ve ark., 2016). Sperma kalitesini ve özellikle donma-eritme sonrası başarıyı etkileyen aday genlerin belirlenmesi ve damızlık hayvan seçiminde rehber olarak kullanılması ile reproduktif başarı oranlarının artacağı, suni tohumlama adayı erkek damızlık seçiminde jenerasyon aralığının önemli ölçüde azalacağı öngörülebilir. GWAS yöntemi ile kantitatif veya kalitatif özellik ile genom boyunca dağılım gösteren çok fazla sayıda SNP arasındaki muhtemel ilişkilerin araştırılmasında güvenilirliği kanıtlanmış istatistiksel modeller geliştirilmiştir. Damızlık hayvan seçimi veya yetiştiriciliğinde başlıca incelenen parametreler arzu edilen verim özellikleri, vücut yapısı vs. ile ilgili fenotipik özelliklerdir. Bu parametrelerin yanında aday damızlıkların potansiyel fertilitite kabiliyetini etkileyen reproduktif parametrelerin de araştırılması sürdürülebilir ıslah çalışmaları için gereklilik arz etmektedir. Sonuç olarak, reproduktif parametreler üzerine etkili aday gen bölgelerinin belirlenmesi ve bu gen bölgelerinin damızlık seçiminde rehber olarak kullanılması damızlık hayvan seçimini oldukça kolaylaştırabilir.

5. KAYNAKÇA

- Abril-Parreño, L., Carthy, T. R., Keogh, K., Štiavnická, M., O'Meara, C., Lonergan, P., ... & Fair, S. (2023). Genome-wide association study reveals candidate markers related to field fertility and semen quality traits in Holstein-Friesian bulls. *Animal*, 17(6), 100841.
- Berry, D. P., Wall, E., & Pryce, J. E. (2014). Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*, 8(s1), 105-121.
- Broekhuijse, M. L. W. J., Šoštarić, E., Feitsma, H., & Gadella, B. M. (2012). Application of computer-assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. *Journal of Animal Science*, 90(3), 779-789.
- Cánovas, A., Reverter, A., DeAtley, K. L., Ashley, R. L., Colgrave, M. L., Fortes, M. R., ... & Thomas, M. G. (2014). Multi-tissue omics analyses reveal molecular regulatory networks for puberty in composite beef cattle. *PLoS One*, 9(7), e102551.
- Diniz, D. B., Lopes, M. S., Broekhuijse, M. L. W. J., Lopes, P. S., Harlizius, B., Guimarães, S. E. F., ... & Silva, F. F. (2014). A genome-wide association study reveals a novel candidate gene for sperm motility in pigs. *Animal Reproduction Science*, 151(3-4), 201-207.
- Druet, T., Fritz, S., Sellem, E., Basso, B., Gerard, O., Salas-Cortes, L., ... & Eggen, A. (2009). Estimation of genetic parameters and genome scan for 15 semen characteristics traits of Holstein bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 126(4), 269-277.
- England G.C., Philips L. & Freeman S.L. (2010) Heritability of semen characteristics in dogs. *Theriogenology*, 74, 1136-1140.
- Eser, A. (2021). Koç sperması dondurulmasında resveratrol, siklodekstrin ve kombinasyonlarının eritme sonrası spermatolojik özellikler üzerine etkisi. Lisansüstü Eğitim Enstitüsü. Doktora Tezi, İstanbul.
- Fonseca, P. A. D. S., Id-Lahoucine, S., Reverter, A., Medrano, J. F., Fortes, M. S., Casellas, J., ... & Cánovas, A. (2018). Combining multi-OMICs information to identify key-regulator genes for pleiotropic effect on fertility and production traits in beef cattle. *PLoS One*, 13(10), e0205295.
- Fuerst-Waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., & Sölkner, J. (2006). Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. *Animal Reproduction Science*, 95(1-2), 27-37.

- Gadea, J. (2005). Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*, 63(2), 431-444.
- Gottschalk, M., Metzger, J., Martinsson, G., Sieme, H., & Distl, O. (2016). Genome-wide association study for semen quality traits in German Warmblood stallions. *Animal Reproduction Science*, 171, 81-86.
- Hering, D. M., Oleński, K., Ruś, A., & Kaminski, S. (2014). Genome-wide association study for semen volume and total number of sperm in Holstein-Friesian bulls. *Animal Reproduction Science*, 151(3-4), 126-130.
- Inanç, M. ve Daşkın, A. (2015). Sığırlarda suni tohumlama uygulamaları yönünden genomik seleksiyonun önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10 (2).
- Kathiravan, P., Kalatharan, J., Karthikeya, G., Rengarajan, K., & Kadirvel, G. (2011). Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system—a review. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(1), 165-172.
- Markantoni, M., Sarafidou, T., Kyrgiagini, M. A., Chatziparasidou, A., Christoforidis, N., Dafopoulos, K., & Mamuris, Z. (2021). Replicating a GWAS: two novel candidate markers for oligospermia in Greek population. *Molecular Biology Reports*, 48(5), 4967-4972.
- Marques, D. B., Bastiaansen, J. W., Broekhuijse, M. L., Lopes, M. S., Knol, E. F., Harlizius, B., ... & Lopes, P. S. (2018). Weighted single-step GWAS and gene network analysis reveal new candidate genes for semen traits in pigs. *Genetics Selection Evolution*, 50(1), 1-14.
- Mathevon, M., Buhr, M. M., ve Dekkers, J. C. M. (1998). Environmental, management, and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*, 81(12), 3321-3330.
- Nikitkina, E. V., Dementieva, N. V., Shcherbakov, Y. S., Atroshchenko, M. M., Kudinov, A. A., Samoylov, O. I., ... & Romanov, M. N. (2022). Genome-wide association study for frozen-thawed sperm motility in stallions across various horse breeds. *Animal Bioscience*, 35(12), 1827.
- Özbeyaz, C. ve Kocakaya, A. (2011). Süt Sığırlarında Genomik Değerlendirme (Derleme). *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 51(2), 93-104.
- Qin, C., Yin, H., Zhang, X., Sun, D., Zhang, Q., Liu, J., ... & Zhang, S. (2017). Genome-wide association study for semen traits of the bulls in Chinese Holstein. *Animal Genetics*, 48(1), 80-84.

- Raudsepp, T., McCue, M. E., Das, P. J., Dobson, L., Vishnoi, M., Fritz, K. L., ... & Chowdhary, B. P. (2012). Genome-wide association study implicates testis-sperm specific FKBP6 as a susceptibility locus for impaired acrosome reaction in stallions. *PLoS Genetics*, 8(12), e1003139.
- Sato, Y., Tajima, A., Kiguchi, M., Kogusuri, S., Fujii, A., Sato, T., ... & Iwamoto, T. (2020). Genome-wide association study of semen volume, sperm concentration, testis size, and plasma inhibin B levels. *Journal of Human Genetics*, 65(8), 683-691.
- Sato, Y., Tajima, A., Sato, T., Nozawa, S., Yoshiike, M., Imoto, I., ... & Iwamoto, T. (2018). Genome-wide association study identifies ERBB4 on 2q34 as a novel locus associated with sperm motility in Japanese men. *Journal of Medical Genetics*, 55(6), 415-421.
- Serrano, M., Ramón, M., Calvo, J. H., Jiménez, M. Á., Freire, F., Vázquez, J. M., & Arranz, J. J. (2021). Genome-wide association studies for sperm traits in Assaf sheep breed. *Animal*, 15(2), 100065.
- Stafuzza, N. B., Costa e Silva, E. V. D., Silva, R. M. D. O., Costa Filho, L. C. C. D., Barbosa, F. B., Macedo, G. G., ... & Baldi, F. (2020). Genome-wide association study for age at puberty in young Nelore bulls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 137(2), 234-244.
- Sweett, H., Fonseca, P. A. S., Suárez-Vega, A., Livernois, A., Miglior, F., & Cánovas, A. (2020). Genome-wide association study to identify genomic regions and positional candidate genes associated with male fertility in beef cattle. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14.
- Talouarn, E., Bardou, P., Palhière, I., Oget, C., Clément, V., Tosser-Klopp, G., ... & Robert-Granié, C. (2020). Genome wide association analysis on semen volume and milk yield using different strategies of imputation to whole genome sequence in French dairy goats. *BMC Genetics*, 21(1), 1-13.
- Thundathil, J. C., Dance, A. L., & Kastelic, J. P. (2016). Fertility management of bulls to improve beef cattle productivity. *Theriogenology*, 86(1), 397-405.
- Thurston, L. M., & Watson, P. F. (2002). Semen cryopreservation: a genetic explanation for species and individual variation?. *CryoLetters*, 23(4), 255-262.
- Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60, 481-492.

- Wolf, J. (2010). Heritabilities and genetic correlations for litter size and semen traits in Czech Large White and Landrace pigs. *Journal of Animal Science*, 88(9), 2893-2903.
- Yin, H., Zhou, C., Shi, S., Fang, L., Liu, J., Sun, D., ... & Zhang, S. (2019). Weighted single-step genome-wide association study of semen traits in Holstein bulls of China. *Frontiers in Genetics*, 1053.
- Zhang, G. M., Liu, P. H., Chen, L., Zheng, J. M., Zhao, G. P., Xing, W. H., ... & Li, Q. H. (2023b). Genome-wide association study identifies variants associated with semen volume in white-feathered broilers. *Animal Genetics*, 54(6), 803-807.
- Zhang, X., Lin, Q., Liao, W., Zhang, W., Li, T., Li, J., ... & Zhang, H. (2023a). Identification of New Candidate Genes Related to Semen Traits in Duroc Pigs through Weighted Single-Step GWAS. *Animals*, 13(3), 365.

BÖLÜM 5

SÜPERANTİJENLERİN ROLÜ

Dr. Öğr. Üyesi Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402016>

¹Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Mikrobiyoloji AD, Şanlıurfa, Türkiye. ayfergullu@harran.edu.tr, ORCID; 0000-0002-9842-3305

1.GİRİŞ

Süperantijenler (SAG), pek çok sayıda T lenfositlerini uyarabilme kapasitesine sahip olan bir grup bakteriyel ve viral proteinler olarak tanımlanan mitojenik ekzotoksinlerdir (Rosen, 1997; Fraser ve Proft, 2008). Çeşitli hastalıkların patojenik ajanları olarak da tanımlanmaktadır. SAG üretimi, mikroorganizmanın virulansını artırabilen en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir. SAG'lerin tarihsel sürecinde ilk olarak 1978'de Todd ve ark., toksik şok sendromu (TSS)'nu farklı bir klinik varlık olarak tanımlamış ve stafilokok enfeksiyonlarından kaynaklı olduğunu düşünmüşlerdir (Todd ve ark., 1978). Daha sonra 1981'de Schlievert ve ark., ile Bergdoll ve ark., sırasıyla pirojenik ekzotoksin C (PEC)'yi ve stafilokok enterotoksin F (SEF)'yi izole etmişlerdir (Bergdoll ve ark., 1981; Schlievert ve ark., 1981). 1989'da ise Kappler ve Marrack tarafından "süperantijen" olarak tanımlanan yeni bir antijen sınıfı oluşturulmuştur (Marrack ve Kappler, 1990). Günümüzde, stafilokokal haşlanmış deri sendromu, kızıl, stafilokokal ve streptokokal toksik şok sendromları, Kawasaki hastalığı, stafilokokal besin zehirlenmesi, diabetes mellitus, psöriazis, romatizmal artrit vs. gibi çeşitli hastalıklar SAG üretimi ile yakından ilişkilidir ve çoğu bakteriyel ve viral hastalıkta özellikle dünyayı sarsan SARS-CoV-2 pandemik enfeksiyonunda da olası rolleri olduğu belirtilmektedir (Paliard ve ark., 1991; Luppi ve Trucco, 1996; Le ve ark., 2002; Leung ve Schlievert, 2021; Hamdy ve Leonardi, 2022; Barros Pinto, 2023; Cortés ve Ryder, 2023; Medugu ve ark., 2023). Ayrıca fungal SAG'lerin varlığı da araştırılmış olup; cildin seboreik bölgelerinde yaygın olarak bulunan lipofilik bir maya olan *Malassezia furfur*'un Atopik Dermatit'in patogeneziinde rol oynadığı belirtilmiştir (Leung, 2000). Protein veya peptid antijenler ile SAG arasındaki önemli olan farklılık; SAG'lerin T hücre reseptörleri (TCR) tarafından özellikle TCR beta zinciri (V β), daha az olmak üzere ise D β , J β , Va, Ja ile ilişkili olarak tanınmasıdır (Kotzin 1993; Lobo Yeo ve Lamb, 1993). T lenfositlerin antijeni tanımları, biyolojideki en hassas analizlerden biridir. Antijen reseptörü ile T hücresi, antijen sunan hücre (APC) tarafından birkaç dakika içinde sunulan bazı antijenik peptidlere yanıt verebilir. Bu benzersiz hassasiyet, sadece bir veya birkaç TCR tarafından verilen başlangıç sinyali ile hücre içinde oluşturulan bir dizi moleküler mekanizma tarafından sağlanır. İşte SAG'ler, etkili T hücre uyarıcıları olmak için kendilerini T hücrelerini kullanmaya adapte eden yapılardır.

2. Süperantijenlerin Yapısı, MHC Molekülleri ve T Hücre Aktivasyonu

SAG'ler en güçlü bilinen T hücre mitojenleridir ve pikomolar konsantrasyonlarda bile etki ederek, interferon gamma (IFN- γ), interlökin-2 (IL-2) ve tümör nekrotizan faktör (TNF-a) dahil büyük miktarlarda sitokin salınmasını indüklerler (Abe ve ark., 1993; Miethke ve ark., 1993). Birbirinden

tamamen bağımsız farklı tiplerde SAg'ler bulunsa da, hepsi aynı moleküler mekanizmayı kullanır. SAg'ler, yapısal olarak proteazlara ve ısı ile denatürasyona karşı oldukça dirençli olan ve 22-29 kD büyüklüğünde iki kangaldan oluşan globüler proteinlerdir (Hamad ve ark., 1997; Vaishnani, 2009). Polipeptid zincirlerinden oluşan SAg'lerin temel yapıları, amino asit zincirleri ve karboksil (COOH) grupları içerir. Amino asit zincirleri, proteinin üç boyutlu yapısını belirler ve fonksiyonunu etkileyip SAg'lerin bağışıklık sistemi hücreleri ile etkileşimine yön verir. Karboksil grupları ise proteinlerin terminallerinde bulunur ve proteinin kimyasal özelliklerini etkiler. Bu gruplar, proteinin asidik özelliklerini artırabilir ve hücre içi etkileşimlerde rol oynayabilir. MHC molekülü, yabancı antijenlerin tanımlanmasında kilit rol oynayan insan lökosit antijeni (HLA) olarak da adlandırılan moleküldür. MHC, DNA'nın geniş bir bölgesinde bulunur ve yüzlerce alel içerir. İnsanlarda MHC bölgesi 6. kromozom üzerinde yer alır ve 224 gen içerir; bu genler, antijen işleme ve sunumunda rol oynayan proteinleri eksprese eder. T lenfositlere spesifik antijenler sağlayan MHC genleri, MHC sınıf I ve II olarak sınıflandırılır. MHC genleri, hücre yüzeyinde ifade edildikleri ve MHC molekülleri olarak adlandırıldıkları için adaptif bağışıklık sistemi için gereklidir. MHC molekülleri, adaptif bağışıklık sistemi tarafından antijenlerin belirlenmesine yardımcı olmak ve anormal/enfekte hücrelerin ortadan kaldırılmasını desteklemek için hücre yüzeyinde antijen sunarlar (Wen ve ark., 1996; Sur ve ark., 2013). Hem MHC-I hem de MHC-II moleküllerinin rolleri, hücre yüzeyindeki peptitleri sırasıyla CD8⁺ ve CD4⁺ T hücrelerine sunmaktır. Bu proteinlerden birindeki anormallik, hücreyi apoptoz yoluyla ortadan kaldıran CD8 lenfositlerini aktive ederken, MHC-II makrofajlar, monositler ve dendritik hücreler gibi APC olarak bilinen bazı bağışıklık hücresi türlerinde bulunur. APC'nin rolü, karşılaşılan patojeni yutmak ve bir kısmını uygun T hücresine sunmaktır. T hücresi daha sonra aldığı farklı sinyallerle bağışıklık sistemini tehdiye karşı uyarır. Bu nedenle MHC-II, yalnızca yabancı proteinlerden türetilen peptitleri sunar (Vyas ve ark., 2008). Dış kaynaklardan gelen patojenler yutulur ve sitoplazmik fagolizozomlarda hücre içi olarak işlenir; daha sonra tek bir peptit (antijen) MHC-II moleküllerine yüklenir ve hücre yüzeyine taşınır. Beyaz kan hücrelerinin türleri olan ve adaptif bağışıklıkta antijenlerin tanımlanmasında rolü olan bir diğer önemli yapı T hücreleridir. CD4⁺ T hücreleri, B hücrelerinin antikör üretmesine yardımcı olan, makrofajların mikrobisidal aktivitesini uyararak ve nötrofilleri enfeksiyon bölgesine çeken farklı sitokin ve kemokin türlerini üretmeleri nedeniyle en önemli bağışıklık hücrelerinden biridir (Zhu ve Paul, 2008). CD4⁺ T hücreleri, T düzenleyici hücreler (Treg) ve yardımcı T (Th) hücrelere bölünür. İsimlerinden de anlaşılacağı gibi Th hücreleri, adaptif bağışıklık sisteminin B hücreleri, makrofajlar ve CD8⁺ sitotoksik T hücreleri gibi diğer efektör hücreleri aktive etmesine yardımcı olur (Baker ve Acharya, 2003). T hücreleri, virus-bakteriyel istilacıları ve kanserli hücreleri hücre yüzeylerinde bulunan

TCR adı verilen reseptörler aracılığıyla tanır. Çoğu hücre yüzeyi reseptörü tek bir ligandı tanırken, her bir TCR farklı afinitelere sahip farklı ligandları tanır. TCR, APC'de MHC molekülleri tarafından sunulan antijenleri tanıyan ve bağlayan α/β veya γ/δ heterodimerlere sahiptir. TCR'nin aktivasyonunda yer alan diğer bir kompleks ise, dört farklı alt birimden (epsilon (ϵ), gama (γ), delta (δ) ve zeta (ζ)) oluşan CD3 kompleksidir. Tüm CD3 alt birimleri, sitoplazmik alanlarında immünreseptör tirozin bazlı aktivasyon motiflerine sahiptir (Goyette ve ark., 2019). SAg'nin COOH ucunun olduğu kısım TCR'nin V β bölgesine, amino ucunun (NH₂) olduğu kısım ise MHC-II molekülüne bağlanır. Genellikle SAg'lerin pek çoğu, MHC-II molekülleri tarafından tanınmasında etkili olan 1-2 adet çinko bağlayan bölge içerirler (Papageorgiou ve Acharya, 2000; Hemalatha ve ark., 2004; Solanki ve ark., 2008; Vaishnani, 2009). SEB, TSST-1 ve SSA dışındaki SAg'lerin çoğu bir veya iki çinko bağlama bölgesine sahiptir (Papageorgiou ve Acharya, 2000). SEE, SEA ve SED gibi toksinlerin kuvvetli afinite ile MHC-II'ye bağlanmasında çinko iyonuna ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle SAg'lerin MHC molekülü ile ilişkilerinde metal iyonları önemli ve gereklidir (Irwin ve Gascoigne, 1993). Bir antijenin, SAg özellik göstermesi; TCR beta zincirinin değişken kısımları ile APC'lerin yüzeyinde bulunan MHC-II molekülüne dışarıdan bağlanması ve T hücrelerini sağlam ve hızlı bir şekilde indüklemesine bağlıdır. SAg'lerin biyoaktivitesi, MHC-II molekülüne ve TCR'nin belirli olan bir veya birkaç V β alt tipine bağlanma yeteneği ile saptanabilir. Bundan dolayı, her bir SAg'nin karakteristik bir V β yapısı bulunur şöyle ki; bir SAg, belirli olan bir veya birkaç TCR V β 'yi bulduran T hücrelerini aktive etmektedir. Klasik T hücre uyarımı ve aktivasyonunda, APC'ler tarafından alınıp işlenen antijenler MHC-II molekülünün kovuğuna yerleştirilip CD4⁺ Th hücrelerine sunulur ve TCR'nin alfa ve beta zincirlerinin değişken V α ve V β bölgeleri tarafından spesifik olarak tanınmasıyla oluşur. Bunun aksine SAg'lerin Th hücrelerini uyarması ve aktive etmesi farklı bir şekilde olmaktadır (Vaishnani, 2009). SAg'ler, APC'ler tarafından işlenmeye ve sunulmaya gerek duymazlar ve genellikle MHC-II molekülünün $\alpha 1$ kangalı ile TCR'nin V β kısmına özgül olmadan, yani dışarıdan bağlanırlar (Şekil 1). Bu nedenle normal bir antijen T hücre popülasyonunun çok az bir kısmını aktive ederken, SAg'ler ise pek çok sayıda T hücre popülasyonunu spesifik olmayan yolla indükler ve yüksek düzeylerde sitokin salgılanmasına yol açarlar (Hemalatha ve ark., 2004; Solanki ve ark., 2008; Vaishnani, 2009) (Tablo 1). Ayrıca konakçının bağışıklık durumu, MHC-II bağlanması, SAg türü (T hücresi, B hücresi) ve eşzamanlı enfeksiyon gibi faktörler ise SAg kaynaklı yanıtı etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (Vaishnani, 2009).

Tablo 1. Konvansiyonel antijen ve süperantijen arasındaki farklar.

Konvansiyonel Antijen	Süperantijen
<ul style="list-style-type: none">Bağışıklık sisteminin güçlü tepkisine önceden maruz kalmayı (APC tarafından işlenmeyi) gerektirir	<ul style="list-style-type: none">Yanıt, önceden maruz kalmayı gerektirmez.
<ul style="list-style-type: none">10^5 ila 10^6 T hücrelerinin içinde yalnızca birini uyarır (<0.001) (Sriskandan ve ark., 2007).	<ul style="list-style-type: none">Toplam T hücrelerinin yaklaşık %10 ila 20'sini uyarır (Papageorgiou ve Acharya, 2000; Sriskandan ve ark., 2007).
<ul style="list-style-type: none">8 ila 20 amino asitten oluşan oligopeptidin işlenmesi gereklidir.	<ul style="list-style-type: none">İşlenme gerekmez ve oligopeptitler olarak sunulmazlar, fonksiyonel olgunlaşma sırasında sınırlı bölünmeye uğrarlar ve işlem sırasında kapsamlı bir degradasyon şekillenmez (Scherer ve ark., 1993)
<ul style="list-style-type: none">Bellek yanıtlarını uyarır.	<ul style="list-style-type: none">Bellek yanıtlarını uyarmaz.
<ul style="list-style-type: none">CD4⁺ veya CD8⁺T hücrelerine sunulurlar.	<ul style="list-style-type: none">Bakteriyel SAg'ler hem CD4⁺ hem de CD8⁺T hücrelerini uyarır, ancak viral SAg'ler yalnızca CD4⁺ T hücrelerini uyarır
<ul style="list-style-type: none">MHC-I veya II moleküllerinin antijen bağlanma oluşuna yerleşir, sonuç olarak T hücrelerinin tanınması MHC ile sınırlıdır.	<ul style="list-style-type: none">Antijen bağlama oluşunun dışına bağlanır. Sonuç olarak, SAg'nin T hücresi tarafından tanınması MHC ile sınırlı değildir (Scherer ve ark., 1993).
<ul style="list-style-type: none">Dendritik hücrelerin konvansiyonel antijen/hapten kaynaklı maturasyonu, siklosporinin etkilerine karşı dirençlidir.	<ul style="list-style-type: none">Dendritik hücrelerin süperantijen kaynaklı maturasyonu, siklosporin tarafından baskılanır.

3.Süperantijenlerin Hatırlanmasında Rol Oynayan Hücreler ve Proinflamatuvar Sitokinler

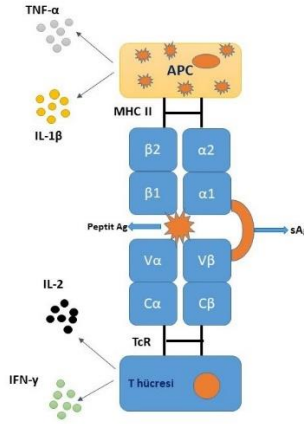
SAg'ler, in vivo olarak enjekte edildiklerinde MHC-II molekülleri ve TCR V β zincirlerinden dolayı farklı hücre tipleri ile ilişki kurarlar. Sunum sonrası tüm periferik T hücrelerini ilgilendiren olaylarda makrofajlar, B hücreleri ve dendritik hücreler ile rol oynarlar (Miethke ve ark., 1993). T

hücrelerinin olmadığı durumlarda SAg proteinler direkt olarak monositlere bağlanır ve onların sınıf MHC II moleküllerini aktive ederek TNF-a ve IL-1 salınımını sağlar (Goodglick ve Braun, 1994). Antijen sunan diğer hücelere göre dendritik hüceler, daha az SAg'le bile T hücelelerini aktive edebildiği belirtilmiştir (Bhardwaj ve ark., 1993). APC'ler ve reaktif T hüceleri TCR ve MHC-II molekülleri ile birlikte sinyallerini iletirler. Böylece APC'ler ile SAg, reaktif T hücelerinde sitokin üretimi ve aktivasyonu ortaya çıkarır (Miethke ve ark., 1993). Dendritik hüceler, makrofajlar ve Langerhans hüceleri gibi profesyonel APC'lerin yanısıra sitokinlere bağlı olarak HLA-DR eksprese eden keratinositler de SAg etkisinde rol alabilir (Strange ve ark., 1994). Sitokinler genellikle bağışıklık hüceleri tarafından sentezlenen proteinlerdir ve proliferasyonu, inflamatuvar veya antiinflamatuvar yanıtları yönlendirmek için efektör hüceler üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanan ligandlar olarak görev yaparlar (Berraondo ve ark., 2019). SAg'ler aşırı sitokinleri, özellikle de IFN γ , IL-6, TNF- α , IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinleri tetiklerler.

IFN γ , SAg-T hücre etkileşimine yanıt olarak üretilen ana sitokindir. IFN γ , mikrobiyal enfeksiyona karşı konakçı direncine yardımcı olan ve immun/inflamatuvar yanıtlarda ve tümör immünogözetiminde kritik bir rol oynayan interferon protein ailesinden biridir. İmmun ve inflamatuvar uyarıları takiben Naturel Killer (NK) hüceleri ve T hücelelerinin spesifik CD4⁺ ve CD8⁺ alt grupları tarafından üretilir. IFN γ üretimi, hücre-aracılı bağışıklık yanıtını düzenler; Th1 hüceleri, makrofajları ve sitotoksik CD8⁺ T hücelelerini artırmak için IFN γ üretir (Ikeda ve ark., 2002). IFN γ 'nın sadece bağışıklık hüceleri üzerinde değil aynı zamanda somatik hüceler ve tümör hüceleri üzerinde de etkileri vardır. Ayrıca tümör hücre proliferasyonunu yavaşlatmada, MHC-I ekspresyonu ve antijen işleme mekanizmasının bileşenlerini yukarı regüle etmede, etkinliği artırmak için T hücelerinde sinyalleri indüklemeye ve apoptozu indüklemeye yeteneği sayesinde ise tümör gelişimini önlemektedir (Ni ve Lu, 2018). IL-6, enfeksiyonları veya doku hasarlarını takiben makrofaj ve monosit gibi doğal bağışıklık hüceleri tarafından üretilir. IL-6, B hücelelerini immünoglobulin üretmesi için uyarmak, akut faz protein üretimini indüklemek, hematopoietik kök hücre farklılaşmasını teşvik etmek ve CD4⁺ T hücelelerinin spesifik farklılaşmasını düzenlemek gibi birçok kritik role sahiptir. IL-6, vasküler endotelial büyüme faktörü üretimini indükleyerek vasküler geçirgenliği ve anjiyogenezi artırır (Tanaka ve ark., 2018).

TNF-a, başta makrofajlar olmak üzere inflamatuvar hüceler tarafından üretilen başka bir sitokindir ve bağışıklık sistemi ve tümör gözetiminde önemli bir rol oynar. TNFa'nın iki bağlanma bölgesi vardır; bunlardan biri çoğu dokuda ölüm reseptörü olarak ifade edilen TNFR1 reseptörü üzerinde, diğeri ise bağışıklık hücelerinde TNFR2 üzerindedir. TNF-a, antijen sunan hüceleri aktive ederek, efektör T hücelelerinin çoğalmasını artırır. Ayrıca tümör hücelere, endotel hücelere, kan damarlarına ve normal hücelere bağlanır

ve birçok hücre tipine zarar verir (Shen ve ark., 2018; Jiang ve ark., 2019). IL-1 β , bağışıklık hücreleri, fibroblastlar ve kanser hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilir (Rébé ve Ghiringhelli, 2020). SAg'lerin etkileri ile ilgili rol aldığı araştırmalar her geçen gün artmaktadır (Aslantaş ve ark., 2022, Davies ve ark., 2023) Yapılan son araştırmalarda IL-27'nin profesyonel olmayan APC'ler olarak bağırsak epitel hücrelerinde antijen işlemesine ve MHC-I ve MHC-II reseptörleri aracılığıyla sunulmasına aracılık etmede yeni bir rol aldığı ortaya çıkarılmıştır (Diegelmann ve Brand, 2023). Ayrıca SARS-CoV-2 SAg'lerin neden olduğu proinflamatuar sitokinlerin büyük salınımının, şiddetli COVID-19 hastalarında sistemik şok, akut solunum sendromu ve çoklu organ yetmezliği oluşumuna neden olabileceği de tahmin edilmektedir (Scaglioni ve Soriano, 2020).



Şekil 1. Konvansiyonel bir peptid antijeni ve süperantijen ile T hücresi aktivasyon modeli. Ag: Antijen, SAg: Süperantijen, APC: Antijen sunan hücre, TcR: T hücre reseptörü, MHC-II: Major doku uyşum kompleksi-II, V: Değişken bölge, C: Sabit bölge, TNF- α : Tümör nekrotizan faktör-alfa, IFN- γ : İnterferon-gama, IL: İnterlökin

4.Süperantijen Grupları

Endojen, ekzojen ve B hücre SAg'leri olmak üzere üç grupta sınıflandırılmaktadır. Endojen SAg'ler, genoma entegre edilmiş çeşitli virüsler tarafından kodlanırlar. Viral replikasyonu desteklemek için seçici bir şekilde V β 'deki T hücresini uyarır ve EB virüsü enfeksiyonları, HIV enfeksiyonu, CMV enfeksiyonu ve İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus gibi enfeksiyonların patogeneğinde rol oynarlar. Eksojen SAg'ler, mikroorganizmalar tarafından salgılanan ekzotoksinleri içerirler. B hücre SAg'leri ise ağırlıklı olarak B hücrelerini uyarırlardır (Hemalatha ve ark., 2004; Solanki ve ark., 2008). B hücre SAg'leri, serum Ig'lerine bağlanırlar ve büyük miktarda bağışıklık kompleksinin oluşumuna yol açarlar (Anderson ve ark., 2006). Bu tür

bağışıklık kompleksleri komplement yolunu aktive eder ve doku hasarına neden olur. B hücreleri SAg'leri mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki yüzey Ig'lerine bağlanarak proinflatuar aracılardan salınmasına neden olurlar .

SAG'lerin tam amino asit dizileri ve karboksil grupları, spesifik bir SAg'nin türüne ve alt tipine bağlı olarak değişir. Belirli bir SAg'nin tam yapısını öğrenmek için spesifik bir SAG türünü belirtmek gerekir. Stafilokok bakterileri tarafından üretilen Staphylococcal Superantigen (SSA) veya streptokok bakterileri tarafından üretilen Streptococcal Pyrogenic Exotoxin (SPE) gibi spesifik SAG'lerin yapısı belirli bir türde ve alt tipte farklılık gösterebilir. Yapılan sekanslama analizinde SAG'lerin (TSST-1 hariç) amino asit yapılarına göre 3 alt gruba ayrıldığı belirtilmiştir. Birinci alt grupta bulunan ve %80-90 oranında benzer dizilim gösteren SAG'ler; Staphylococcal enterotoksin (SE) A, SED, SEE, SEH ve SEI'dir. İkinci grupta %50-70 oranında benzer dizilim gösteren SEB, SECs, SEG, SSA ve streptococcal pyrogenic exotoxin (Spe) A'dır. Üçüncü alt grupta SpeC, SpeG, SpeJ, SMEZ ve SMEZ₂ SAG'ler bulunur. SpeC'ye en yakın yapısal benzerlik taşıyan TSST-1 ise, diğer SE'lerle ~%28 benzer dizilim gösterdiği bildirilmiştir (Proft ve ark., 1999; Papageorgiou ve Acharya, 2000). SAG'lerin rol aldığı bazı önemli hastalıklar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. SAG'lerin rol aldığı bazı önemli hastalıklar.

• Streptokokal toksik şok sendromu (Cortés ve Ryder, 2023)	• Stafilokokal toksik şok sendromu (Barros Pinto, 2023)
• Stafilokokal haşlanmış deri sendromu (Medugu ve ark., 2023)	• Kawasaki hastalığı (Leung ve Schlievert, 2021)
• Stafilokokal gıda zehirlenmesi (Le ve ark., 2003)	• Atopik dermatit (Seiti Yamada Yoshikawa ve ark., 2019)
• Poststreptokokal glomerülonefrit (Rodriguez-Iturbe ve Musser, 2008)	• Stafilokokal SAG ilişkili glomerülonefrit (Lee ve ark., 2003)
• Akut juvenil pityriasis rubra pilaris (Mohrenschlager ve Abeck, 2002)	• Mide mukozası ile ilişkili lenfoid doku lenfoması (MALTL) (Hashimoto ve ark. 2001)
• Kronik sedef hastalığı (psoriasis vulgaris)	• Guttat Sedef Hastalığı (Saleh ve Tanner, 2018)
• Kızıl (Lee ve ark., 2003)	• Multi-skleroz (Marrodan ve ark., 2019)

•Retroviral hastalık-Fare Meme Tümör Virüsü (Parisi ve ark., 2022)	•Viral enfeksiyonlar (HIV, EBV,HERV-K18) Garcia ve ark., 1996; Rajagopalan ve ark., 2005; Ilse ve ark., 2022)
•Sıtma (Pied ve ark., 1997)	•Diabetes mellitus (Luppi ve Trucco, 1996)
•Tüberküloz (Morrow ve ark., 2023)	•Behçet hastalığı (Direskeneli, 2001)
•Romatizmal artrit (Paliard ve ark., 1991)	•Sjögren sendromu (Maslinska ve Kostyra-Grabczak, 2022)
•Takayasu arteriti (Hamidou ve Belizna, 2003)	

5.Süperantijenlerin Diagnostik ve Terapotik Etkisi

SAG'ler, T hücre aktivasyonunu arttırmak için aşılar veya adjuvanlar olarak kullanılabilirler (Kominsky ve ark., 2001). SAG'ler aynı zamanda T hücrelerinin güçlendirilmesinde antikorlarla birlikte sinerjistik bir etki yaratarak kanser tedavisinde umut vaat etmektedir (Forsberg ve ark., 2001). Kanser hücrelerini birçok kritik biyolojik süreç yoluyla ortadan kaldırmaktadır. En önemlisi apoptozistir; SAG'ler, T hücrelerini aktive eder ve TNF, INF ve interlökinler dahil olmak üzere temel sitokinlerin büyük miktarda üretimini tetikler. Bu sitokinler, tümörün vasküler endotel hücrelerinin yok edilmesine yardımcı olur, lökositlerin kanser dokusuna göçüne yardımcı olur, T lenfosit farklılaşmasını artırır ve tümörün yok edilmesini hızlandırır (Hedlund et al., 1990). T hücreleri tarafından üretilen IL'ler, dirençli tümör hücrelerini ortadan kaldırabilen lenfokinle aktifleşen öldürücü hücreleri aktive eder. Ayrıca SAG'ler kanser hücresi zarlarını yıkan ve apoptozisi tetikleyen NK hücrelerini aktive ederek tümör hücresi metastazını da önlerler (Tian et al., 2016).

Yapılan bir çalışmada, mukozaya bağlı değişmez T (MAIT) hücreleri olarak adlandırılan, doğuştan gelen bir T hücre popülasyonunun SAG'ye karşı hızlı ve farklı bir hiperinflamatuvar tepki başlattığı ve süratle antimikrobiyal fonksiyonlarını engelleyen anerjik bir fenotip elde ettiği gösterilmiştir (Shaler ve ark. 2017). SAG'ler ayrıca, kimerik antijen reseptör T hücre (CAR-T) aktivitesini de artırabilirler. CAR, kanser hücreleri üzerinde belirli bir hedefe bağlanmak üzere tasarlanmış proteinlerdir. CAR-T hücre tedavisi, bazı lösemiler ve lenfomalar için çok etkili bir tedavidir. Hastanın T hücrelerinin yüzeylerinde kimerik antijen reseptörleri (CAR'lar) üretecek şekilde

değiştirildiği bir terapidir (VonScheidt ve ark. 2019). SAg ile ilişkili hastalıklar için faydalı olabilecek immünomodülatör ilaçlar arasında; TNF- α inhibitörleri, monoklonal antikor ve füzyon proteini, reseptör antagonisti: SAg'nin TCR'nin V β 'sine bağlanmasını engelleyen genetik olarak tasarlanmış proteinler, aşı, kortikosteroidler, siklosporin ve intravenöz immünoglobulinlerin yer aldığı belirtilmektedir (Vaishnani, 2009)

Sonuç olarak, SAg'ler, sadece immünolojik açıdan güçlü bir araç olarak değil, aynı zamanda terapötik müdahaleler açısından da kullanılabilirler. Ayrıca yeni SAg'lerin keşfedilmesi durumunda, bağışıklık sistemi üzerine yeni tedavi stratejilerinin de geliştirilmesine gün geçtikçe öncülük edecektir.

6. KAYNAKÇA

- Abe, J., Takeda, T., Watanabe, Y., Nakao, H., Kobayashi, N., Leung, D. Y., & Kohsaka, T. (1993). Evidence for superantigen production by *Yersinia pseudotuberculosis*. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 151(8), 4183-4188. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.151.8.4183>.
- Anderson, A.L., Sporici, R., Lambris, J., LaRosa, D., Levinson, A.I. (2006). Pathogenesis of B-cell superantigen-induced immune complex-mediated inflammation. *Infection and immunity*, 74(2), 1196-1203. <https://doi.org/10.1128/iai.74.2.1196-1203.2006>
- Aslantas, O., Keskin, O., & Yucetepe, A.G. (2022). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from clinical sheep mastitis cases. *Israel J. Vet. Med*, 77, 99-105.
- Baker, M.D. & Acharya, K.R. (2003). Superantigens Protocol. In: *Methods in Molecular Biology*, Teresa Krakauer (Ed.). Humana; Softcover reprint of the original, 1–31.
- Barros Pinto, M.P. (2023). Staphylococcal toxic shock syndrome. *Journal of Hematopathology*, 1-2. <https://doi.org/10.1007/s12308-023-00547-6>.
- Bergdoll, M., Reiser, R., Crass, B., Robbins, R., & Davis, J. (1981). A new staphylococcal enterotoxin, enterotoxin F, associated with toxic-shock-syndrome *Staphylococcus aureus* isolates. *The Lancet*, 317(8228), 1017-1021. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(81\)92186-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)92186-3).
- Berraondo, P., Sanmamed, M.F., Ochoa, M.C., Etxeberria, I., Aznar, M.A., Pérez-Gracia, J.L., .. & Melero, I. (2019). Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *British journal of cancer*, 120(1), 6-15. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0328-y>.
- Bhardwaj, N., Young, J. W., Nisanian, A. J., Baggers, J., & Steinman, R. M. (1993). Small amounts of superantigen, when presented on dendritic cells, are sufficient to initiate T cell responses. *The Journal of experimental medicine*, 178(2), 633-642. <https://doi.org/10.1084/jem.178.2.633>.
- Cortés-Penfield, N., & Ryder, J. H. (2023). Should linezolid replace clindamycin as the adjunctive antimicrobial of choice in group A streptococcal necrotizing soft tissue infection and toxic shock syndrome? a focused debate. *Clinical Infectious Diseases*, 76(2), 346-350. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac720>

- Davies, M.R., Keller, N., Brouwer, S., Jespersen, M.G., Cork, A.J., Hayes, A.J., ... & Walker, M. J. (2023). Detection of *Streptococcus pyogenes* M1UK in Australia and characterization of the mutation driving enhanced expression of superantigen SpeA. *Nature Communications*, 14(1), 1051. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36717-4>
- Diegelmann, J., & Brand, S. (2023). Identification of IL-27 as a novel regulator of major histocompatibility complex class I and class II expression, antigen presentation, and processing in intestinal epithelial cells. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1226809>.
- Fraser, J.D., & Proft, T. (2008). The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. *Immunological reviews*, 225(1), 226-243. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00681.x>.
- Direskeneli, H. (2001). Behçet's disease: infectious aetiology, new autoantigens, and HLA-B51. *Annals of the rheumatic diseases*, 60(11), 996-1002. <http://doi.org/10.1136/ard.60.11.996>.
- Forsberg, G., Ohlsson, L., Brodin, T., Björk, P., Lando, P.A., Shaw, D., ... & Dohlsten, M. (2001). Therapy of human non-small-cell lung carcinoma using antibody targeting of a modified superantigen. *British Journal of Cancer*, 85(1), 129-136. <https://doi.org/10.1054/bjoc.2000.1891>.
- Garcia, S., Dadaglio, G., Cilote, V., Chenal, H., Bondurand, A., & Gougeon, M.L. (1996). Evidence for an in vivo superantigenic activity in human immunodeficiency virus-infected individuals. <https://doi.org/10.1182/blood.V88.6.2151.bloodjournal8862151>.
- Goodglick, L., & Braun, J. (1994). Revenge of the microbes. Superantigens of the T and B cell lineage. *The American journal of pathology*, 144(4), 623.
- Goyette, J., Nieves, D.J., Ma, Y. & Gaus, K. (2019). How does T cell receptor clustering impact on signal transduction?, *Journal of Cell Science*, 132(4), jcs226423. <https://doi.org/10.1242/jcs.226423>.
- Hamad, ARA., Marrack, P., Kappler, JW. (1997). Transcytosis of staphylococcal superantigen toxins. *The Journal of experimental medicine*, 185(8), 1447-1454. <https://doi.org/10.1084/jem.185.8.1447>.
- Hamdy, A., & Leonardi, A. (2022). Superantigens and SARS-CoV-2. *Pathogens*, 11(4), 390. <https://doi.org/10.3390/pathogens11040390>.

- Hashimoto, T., Takishita, M., Kosaka, M., Sano, T., & Matsumoto, T. (2001). Superantigens and autoantigens may be involved in the pathogenesis of gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *International journal of hematology*, 74, 197-204.
- Hamidou, M., & Belizna, C. (2003). Superantigens and vasculitis. In *Annales de Medecine Interne*, 154(2), 96-100.
- Hedlund, G., Dohlsten, M., Lando, P.A., & Kalland, T. (1990). Staphylococcal enterotoxins direct and trigger CTL killing of autologous HLA-DR+ mononuclear leukocytes and freshly prepared leukemia cells. *Cellular immunology*, 129(2),426-434. [https://doi.org/10.1016/0008-8749\(90\)90218-G](https://doi.org/10.1016/0008-8749(90)90218-G).
- Hemalatha, V., Srikanth, P., & Mallika, M. (2004). Superantigens–Concepts, clinical disease and therapy. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 22(4), 204-211. [https://doi.org/10.1016/S0255-0857\(21\)02764-X](https://doi.org/10.1016/S0255-0857(21)02764-X).
- Ikeda, H., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (2002). The roles of IFN γ in protection against tumor development and cancer immunoediting. *Cytokine & growth factor reviews*, 13(2), 95-109. [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(01\)00038-7](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(01)00038-7).
- Ilse, V., Scholz, R., Wermann, M., Naumann, M., Staege, M. S., Roßner, S., & Cynis, H. (2022). Immunogenicity of the envelope surface unit of human endogenous retrovirus K18 in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8330. <https://doi.org/10.3390/ijms23158330>.
- Irwin, M.J., & Gascoigne, N.R. (1993). Interplay between superantigens and the immune system. *Journal of leukocyte biology*, 54(5), 495-503. <https://doi.org/10.1002/jlb.54.5.495>.
- Jiang, Y., Chen, J., Bi, E., Zhao, Y., Qin, T., Wang, Y., ... & Wang, S. (2019). TNF- α enhances Th9 cell differentiation and antitumor immunity via TNFR2-dependent pathways. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 7(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0494-8>.
- Kominsky, S. L., Torres, B. A., Hobeika, A. C., Lake, F. A., & Johnson, H. M. (2001). Superantigen enhanced protection against a weak tumor-specific melanoma antigen: implications for prophylactic vaccination against cancer. *International journal of cancer*, 94(6), 834-841. <https://doi.org/10.1002/ijc.1551>.

- Kotzin, B.L., Leung, D.Y., Kappler, J., & Marrack, P. (1993). Superantigens and their potential role in human disease. *Advances in immunology*, 54, 99-166. [https://doi.org/10.1016/S0065-2776\(08\)60534-9](https://doi.org/10.1016/S0065-2776(08)60534-9).
- Lee PK, Zipoli MT, Weinberg AN, Swartz MN, Johnson RA. (2003). Pyodermas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, and other gram-positive bacteria. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. New York: McGraw Hill, pp. 1856-78.
- Leung, D.Y. (2000). Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105(5), 860-876. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.106484>.
- Leung, D.Y., & Schlievert, P.M. (2021). Kawasaki syndrome: role of superantigens revisited. *The FEBS Journal*, 288(6), 1771-1777. <https://doi.org/10.1111/febs.15512>.
- Lobo-Yeo, A., & Lamb, J.R. (1993). Superantigens as immunogens and tolerogens. *Clinical and experimental rheumatology*, 11, S17-21.
- Luppi, P., & Trucco, M. (1996). Superantigens in insulin-dependent diabetes mellitus. In Springer seminars in immunopathology (Vol. 17, No. 4, pp. 333-362). Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag.
- Marrack, P., & Kappler, J. (1990). The staphylococcal enterotoxins and their relatives. *Science*, 248(4956), 705-711. <https://doi.org/10.1126/science.218554>.
- Marrodan, M., Alessandro, L., Farez, M.F., & Correale, J. (2019). The role of infections in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal*, 25(7), 891-901. <https://doi.org/10.1177/13524585188239>.
- Maslinska, M., & Kostyra-Grabczak, K. (2022). The role of virus infections in Sjögren's syndrome. *Frontiers in Immunology*, 13, 823659. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.823659>.
- Medugu, N., Imran, J., Musa-Booth, T. O., Makun, B., & Adegboro, B. (2023). A review of staphylococcal scalded skin syndrome. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 24(3), 235-242. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v24i3.2>.
- Miethke, T., Wahl, C., Regele, D., Gaus, H., Heeg, K., & Wagner, H. (1993). Superantigen mediated shock: a cytokine release syndrome. *Immunobiology*, 189(3-4), 270-284. [https://doi.org/10.1016/S0171-2985\(11\)80362-1](https://doi.org/10.1016/S0171-2985(11)80362-1).
- Morrow, E., Liu, Q., Kiguli, S., Swarbrick, G., Nsereko, M., Null, M. D., ... & Lancioni, C.L. (2023). Production of Proinflammatory Cytokines by

- CD4+ and CD8+ T Cells in Response to Mycobacterial Antigens among Children and Adults with Tuberculosis. *Pathogens*, 12(11), 1353. <https://doi.org/10.3390/pathogens12111353>.
- Möhrenschlager, M., & Abeck, D. (2002). Further clinical evidence for involvement of bacterial superantigens in juvenile pityriasis rubra pilaris (PRP): report of two new cases. *Pediatric Dermatology*, 19(6), 569-569. https://doi.org/10.1046/j.1525-1470.2002.00236_5.x.
- Ni, L., & Lu, J. (2018). Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer medicine*, 7(9), 4509-4516. <https://doi.org/10.1002/cam4.1700>.
- Paliard, X., West, S. G., Lafferty, J.A., Clements, J. R., Kappler, J. W., Marrack, P., & Kotzin, B. L. (1991). Evidence for the effects of a superantigen in rheumatoid arthritis. *Science*, 253(5017), 325-329. <https://doi.org/10.1126/science.185797>.
- Papageorgiou, A.C., & Acharya, K.R. (2000). Microbial superantigens: from structure to function. *Trends in microbiology*, 8(8), 369-375. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01793-5](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01793-5).
- Parisi, F., Freer, G., Mazzanti, C. M., Pistello, M., & Poli, A. (2022). Mouse mammary tumor virus (MMTV) and MMTV-like viruses: an in-depth look at a controversial issue. *Viruses*, 14(5), 977. <https://doi.org/10.3390/v14050977>.
- Pied, S., Voegtle, D., Marussig, M., Rénia, L., Miltgen, F., Mazier, D., & Cazenave, P. A. (1997). Evidence for superantigenic activity during murine malaria infection. *International immunology*, 9(1), 17-25. <https://doi.org/10.1093/intimm/9.1.17>.
- Proft, T., Louise Moffatt, S., Berkahn, C. J., & Fraser, J. D. (1999). Identification and characterization of novel superantigens from *Streptococcus pyogenes*. *The Journal of experimental medicine*, 189(1), 89-102. <https://doi.org/10.1084/jem.189.1.89>.
- Rajagopalan, G., Singh, M., Sen, M.M., Murali, N.S., Nath, K.A., & David, C.S. (2005). Endogenous superantigens shape response to exogenous superantigens. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12(9), 1119-1122. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.9.1119-1122.2005>.
- Rébé, C., & Ghiringhelli, F. (2020). Interleukin-1 β and cancer. *Cancers*, 12(7), 1791. <https://doi.org/10.3390/cancers12071791>.
- Rodriguez-Iturbe, B., & Musser, J. M. (2008). The current state of poststreptococcal glomerulonephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(10), 1855-1864. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008010092>.

- Rosen, H. (1997). Superantigens. *International journal of dermatology*, 36(1), 14-16. <https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.1997.00003.x>
- Saleh, D., & Tanner, L.S. (2018). Guttate psoriasis. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL) PMID: 29494104.
- Scaglioni, V., & Soriano, E.R. (2020). Are superantigens the cause of cytokine storm and viral sepsis in severe COVID-19? observations and hypothesis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 92(6), e12944. <https://doi.org/10.1111/sji.12944>.
- Scherer, M.T., Ignatowicz, L., Winslow, G.M., Kappler, J.W., & Marrack, P. (1993). Superantigens: bacterial and viral proteins that manipulate the immune system. *Annual review of cell biology*, 9(1), 101-128. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.09.110193.000533>.
- Schlievert, P.M., Shands, K.N., Dan, B.B., Schmid, G.P., & Nishimura, R.D. (1981). Identification and characterization of an exotoxin from *Staphylococcus aureus* associated with toxic-shock syndrome. *Journal of Infectious Diseases*, 143(4), 509-516. <https://doi.org/10.1093/infdis/143.4.509>
- Seiti Yamada Yoshikawa, F., Feitosa de Lima, J., Notomi Sato, M., Álefe Leuzzi Ramos, Y., Aoki, V., & Leao Orfali, R. (2019). Exploring the role of *Staphylococcus aureus* toxins in atopic dermatitis. *Toxins*, 11(6), 321. <https://doi.org/10.3390/toxins11060321>.
- Shaler, C.R., Choi, J., Rudak, P.T., Memarnejadian, A., Szabo, P.A., Tun-Abraham, M.E., ... & Haeryfar, S.M. (2017). MAIT cells launch a rapid, robust and distinct hyperinflammatory response to bacterial superantigens and quickly acquire an anergic phenotype that impedes their cognate antimicrobial function: Defining a novel mechanism of superantigen-induced immunopathology and immunosuppression. *PLoS biology*, 15(6), e2001930. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001930>.
- Shen, J., Xiao, Z., Zhao, Q., Li, M., Wu, X., Zhang, L., ... & Cho, C. H. (2018). Anti-cancer therapy with TNF α and IFN γ : A comprehensive review. *Cell proliferation*, 51(4), e12441. <https://doi.org/10.1111/cpr.12441>.
- Solanki, L. S., Srivastava, N., & Singh, S. (2008). Superantigens: a brief review with special emphasis on dermatologic diseases. *Dermatology online journal*, 14(2). <https://doi.org/10.5070/D347g8w51m>.

- Sriskandan, S., Faulkner, L., & Hopkins, P. (2007). *Streptococcus pyogenes*: Insight into the function of the streptococcal superantigens. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.08.009>.
- Strange, P., Skov, L., & Baadsgaard, O. (1994). Interferon gamma-treated keratinocytes activate T cells in the presence of superantigens: involvement of major histocompatibility complex class II molecules. *Journal of investigative dermatology*, 102(2), 150-154. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12371753>.
- Sur, G., Sporis, D., Kudor-Szabadi, L. & Samasca, G. (2013). Super-antigens and human pathology: Always an interesting topic. *Journal Bioequivalence Bioavailab*, 5(3) 112-117. <https://doi.org/10.4172/jbb.1000146>.
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2018). Interleukin (IL-6) immunotherapy. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(8), a028456.
- Tian, X. L., Yan, Z., Chen, J., Zhao, W. H., & Guo, W. (2016). Clinical application of highly agglutinative staphylococcin in cancer treatment updates of the literature. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20(12), 2718-2725.
- Todd, J., M. Flshaut, F.Kapral, and T. Welch. 1978. Toxic-shock syndrome associated with phage-group I staphylococci. *Lancet*, ii:1116-1118. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(78\)92274-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(78)92274-2).
- Wen, R., Cole, G. A., Surman, S., Blackman, M. A., & Woodland, D. L. (1996). Major histocompatibility complex class II-associated peptides control the presentation of bacterial superantigens to T cells. *The Journal of experimental medicine*, 183(3), 1083-1092. <https://doi.org/10.1084/jem.183.3.1083>.
- Vaishnani, J. (2009). Superantigen. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 75, 540. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.55423>.
- Von Scheidt, B., Wang, M., Oliver, A.J., Chan, J.D., Jana, M.K., Ali, A.I., ... & Slaney, C.Y. (2019). Enterotoxins can support CAR T cells against solid tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(50), 25229-25235. <https://doi.org/10.1073/pnas.1904618116>.

- Vyas, J. M., Van der Veen, A. G., & Ploegh, H. L. (2008). The known unknowns of antigen processing and presentation. *Nature Reviews Immunology*, 8(8), 607-618. <https://doi.org/10.1038/nri2368>.
- Zhu, J. & Paul, W.E. (2008). CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood. Journal American Society of Hematology*. 112(5):1557-69. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-05-078154>.

BÖLÜM 6

KEÇİLERDE ÜST SOLUNUM SİSTEMİNİN PLASTİNASYON UYGULAMALARI

Dr. Öğr. Üyesi Barış Can GÜZEL^{1a}

Dr. Öğr. Üyesi Fatma İŞBİLİR^{1b}

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402020>

¹Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Ana Bilim Dalı, Siirt, TÜRKİYE, ORCID: ^a0000-0002-2504-120X, ^b0000-0002-6110-1302

1. GİRİŞ

Plastinasyon, ilk olarak 1977 yılında Dr. Gunther von Hagens tarafından tıp dünyasına tanıtıldı. Bu teknik doku ve organların koruma tekniklerinden bir tanesidir(Pashaei, 2010). Plastinasyon işlemindeki amaç doku ve organlardaki su ve lipidlerin epoksi ve polyster gibi kimyasallarla yer değiştirterek kuru, kokusuz ve dayanıklı numuneler ortaya çıkarmaktır(Hagens von ve ark.,1987). Ayrıca plastinasyon öğrenciler için eğitim-öğretim materyali olarak kullanmak için oldukça uygundur. Plastine numuneler herhangi bir toksik madde taşımadığından elle tutulabilir. Ayrıca plastinatlar mikro boyutta da doku korunurluğunu sağlar (Lattore ve Rodruguez, 2007).

Dokuları plastinat haline çevirmek için kullanılan kimyasallar S10 silikon, S6 ve S3 katalizörü kullanılır. Bu kimyasallar güvenli ve tehlikesizdir (Hagens von ve ark.,1987;Henry, 1997). Plastinasyon vücudun kemiklerini, kaslarını, organlarını ve damarlarını enine kesitler ile kesin ve doğru bir şekilde ayrıntılarına kadar gösteren bir tekniktir. Örneğin sigara içen birinin hastalık süreçlerini ve etkilerini akciğere olan zararını bile gösterebilir. Son yıllarda kullanılan bu teknik doku mufaza yöntemlerinde en çok tercih edilenidir. Hem anatomik kullanımı hem de topografik değişikliklere neden olmaması diğer tekniklere göre önemini ortaya çıkarmıştır (Pashaei, 2010).

Plastinasyon polimerinin kullanımı dokulardan elde edilecek en küçük kesitte bile net görüntü sağlamaktadır (Lattore ve Rodruguez, 2007). Bağ dokusu ve lipid dokusu şeffaf hale getirilerek damarlar kolayca tanımlanır ve ölçülür hale getirilebilir(Sora ve Genser, 2005). Ayrıca plastine örneklerde morfometrik ölçümler kolay ve doğru bir şekilde yapılabilmektedir. (Sora ve ark., 2013) Plastinasyon tekniği aynı zamanda anatomik ve topografik olarak çalışmalarda bazı bilinen doğruların plastine edildikten sonra cerrahi olarak alınan kesitlerde fresh halindeki bazı yanlışları ortaya çıkarmıştır. Örneğin levator ani kasının üretranın ventral yüzünü çevrelemediğini ortaya çıkarmıştır (Yücel ve Baskın, 2004).

Bu teknikle anatomik birçok kesitsel çalışma gerçekleştirilmiştir. Plastinasyonlar kullanım alanı olarak sadece anatomi anabilim dalı değil, Patoloji ve adli tıp alanlarında plastinatların kullanım yerleri olarak gösterilmiştir. Otopsilerde ve cerrahi işlemlerden sonra alınan örneklerin eğitim materyali olarak yıllarca saklanabilmektedir. Daha ileri zamanlar için ise histolojik çalışmalarda da kullanım için saklanabilmektedir. Adli tıp anabilim dalında dokuların kanıt olarak saklanması için kullanılmaktadır. Öğretim materyali için herhangi bir canlının plastinasyonu gerçekleştirilebilmektedir. Bu canlılar arasında bitkiler, Helmintler, protozoalar, artropodlar ve sürüngenler yer alabilmektedir. Topografik incelemeler için tüm organ ve ekstremiteelerin kesitsel incelenmesinde kullanılmaktadır (Steinke ve Spanel, 2006)

2. Plastinasyon Çeşitleri

Plastinasyon tekniği alınan dokunun mikro veya makro yapısına, kullanılan dokunun dilimsel yapısına veya yapılacak çalışmanın teknik çeşidine göre ana yapı olarak 3 temel başlıkla incelebilmektedir (Marks ve ark., 2008).

3. Epoksi Plastinasyonu

Epoksi plastinasyon tekniği klasik olarak 2-5 mm kesitler halinde saydam anatomik oluşturmak için kullanılan bir yöntemdir (Hagens von ve ark.,1987; Sora ve Cook, 2007). Epoksi plastinasyon tekniğinde doku sıvıları ve az miktarda yağ kullanılan kimyasal ile yer değiştirmektedir. Epoksi tekniği ile plastinasyon yöntemi ulaşılması zor olan olan bölgelerin kolaylıkla araştırılmasını sağlamaktadır (Ottone ve ark., 2016).

4. Polyester Plastinasyonu

Polyester plastinasyonu teknik ve yöntem olarak silikon plastinasyonu ile benzetilmektedir. Polyester plastinasyonun doku sıvılarının yerini polyester reçinesi yer almaktadır. Bu yöntem diğerlerinin aksine baş dilimleri, beyin dilimleri ve vücut bölümlerinin kesitsel plastinasyondur (Lattore ve ark., 2004;Sargon ve Tatar, 2014).

5. Silikon Plastinasyonu

Silikon plastinasyonu dokulardan var olan sıvıların yerine plastinasyon için gerekli olan polimerin yerdeğiştirmesi sonucu oluşan bir yapıdır (Henry, 2007). Polimerin dokulardaki sıvı ve yağların yerini alabilmesi için ara kimyasallar kullanılmıştır. Bu kimyasallar solvent görevini görmektedir. Ara kimyasallar olarak Aseton ve Metilen klorür kullanılmaktadır. Bu kimyasallarla başlayan süreç boyunca ön hazırlık yapılmaktadır. Aseton ve metilen klorür hücre sıvısıyla yer değiştirmektedir. Daha sonra kullanılan bu kimyasallarla silikon polimerin yerini alması sağlanmaktadır. Plastinasyon ortamının düşük derecelerde olması daha sağlıklı ve dayanıklı plastinatlar ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Henry, 2007; Raof ve ark., 2007). Fresh ya da formaldehitte fiksasyona uğramış dokular da plastine edilebilmektedir. Fakat fresh dokulardan elde edilmiş plastinatlar formaldehitte fikse edilmişlere göre daha esnek bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Smith ve Holloday, 2001). Silikon plastinasyonu gerçekleştirmek için Biodür dışında farklı bazı polimer yapısında kimyasallar da geliştirilmiştir. Bunlardan da sağlam plastinatlar elde edilmiştir. Plastine süreçlerinde ana farklılıklar ve kimyasallar ayrı tutulduğunda katalizör zinciri uzatıcısının ve çapraz bağlayıcının birleştirildiği sıralamadır (Raof ve ark., 2007).

Silikon plastinasyonunda kullanılan kimyasallar şunları içerir; .

- Aseton veya MeCl

-Silikon polimeri

- Silikon polimeri aktif hale getirmek için kullanılan katalizör

-Zincir uzamasını sağlayan silikon moleküllerinin çapraz bağlarla bağlanmasını sağlayan kimyasallar (Henry, 2007; Raof ve ark., 2007; De Jong ve Henry, 2007).

Silikon plastinasyonda kullanılan kimyasallardan en uygunları Biodur S3, Biodur S6 ve Biodur S10'dur(Ekim ve ark, 2014). Silikon plastinasyonu tüm vücuda uygulanabilmektedir. Doku kesitleri ve vücutta bulunan boşluklara ve boşluklu organlara uygulanabilmektedir (Pandit ve ark., 2015).Silikon plastinasyonunun son derece başarılı olması için her adımın dikkatlice izlenmesi gerekmektedir. Silikon plastinasyonunun 5 basamağı bulunmaktadır.

6. Örneklerin Hazırlanması

Plastinasyon aşamasının ilki olan örneklerin hazırlanmasının temeli diseksiyona dayanmaktadır. Diseksiyon dokuların anatomik ve patolojik olarak kullanılması gereken yerleri koruyarak geri kalan kullanılmayan dokuların uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Örneklerin kaliteli ve niteliğini koruyabilmesi için diseke edilmektedir. Düzgün diseksiyon elde edilecek son ürünün kalitesini ortaya çıkarmaktadır. (De Jong ve Henry, 2007). Elde edilecek materyalin ders materyali mi yoksa sergi ürünü mü olarak kullanılacağı diseksiyonun önemini ortaya çıkarmaktadır (Henry, 2007).

Plastinasyon işlemine başlamadan önce ilk adım dokulardaki çürümeyi engellemektir. Tespit aşaması için formaldehit kullanılmaktadır (Henry, 2007). Ayrıca plastinasyon için zorunlu olarak formaldehit aşamasına gerek bulunmamaktadır. Formaldehit kullanılmadan yapılan plastinasyonlarda renk değişim skalasının daha iyi olduğu bildirilmiştir (Holladay, 1989). Tespit süresi ne kadar kısa olursa elde edilecek plastinatlar daha esnek bir yapıda olduğu belirtilmiştir (Hagens von ve ark.,1987; De Jong ve Henry, 2007).

7. Dehidrasyon

Dehidrasyon aşaması doku içindeki sıvıların dokudan ayrılması ve yerine solvent bir organik maddenin gelmesi amaçlanmaktadır (Hagens von ve ark., 1987). Dokudaki uzaklaştırılmış sıvının yerini plastinasyon için kullanılan silikon maddenin hemen yer değiştirmesi pek mümkün olmadığı görülmüştür. Bu aşamada birçok alkol türevi kullanılmıştır. Fakat alkolün -15 de buharlaşması oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bu faktörlerden dolayı impregnasyon aşamasında aksama gerçekleşmektedir (De Jong ve Henry, 2007). Bunun gibi nedenlerden dolayı en iyi kullanılacak kimyasal aseton olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda aseton yağ dokuyu çok iyi çözen bir

kimyasal olduğu bilinmektedir (Mıklosova ve Mıklos, 2014). Formalinde dokunun süre olarak uzun kalması daha iyi dehidrasyon aşaması sağlamaktadır. Dehidrasyon -25 derecede daha dengeli ve büzüşme en az düzeyde olduğu görülmüştür. (Ekim ve ark., 2014; Mıklosova ve Mıklos, 2014; Brown ve ark., 2002).

8. Yağdan Arındırma

Dehidrasyon işleminden sonra gerçekleştirilen bu işlem dokunun yağdan arındırma işlemidir. Dokudaki yağın arındırılmaması plastinasyon işlemine negatif etki sağlamaktadır. Dokunun yağdan arındırılmaması aynı zamanda plastinatların dayanıklılığını azaltmaktadır (De Jong ve Henry, 2007; Ekim ve ark., 2014). Doku arasında bulunan yağlardan arındırmak için ise dehidrasyon aşamasından sonra oda sıcaklığında aseton banyolarına alınmaktadır. Asetondaki temel amaç plastinatların kalitesini arttırmaktır. Merkezi sinir sistemi yağdan zengin olduğu için fazla asetona mahsur kalması plastinasyon için iyi olmadığı bildirilmiştir (Henry, 1995).

9. Zorlu İmpregnasyon

Zorlu impregnasyon, plastinasyon aşamasının en önemli aşamalarından bir tanesidir. Dehidrasyon aşamasında doku sıvısının yerini alan aseton ile silikonun yer değiştirilmesiyle başlayan çok önemli bir aşamadır (Ottone ve ark., 2015). Zorlu impregnasyon aşaması doku içindeki asetonu çıkarmaktadır. Bu aşama yavaş yapılmaktadır. İmpregnasyon aşamasında silikon hücre içine girerken aseton gaz fazında dokuyu terk etmektedir. (De Jong ve Henry, 2007).

Asetonun düzgün ve dengeli dağılması ve istenmeyen büzüşmelerin olmaması için -25 °C ve negatif basınç altında yapılması gerekmektedir. Silikon plastinasyonun da temel kimyasal S10 polimeridir (Henry, 1997)

S10 silikon polimerini aktif hale getirebilmek için S3 katalizörü ile karıştırılmaktadır. S3 sertleştirici bir ajan olup 100:1 oranında karıştırılması gerektirmektedir. Polimer ve sertleştirici karıştırıldıktan sonra vakumlu tanka yerleştirilir ve izolasyon başlamaktadır. Vakum pompası çalıştırıldıktan sonra dokular negatif basınç altına girmektedir.

Basıncın azalmasından kaynaklı hava kabarcıkları oluşmaya başlar bu da bize asetonun dokuyu terk ettiğinin habercisidir. Çünkü basıncın azalması asetonun kaynamasına ve polimerin dokuya ilerlemesine neden olmaktadır. Vakumun sık sık kontrol edilmesi lazım çünkü vakum yüksek ise asetondan daha yoğun olan polimer dokuya girmemektedir). Baloncuk çıkışı bittiği zaman zorlu impregnasyon aşaması bitmiş olmaktadır. Vakum serbest bırakılarak tankın atmosfer basıncına dönmesi sağlanmaktadır. İmpregne edilen örnekler bir gün normal basınç altında bekletilmesi gerekmektedir (Ottane ve ark., 2015)

10. Gaz Kürleme

Gaz kürleme aşamasında dokunun içine çekmiş olduğu silikon polimerin sertleşmesini sağlamaktadır. Genel olarak bu aşama için S6 kimyasal kullanılmaktadır. S6 kimyasal örneklerin yapısında bulunan silikon polimerinin kendi aralarında çapraz bağlanmasını sağlar (Hagens von ve ark.,1987; Ekim ve ark., 2014; Brown ve ark., 2002).

11. Üst Solunum Yolu Anatomisi

11.1. Nasus

Nasus (Burun), kemik ve kıkırdaklardan yapılmış bir organ olmakla beraber üzerinde kas ve deri bulunmaktadır. Burun delikleri pars mobilis septi nasi olarak adlandırılan anatomik bir yapı ile birbirlerinden ayrılırlar (Dursun, 2008).

11.2. Cavum Nasi

Cavum nasi(Burun boşluğu) septum nasi tarafından sağ ve sol iki boşluğa ayrılır(König and liebich, 2007). Ön kısımda burun delikleri (nares) ile arkada concha ile pars nasalis pharyngise açılırken tavanı, tabanı bir iç bir de dış olmak üzere iki tane yan duvarı vardır (Dursun, 2008).

Cavum nasi büyük oranda concha'lar tarafından işgal edilmiştir (Dyce ve ark., 2010). Concha'lar önce aşağıya, sonra yukarıya kendi üzerine kıvrılarak burun boşluğunda yanal çıkıntılar şekillendirirler (König and liebich, 2007). Üç adet concha bulunur; Concha nasalis dorsalis, Concha nasalis media ve concha nasalis ventralis'tir (König and liebich, 2007). Burun boşluğu concha nasalis dorsalis ve concha nasalis ventralis ile dört yola ayrılmaktadır. Meatus nasi dorsalis, Meatus nasi medius, meatus nasi ventralis ve meatus nasi communis'tir.(Dursun, 2008)

11.3. Sinus Paranasales

Sinus paranasales burun boşluğunun çevresinde bulunan kemiklerin içerisindeki boşluklardır (65). Bu boşluklar doğumdan sonra gelişir ve yaşlandıkça gelişmeleri devam etmektedir. Equide ve büyük ruminantlarda iyi gelişmişlerdir(König and liebich, 2007). Kemiklerin iç yüzünü örten mukoza gevşek olarak tutunmuştur. Müköz bir salgı yapar (Dursun, 2008). Sinüs maxillaris, Sinüs frontalis, Sinüs palatinus, Sinüs sphenoidalis, Sinüs maxillaris olmak üzere 5 adet sinüs bulunmaktadır(König and liebich, 2007; Dursun, 2008; Dyce ve ark., 2010).

11.4.Larynx

Larynx; pharynx ile trache arasında bulunan bilateral tüp şeklindeki kas ve kıkırdak yapıdan oluşmuş yapılardır. Solunum havasının geçişi ve ses organı fonksiyon gösterir (Dursun, 2008). Larynx yapı olarak kıkırdak, kıkırdakları birbirine bağlayan kas ve ligament tarafından oluşturulur (König and liebich, 2007; Dursun, 2008). Larynx kıkırdaklarının üç tanesi tek,bir tanesi çifttir. Cartilago thyroidea, cartilago cricoidea, cartilago epiglottis tek, cartilago arythenoidea çift larynx kıkırdakları arasındadır (König and liebich, 2007; Dursun, 2008).

12. Keçilerin Üst Solunum Sisteminde Yapılan Bazı Plastinasyonlar

Plastinasyon genel olarak dokunun makro düzeyde korunmasını sağlar. Fakat fresh yapından farklı olarak bazı küçülmeler olabileceği bildirilmiştir(Baygeldi et al 2022).

Anatomik olarak sıralanmış bazı plastinasyon resimler aşağıda verilmiştir.

12.1. Burun Boşluğu

Burun boşluğu anatomik yapılardan zengin olan bir boşluktur. Plastinasyon dokuların makro yapılarını korumayı sağlayan bir tekniktir. Şekil 1 de görüldüğü gibi kırmızı okta belli olan septum nasi'nin görüntüsü.



Şekil 1. Burun boşluğuna ait keçi plastinasyon uygulaması (Güzel, 2022).

12.2. Concha nasalis dorsalis

Burun boşluğunda bulunan anatomik yapılardan concha nasalis dorsalis'in plastinasyon görüntüsü. Fresh yapının küçüldüğü kırmızı ok ile Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Concha nasalis dorsalis'in plastinasyonu (Güzel, 2022).

12.3. Concha nasalis media

Burun boşluğunda bulunan concha nasalis media'nın plastinasyon görüntüsü. Şekil 3'te görüldüğü üzere makro görüntüsü anatomik olarak görünümünü korur iken boyut olarak elbette küçülme olmuştur.



Şekil 3. Concha nasalis media'nın plastinasyonu (Güzel, 2022).

12.4. Concha nasalis ventralis

Concha nasalis ventralis bakıldığı zaman anatomik özelliklerini korumakta ve kolayca Şekil 4'te ayırt edilebilmektedir. Concha nasalis ventralis rostral kısmındaki iki dürüm olan plica alaris ve plica basalis net bir şekilde ayırt edilebilmektedir. Anatomik yapısını korumaktadır



Şekil 4. Concha nasalis ventralis'in plastinasyonu (Güzel, 2022).

12.5. Sinüs frontalis

Sinüs frontalis'in normal yapılarını korudukları tespit edilmiştir. Herhangi bir küçülme olmadığı Şekil 5'te gözle görülmüştür.



Şekil 5. Sinus frontalis'in plastinasyon görüntüsü (Güzel, 2022).

12.6. Organum vomorenasale

Organum vomorenasale plastinasyon işlemi sonrası net bir şekilde ayırt edilebilmekteydi. Herhangi bir küçülme meydana gelmemişti. Normal olarak özelliklerini Şekil 6'da görüldüğü üzere korumaktaydı.



Şekil 6. Organum vomorenasale plastinasyonu (Güzel, 2022).

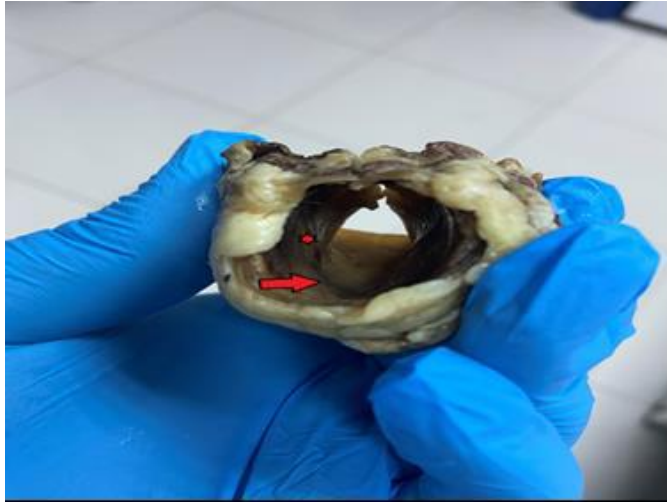
12.7. Larynx

Cartilago thyroidea, cartilago cricoidea, cartilago arythenoidea ve epiglottis nitel dış bakıdan anatomik özelliklerini korumuşlardı (Şekil 7).

Kıkırdakların küçülmesine bağlı olarak art. cricothyroidea, art cricoarythenoidea ve art. thyroidea'da ayrılmalar meydana gelmişti. Larynx kıkırdaklarının küçülmesine istinaden vestibulum laryngis, ventriculus laryngis ve cavum infraglotticum'un hacimsel olarak küçülmeleri nitel olarak gözlemlendi. Cavum infraglotticum cavum laryngis'in en kısa ve geniş boşluğu olmasına rağmen silikon plastinasyonu sonrası en kısa ve dar bir boşluk haline gelmişti. Ayrıca plica vocalis ve plica vestibularislerin küçülerek birbirlerine yaklaştıkları belirlendi (Şekil 8).



Şekil 7. Larynx plastinasyon (Güzel, 2022).



Şekil 8. Larynx plastinasyon (Güzel, 2022).

13. KAYNAKÇA

- Baygeldi, S.B., Güzel, B. C., Şeker, U. (2022). Colorimetric evaluation of cross-sectional silicone plastination of the Total head region of sheep and Deplastination of the histological sections of brain tissue. *Anat Histol Embryol*, 51(4), 542-548.
- Brown, M.A., Reed, R.B., Henry, R.W. (2002). Effects of dehydration mediums and temperature on total dehydration time and tissue shrinkage. *J Int Soc Plastination*, 17, 28-33.
- De Jong, K., Henry, R.W. (2007). Silicone plastination of biological tissue: Cold-temperature technique Biodur™ S10/S15 Technique and Products. *J Int Soc Plastination*, 22, 2-14
- Dursun, N. (2008). Veteriner Anatomi II. Ankara, Türkiye
- Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. (2010). Veteriner Anatomi. UK:Saunders.
- Ekim, O., Tunalı, S., Hazıroğlu, R.M., Ayvalı, M. (2014). Evcil memeli hayvanlarda böbreklerin soğuk ortam tekniği ile silikon plastinasyonu. *Vet Hekim Der Derg*, 85(2), 1-11
- Hagens von, G., Tiedemann, K., Kriz, W. (1987) The Current Potential of Plastination. *Anat Histo Embryo*, 175, 411-421.
- Henry R.W. (2007). Silicone Plastination of Biological tissue: room temperature North Carolina technique and products. *J Int Soc Plastination*, 22, 26-30.
- Henry, R.W., Janick, L., Henry, C. (1997). Specimen preparation for silicone plastination. *J Int Soc Plastination*, 12, 1317.
- Holladay, S.D. (1989). Plastination of Inflated Hollow Gastrointestinal Organs From Large Animals. *Int Soc Plastination*, 3, 34-37.
- König, H.E., Liebich, H.G. (2007). Veteriner Anatomi(Evcil Memeli Hayvanlar), Ronnenberg, Germany.
- Latorre, R., Arencibia, A., Gıl, F. (2004). Sheet plastination with Polyester: An alternative for all tissues. *J Int Soc Plastination*, 19, 33-39.
- Lattore, R., Rodruguez, M.J. (2007). In search of clinical truths: equine and comparative studies of anatomy. *Equine Vet J*, 39(3), 263-268.
- Marks, D.L., Chaney, E.J., Stephen, A. (2008). Plastinated tissue samples as three-dimensional models for optical instrument characterization. *Boppart Opt Express*, 16, 16272-16273.
- Mıklosova, M., Mıklos, V. (2004). Plastination with silicone method S10-monitoring and analysis causes of failure. *Biomed Papers*, 148, 237-238.

- Ottone, N.E., Cirigliano, V., Bianchi, H.E. New contributions to the development of a plastination technique at room temperature with silicone. *Anat Sci Int*, 90, 126-135.
- Ottone, Ne., Del Sol, M., Fuentes, R. (2016). Report on a sheet plastination technique using commercial epoxy resin. *Int J Morphol*, 34(3), 1039-1043.
- Pashaei, S.A. (2010).brief review on the history, methods and applications of plastination. *Int J Morphol*, 28(4), 1075-1079.
- Raouf, A., Henry, R.W., Reed, R.B. (2007). Silicone plastination of biological tissue: room temperature technique Dow/Corcoran Technique and products. *J Int Soc Plastination*, 22, 21-25.
- Sargon, M.F., Tatar, İ. (2014). Plastination: basic principles and methodology. *Int J Exp*, 8, 13-18.
- Smith, B.J., Holladay, S.D. (2001). Risk factors associated with plastination II. Infectious agent considerations. *J Int Soc Plastination*,16,14-18.
- Sora, Mc., Cook, P. (2007). Epoxy Plastination of Biological Tissue: E12 Technique. *J Int Soc Plastination*, 22, 31-39.
- Sora, Mc., Genser-Strobl, B. (2005). The sectional anatomy of the carpal tunnel and its related neurovascular structures studied by using plastination. *Eur J Neurol*, 12(5), 380-384
- Sora, Mc., Jilavu, R., Matusz, P. (2013). Three dimensional reconstruction of a female pelvis using plastinated cross-sections-Using Plastination for 3D Reconstruction. *J Plast*, 25(1), 22-27.
- Steinke, H., Spänzel, B.K. (2006). Coloured plastinates. *Ann Anat*, 188, 177-182.
- Yucel, S., Baskın, S. (2004). An Anatomical Description of the Male and Female Urethral Sphincter Complex. *J Urol*, 171(5):1890-1897.

BÖLÜM 7

TÜRKİYE VE DÜNYA'DA KARMA YEM SEKTÖRÜ

Ziraat Müh. Gökhan GÜNDOĞDU¹
Dr. Öğr. Üyesi Çağrı KALE²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402026>

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Van, Türkiye. gokhangundogdutr@gmail.com, Orcid ID: 0009-0008-6353-2879

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni ve Hayvan Besleme Bölümü, Van, Türkiye. cagrikale@yyu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-1918-6346

1.GİRİŞ

Kesif yada diğer isimleriyle konsantre veya yoğun yem olarak adlandırılan yemler; birim hacimde bulunan besin maddeleri fazla, sindirilebilirlikleri de yüksek olan yemlerdir. Kesif yemler hayvanların besin madde ve enerji ihtiyaçlarını karşılama bakımından rasyonda önemli bir yere sahiptirler. Karma yem ise; hayvanlar için gerekli besinleri ve enerjiyi sağlamak üzere formüle edilen tahıllar, protein kaynakları, mineraller ve vitaminler dahil olmak üzere birden fazla konsantre yem kombinasyonunu ifade eder (Ergün ve ark., 2011). Karma yem endüstrisinin, Amerika Birleşik Devletleri'nde ilk ticari yem fabrikalarının kurulduğu 1900'lü yılların başlarına kadar uzanan uzun bir geçmişi vardır. O tarihten bu yana endüstri, yeni teknolojilerin devreye girmesi ve farklı hayvan türleri için daha özel yemlerin geliştirilmesiyle önemli değişiklikler geçirdi. Hayvansal üretimde kesif yemin önemi göz ardı edilemez.

Tarım, bitkisel ve hayvansal ürünlerin üretimi, kalite ve verimliliğinin artırılması, bu ürünlerin uygun koşullarda muhafaza edilmesi, işlenmesi, değerlendirilmesi ve pazarlanmasıyla ilgilenen bilimdir. Tarımın bir kolu olan hayvancılık, tarih boyunca insan beslenmesinde önemli rol oynayan temel besin maddelerinin üretimini sağlayan hayvansal üretim kaynaklarının bütünüdür. Hayvancılık ayrıca endüstriyel atıkların değerlendirilmesi, istihdam sağlama ile de toplumsal ve ekonomik öneme de sahiptir. Dünya nüfusunun son 50 yılda hızla artmasına bağlı olarak et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlere olan talep ile birlikte, hayvancılığın çeşitli ülke ekonomilerindeki konumu ve önemi giderek artmıştır.

Karma yem sektörü, küresel tarım ve hayvancılık endüstrisinin kritik bir bileşenidir. Karma yem, özellikle ruminant ve kanatlı sektörlerinde hayvanların optimum büyümesi ve sağlığı için gerekli besin maddelerini, vitaminleri ve mineralleri sağlamak üzere bir araya getirilmiş kesif yem karışımını eder. Bu sektör, et, süt ve yumurta üretimi için yetiştirilen hayvanlara beslenme açısından dengeli yemler sağlayarak gıda üretiminin desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Hayvansal üretimde oldukça önemli yere sahip olan karma yem sektörünün zaman içindeki değişimi, Türk hayvancılık sektöründeki yeri ve önemi, karma yem üretimindeki sorunlar, bu sektöre ait kanun ve idari düzenlemeler bu bölümde bahsi geçen önemli konular arasındadır.

2. KARMA YEM SANAYİSİNİN TARİHSEL EVRİMİ

Sadece iki yem hammaddesinin karışımı karma yem olarak düşünüldüğünde ilk karma yemin tam olarak hangi tarihte yapıldığını tespit etmek zordur. Karma yem üretimine ilişkin ilk veriler 1870 yılına

dayanmaktadır (Akdeniz ve ark., 2005). Bu tarihe kadar olan dönemde ise; Amerika Birleşik Devletleri'nde 1810 yılında yem standardizasyonu geliştirilmeye çalışılmış, 1813 yılında da tahılların ilk kez öğütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Beslenme temelli ilk yem standardizasyonu ise 1864 yılında Almanya'da gerçekleştirilmiştir (Schoeff,1994). Almanya ile Birleşik Krallığın ordularında kullanılan atların ihtiyaçları için ürettiği "At Bisküvisi" adlı yem karışımının, karma yemin ilk örneği olduğu düşünülmektedir. ABD'de 1875 yılında buzağı yemi üretimi için kurulan yem fabrikasından sonra (Schoeff, 1994), 1880 yılında Avrupa'da mineral premiks üretimi ilk olmuştur. 1885 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yulaf, arpa ve mısırın bir araya getirilmesiyle hazırlanmış ilk karma yeme, karışımda yer alan üç yem hammadesinin İngilizce isimlerinin ilk harflerinin bir araya getirilmesiyle oluşan "COB Feed" adı verildi (Ergül, 1994). 1908 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde keten tohumu, mısır, buğday, darı, yulaf gibi yem hammaddelerinden oluşturulan civciv yemi üretimi yapıldı. Aynı dönemde Avrupa'da kaba yem imalatında ortak yem formülasyonu ve karıştırma sistemleri kullanıldı. Fakat 20. yüzyılın başlarında karma yem üretiminin hızla büyümesi, bir dizi sorunu beraberinde getirmesi nedeniyle endüstrinin düzenlenmesi gerekliliği kabul edildi ve ilk yasal düzenlemeler Amerika Birleşik Devletleri'nde 1916 yılında hayata geçirildi. Aynı şekilde, Almanya'da da benzer sorunlara çözüm olarak 1920 yılında ilk yem kanunu yürürlüğe girdi (Akyıldız, 1979; Ergül, 1994; Akdeniz ve ark., 2005). 1922 yılında ABD'de karma yemlerde ilk kez soya fasulyesi küspesi kullanılırken, 1944 yılında büyükbaş ve kanatlı hayvanlara yönelik yem standardizasyonları yapılmıştır (Schoeff, 1994). 1959 yılında Avrupa Yem Üreticileri Birliği kurulmuştur (Tielen, 2004). 1975 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde otomasyon destekli karma yem fabrikası kurulurken, 1970 ile 1980 yılları arasında vitamin ve minerak karma yemi üreten fabrikalar kurulmuştur. 1985 ile 1990 yılları arasında da yine ABD'de karma yemlere ekspander uygulamaları yapılmıştır (Schoeff, 1994). 1987 yılında Uluslararası Yem Endüstrisi Federasyonu kurulmuştur (Anonim, 2004).

Ülkemizde yem sanayisinin kurulması ihtiyacı 1945 yılında gündeme gelmişse de, 1955 yılında özel bir şirket, İstanbul'da büyükbaş hayvan yemi üreten ilk yem fabrikasını kurmuştur. Bu girişimden sonra, TMO (Toprak Mahsülleri Ofisi), büyük tahıl ambarlarından arta kalanları kullanmak üzere İngiltere'den saatte 3 ila 6 ton üretim kapasitesine sahip 15 takım yem fabrikası alet, makine ve ekipmanı ithal etmiştir. Fakat karma yem sanayisinin kendine has teknoloji, bilgi birikimi ve hammadde gereksinimi olduğu anlaşılması üzerine, karma yem üretimini farklı bir kuruluşun üstlenmesinin daha uygun olacağı düşünüldükçe, 26 Kasım 1956 tarihinde "Tam veya Tamamlayıcı Hazır Yem Üretimi" kararı alınmıştır. Mevcut yem kaynaklarını ve türlerini işlemek, gerekli malzemeleri temin etmek, üretmek, yem ticaretine dahil olmak ve çeşitli tarım, hayvancılık sektörlerine giriş yağmak amacıyla Yem Sanayi Türk A.Ş.

kurulmuştur. Şirket 1958 yılında Konya ve Ankara'da, 1959 yılında Erzurum'da ve 1960 yılında İstanbul'da yem fabrikaları açmıştır. Aynı zamanda hayvan yetiştiricilerinin karma yem kullanımını teşvik etmek için çalışırken, bir yandan da özel sektörde bu alanda faaliyet göstermek için çalışmalar yapmıştır. 1961-1962 yıllarında İzmir'de Tariş, Mersin'de Çukobirlik, Eskişehir ve Bandırma'da bulunan özel girişimcilerle birlikte buralarda yeni yem fabrikalarının üretimine başlamalarını sağlamıştır. Bu fabrikaların olumlu sonuçları, Yem Sanayi Türk A.Ş.'yi ve özel sektörü bu alanda yatırım yapmaya teşvik etmiştir. Bu teşvikler sonucunda yeni fabrikaların kurulmasına başlanmış ve karma yem imalatı artmaya başlamıştır (Akyıldız, 1979; Büyükhahin, 1989; Ergül, 1994). Aynı zamanda Anadolu'nun doğu ve güneydoğu bölgelerindeki yem fabrikalarının açılmasıyla sektörün ülke geneline faaliyet göstermesi sağlanmıştır. Kayıtlı ilk yem fabrikaları tam veya yarı ortaklı kamu şirketleriyle faaliyet gösterse de, 1964 yılından bu yana özel sektörden devreye alınmasıyla üretim teknolojisi ve satış koşulları daha yoğun rekabetin ortaya çıkışı başlamıştır (Akyıldız 1979, Büyükhahin 1989, Ergül 1994, Zincirlioğlu ve ark. 1995).1972 yılında otomatik dozajlama yapabilen yem fabrikaları kurulmuştur (Ergül,1994).

Ülkemizde 1734 sayılı Yem Kanununun 7 Temmuz 1973 tarihinde yürürlüğe girmesi ve bir yıl sonra da yem yönetmeliğinin yayımlanmasıyla karma yem sektörüne ilişkin ilk yasa ve yönetmelikler oluşturulmuştur (Anonim, 1973; Anonim, 1974). Ayrıca kanun ve yönetmeliklerde belirtilen sorumlulukları yerine getirmek ve bu kuruma karma yemler konusunda çeşitli karar alma yetkileri vermek üzere önce "Yem Kayıt Yönetim İşleri Dairesi Başkanlığı", ardından "Genel Müdürlük" oluşturulmuştur. Ancak, daha sonraki dönemde Genel İdare kaldırılmış ve bu sorumluluk, Tarım ve Orman Bakanlığı bünyesinde şube müdürlüğü düzeyinde yerine getirilmeye başlanmıştır. Ayrıca karma yemlerin vasıf kontrolü, geleneksel gıda kontrolleriyle birlikte uygulanmaya başlanmıştır (Ergül 1994).

Karma yem sektörü, 1996 yılından bu yana 809 yem fabrikasıyla serbest piyasa koşullarında bağımsız olarak gelişmeyi başarmış olup, aktif olarak üretime devam etmektedir. Aktif fabrikalar açısından ekonomi sanayinin son dönemdeki kapasite kullanım oranı (KKO) %91-92 civarındadır. Sektörün büyük bir gelişme döneminde olduğu, 1970'ten 2022'ye kadar toplam fabrika satışları ve toplam üretim kapasitesinin hızlı bir şekilde çoğaldığı görülmüştür. Türkiye'de faaliyet gösteren yem fabrikaları çoğunlukla İç Anadolu ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmıştır ve bu bölgeleri Ege bölgesi takip etmektedir.

3. YEM SEKTÖRÜNÜN MEVCUT DURUMU

Dünya karma yem üretiminde ilk 10 sırayı alan ülkeler, dünyadaki yemin %64'ünü tüketmekte ve bu tüketimin yarısı; Çin, ABD, Brezilya ve Hindistan gibi ülkelerde yoğunlaşmaktadır. Çin 260 milyon ton ile birinci sırada yer

alırken, bunu sırasıyla; 237 milyon ton ile ABD, 81 milyon ton ile Brezilya ve 44 milyon ton ile Hindistan takip etmektedir. 2022’de yem tonajı açısından büyük bir toparlanma yaşayan Vietnam, Arjantin ve Almanya’nın önüne geçip ilk 10’a girerek yem tonajının düştüğünü bildiren Türkiye’yi geride bırakmıştır. Rusya ise, yem üretiminde önemli bir azalmanın olduğu İspanya’nın önüne geçmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Karma yem üretiminde ilk on ülkenin 2021-2022 yem üretim verileri, 100 ton (Alltech Agrifood Outlook, 2023).

Ülkeler	2021	2022	Büyüme	Büyüme, %
Çin	268.343	260.739	7.604	-2,83
ABD	237.977	240.403	2.426	1,02
Brezilya	81.239	81.948	0.709	0,87
Hindistan	44.059	43.360	(0.700)	-1,59
Meksika	39.684	40.138	0.454	1,14
Rusya	33.000	34.147	1.147	3,48
İspanya	35.838	31.234	4.604	-12,85
Vietnam	20.920	26.720	5.800	27,72
Arjantin	26.719	25.736	0.983	-3,68
Almanya	24.506	24.396	0.110	-0,45

Karma yem üretimi AB’de 2021 yılında 151.6 milyon ton iken 2022 yılında 145.8 milyon ton olarak kaydedilmiştir. Sığır yeminde %1.1, domuz yeminde %6.6, kanatlı yemlerinde % 3.5, diğer yemlerde %2.2 ve ortalamada 2021 yılına göre %3.8’lik bir azalma görülmüştür (Tablo 2).

Tablo 2. AB’de kesif yem üretimi, milyon ton (FEFAC, 2023).

Yemler	2021	2022
Sığır yemi	41.91	41.46
Domuz yemi	52.66	49.16
Kanatlı yemi	48.86	47.18
Diğer yemler	7.04	6.89
Toplam	150.47	144.68

4. TÜRKİYE’DE KARMA YEM ÜRETİMİ VE KULLANIMI

Yem, hayvansal üretimde en önemli girdilerden biridir. Yem maliyetleri hayvanın türüne bağlı değişiklik göstermekle birlikte bir hayvancılık işletmesinin toplam giderlerinin %50 ile %80 düzeyinde yem maliyetleri oluşturmaktadır. Aslında kanatlı sektöründe yemlerin tamamı kesif yemdir. Dolayısıyla hayvancılığın gelişmesi ve hayvansal üretimin artması kesif yem sanayi gibi faktörlerle yakından ilişkilidir.

Dünya kesif yem üretimi 1975'te 290 milyon ton olup, 1997'de 605 milyon tona, 2022 yılında ise 1.266 milyar tona ulaşmıştır. Dünya çapında üretilen konsantre yemler arasında kanatlı hayvan yemi 2022 yılında 525 milyar tonu aşarak, %44'lük payla ilk sırada yer almıştır. Bunu %28 ile domuz yemi, %21 ile süt ve besi hayvanı yemi takip etmiştir. Diğer hayvan türlerine yönelik konsantre yem üretimi toplam üretimin yalnızca %7'sini oluşturmuştur (Tablo 3).

Tablo 3. Dünya'da karma yem üretimi, milyon ton (Alltech Agrifood Outlook, 2023).

Sektör	2021	2022	Büyüme	Büyüme, %
Broyler	359.387	363.960	4.573	1,27
Domuz	329.185	319.383	(9.802)	-2,98
Yumurtacı tavuk	161.356	161.849	0.493	0,31
Süt sığırı	135.616	133.823	(1.793)	-1,32
Besi sığırı	118.441	118.042	(0.399)	-0,34
Su ürünleri	51.510	52.914	1.403	2,72
Evcil hayvan	32.884	35.101	2.217	6,74
At	8.091	8.159	0.068	0,83
Genel Toplam	1.271.731	1.266.190	(5.541)	-0,44

Türkiye'de kesif yem üretiminin başladığı 1950 yıllarının sonlarında üretilen toplam kesif yem miktarı 3.533 ton iken, 2022 yılında toplam kesif yem üretim miktarı 27,1 milyon tonu bulmuştur. Ancak son yıllarda değişim oranı çok düşmüş, 2021 yılına kıyasla 2022 yılında %0.5'lik bir artış olduğu görülmüştür. Son 10 yıldaki değişimler incelendiği zaman, toplam kesif yem üretim miktarı 2012 yılında 14,5 milyon ton olurken, 2022 yılında toplamda üretilen kesif yem yaklaşık 27.1 milyon ton olmuştur. Son 10 yıldaki üretilen kesif yemlerin üretim miktarında %87,3'lük artış olduğu bildirilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Türkiye’de karma yem üretimi, ton (Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2023).

Yıllar	Sığır Besi Yemi	Sığır Süt Yemi	Etlik Piliç Yemi	Yumurtacı Tavuk Yemi	Diğer Karma Yemler*	Genel Toplam
2014	3.386.565	5.621.664	3.979.945	2.480.547	2.534.895	18.003.616
2015	3.320.221	5.384.586	4.779.916	3.417.209	3.203.051	20.104.983
2016	3.827.073	5.840.262	4.566.237	2.958.232	3.210.048	20.401.852
2017	4.594.552	6.171.275	4.753.989	3.369.665	3.528.862	22.418.333
2018	5.072.549	6.481.999	5.306.118	3.600.843	3.682.980	24.144.489
2019	5.406.167	6.550.258	5.363.210	3.828.441	3.791.041	24.939.117
2020	5.732.941	7.016.824	5.397.526	3.716.754	4.408.221	26.272.266
2021	5.961.009	7.171.666	5.542.974	3.661.780	4.666.569	27.003.998
2022	5.876.345	6.870.374	6.022.932	3.501.499	4.858.498	27.129.648
2023 (Ocak- Haz.)	2.462.179	2.878.977	2.212.347	1.428.127	2.079.696	11.061.326

*:Küçükbaş yemleri, balık yemleri, at yemi, ev ve süs hayvanları yemleri, arı keki vb.

Türkiye yem üretiminin %55'ini küçükbaş ve büyükbaş yemleri, %39'unu kanatlı yemleri ve %6'sını diğer yem grupları oluşturmaktadır. Ülkemizde Temmuz 2023 yılı verilerine göre 16.536 kayıtlı yem işletmesi bulunmaktadır. Bunun 809'u kesif yem üreten işletmelerdir (Tablo 5).

Tablo 5. Türkiye’de karma yem üreten İşletme sayısı (Gıda ve Kontrol Genel Müd., 2023).

İşletmeler	İşletme Sayısı (Adet)
Karma Yem	809
Kendi Yemini Üreten	733
Yem Katkı	322
Rendering	85
Mineral Yem Üreten	23
Kedi-Köpek Maması Üreten	98
Yem Depolama ve Satış Yeri	14.47
Toplam	16.54

5. KARMA YEM FİYATLARI

Yem endüstrisi hammaddelerinin büyük bir kısmını bitkisel üretimden temin eder ve hayvansal üretime kesif yem sağlar. Bu özelliğinden dolayı yem maliyetleri 2 faktörden etkilenmektedir. Biri hammadde fiyatları, diğeri ise hayvansal ürünlerin fiyatıdır. Yem hammadde fiyatlarının artışıyla birlikte yem ücretlerinde de artış görülmektedir.

Türkiye İstatistik Kurumu'nun "Tarımsal Girdi Fiyat Endeksi, Aralık 2020" raporu verilerine göre, yem fiyatlarındaki yıllık artış oranı %25.24 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca aynı rapora göre 2020 yılı aralık ayında tarımsal girdi fiyat endeksi, bir önceki aya kıyasla %2.72 artmış, 2019 yılının aynı dönemine göre ise %17.52 oranında artış göstermiştir. Bu verilere göre; 12 aylık ortalamalara bakıldığında ise girdi fiyatlarının %9.85 arttığı görülmüştür (TÜİK, 2023).

6.SONUÇ

Sonuç olarak, karma yem endüstrisi hayvansal üretimde kritik bir rol oynamaktadır ve Türkiye'deki hayvancılık sektörünün gelişimi için vazgeçilmezdir. Ancak sektördeki sorunların çözülmesi ve düzenlemelerin yapılması gerekmektedir. Bu sayede daha sağlıklı ve verimli bir hayvancılık sektörü oluşturulabilir ve ülke ekonomisine katkı sağlanabilir. Ülkemizde 2022 yılında toplam karma yem üretimi, 2021 yılına göre %0.5 artış kaydetmiş, son

on yıl içerisinde ise %87 gibi büyük bir artış yaşanmıştır. Bu gelişme olumlu bir şekilde değerlendirilse de, yem üretimi hala istenilen seviyeye ulaşamamıştır. Bu nedenle ülke içinde tüketilen yemlerin büyük bir bölümü ithalat yoluyla karşılanmaktadır. Karma yem endüstrisinin önemi ve gerekliliği göz önüne alındığında, sektörün daha da gelişmesi ve sorunların çözülmesi için çeşitli çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir. Özellikle hammaddelerin kalitesinin artırılması, yerli kaynakların kullanımının teşvik edilmesi ve ekonomik istikrarın sağlanması sektörün geleceği açısından önem arz etmektedir.

7. KAYNAKÇA

- Akdeniz, R.C., Ak, İ., Boyar, S. (2005). Türkiye Karma Yem Endüstrisi ve Sorunları.
- Alltech, Alltech Agrifood Outlook 2023.
- Akyıldız R. (1979). Karma Yemler Endüstrisi. Ankara: San Matbaası. p.218.
- Anonim. (1973). 1734 sayılı Yem Kanunu. Ankara: 14557 Sayı ve 07.07.1973 tarihli Resmi Gazete.
- Anonim. (1974). 1734 sayılı Yem Yönetmeliği. Ankara: 14967 Sayı ve 05.08.1974 tarihli Resmi Gazete.
- Anonim. (2004). Türkiye’de yem sanayi ve bugünkü durumu, borsavizyonpencere.<http://www.atb.gov.tr/BorsaDergi/Mayis2004/htm/20.35.pdf> s. 21-25.
- Anonim. (2023). Avrupa Yem Sanayicileri Federasyonu (FEFAC), www.fefac.eu.
- Büyükşahin, H. (1989). Türkiye karma yem endüstrisi ve Yem Sanayi Türk A.Ş. *Yem Sanayi Dergisi*, 64, 4-13.
- Ergül, M., (1994). Karma Yemler ve Karma Yem Teknolojisi. Ders Kitabı. Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:384.
- Ergün, A., Tuncer, Ş.D., Çolpan, İ., Yalçın, S., Yıldız, G., Küçükersan, M.K., Küçükersan, S., Şehu, A., Saçaklı, P. (2011). Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Ankara: Pozitif Matbaa.
- Schoeff, R.W. (1994). History of the Formula Feed Industry. Chapter I, Section I. AFIA, USA: Feed Manufacturing Technology IV. p:2-11
- Tarım ve Orman Bakanlığı (2023). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü 2020 raporu. <https://www.tarimorman.gov.tr>
- TÜİK. (2023). Türkiye İstatistik Kurumu. <http://tuik.gov.tr>
- Tielen, M., (2004). Structure & FEFAC and Lobbying Strategies. 7. TUYEM Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi, Belek/Antalya, s.93-113.
- Zincirlioğlu, M., Ceylan, N., Aksoy, A., Vural, H. (1995). Türkiye’de karma yem üretimi ve kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi, Ankara, s. 983-997

BÖLÜM 8

ANTI- MÜLLERIAN HORMON VE ANTRAL FOLİKÜL SAYISI İLE EMBRİYO ÜRETİMİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YILDIZ¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402032>

¹Van yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van. mehmetyildiz@yyu.edu.tr, ORCID: 0000-0001-5523-7433

1.GİRİŞ

Reproduktif biyoloji, modern hayvancılığın temel taşlarından biri olup, özellikle de embriyo üretimi ve üreme performansının değerlendirilmesi, tarım endüstrisinde sürekli gelişen ve dönüşen bir alan haline gelmiştir (Mossa ve ark., 2012). Bu dinamik sektörde, Anti-Müllerian Hormon (AMH) ve antral folikül sayısı (AFC) gibi ovaryum rezervlerini belirlemede kullanılan biyolojik göstergeler, hayvan yetiştiriciliği ve genetik seleksiyonun etkin bir şekilde yönetilmesinde kilit bir rol oynamaktadır. Bu göstergeler, özellikle ineklerde ovaryum rezervlerinin belirlenmesi ve üreme potansiyelinin değerlendirilmesi için güvenilir araçlar sunarak, çiftliklerdeki üreme programlarının optimize edilmesine olanak tanımaktadır (Rico ve ark., 2012).

Günümüzde, ovaryum rezervlerinin değerlendirilmesi, hayvanların üreme kapasitelerini öngörme ve genetik potansiyellerini belirleme konusunda önemli bir stratejik avantaj sağlamaktadır (Ireland ve ark., 2008). Bu bağlamda, AMH ve AFC, ovaryum rezervlerinin dinamik bir göstergesi olarak öne çıkmaktadır. İneklerde ve diğer çiftlik hayvanlarında, AMH seviyeleri ve AFC, doğurganlık potansiyeli ve üreme performansı ile yakından ilişkilidir (Guerreiro ve ark., 2014). Özellikle AFC, ovaryum rezervinin bir yansıması olarak kabul edilebilmektedir. Bu parametre, embriyo üretimi ve üreme biyoteknolojilerinde stratejik bir belirteç olarak kullanılabilir (Rico ve ark., 2012).

Gelişen teknolojiler ve bilimsel araştırmalar sayesinde, AMH ve AFC'nin embriyo üretimi üzerindeki potansiyel etkileri daha ayrıntılı bir şekilde anlaşılmaktadır. Özellikle AMH'nın, foliküler büyüme ve gelişme üzerindeki etkileri, hayvanlarda reproduktif yeteneği üzerinde önemli bir belirleyici olarak ortaya çıkmaktadır (Baldrighi ve ark., 2014). Bu noktada, AMH ve AFC arasındaki karmaşık ilişkiyi anlamak, hayvan yetiştiriciliğinde genetik seçilme programlarını optimize etmek ve üreme performansını artırmak için kritik bir faktördür (Mossa ve ark., 2015).

Bu çalışmada, AMH ve AFC arasındaki ilişkiyi anlamaya yönelik mevcut bilgileri derleyerek, bu biyolojik göstergelerin embriyo üretimi ve genetik seleksiyon üzerindeki etkilerini değerlendireceğiz. Ayrıca, çiftlik hayvanlarında AMH ve AFC'nin belirlenmesinin, üreme biyoteknolojilerinde ve genetik programlarda nasıl kullanılabileceğini inceleyeceğiz.

2. ANTİMÜLLERIAN HORMON

Anti Müllerian hormon holodimerik bir glikoprotein özellikte olup, 140 kilodalton (kDA) ağırlığına sahiptir. Sadece gonadlarda salgılanmakta ve transforme edici büyüme faktörü Beta (TGF- β) süperaillesine aittir. AMH molekülü, 70 kDA ağırlığında olup, her molekülde C- terminal ve N- terminal

ucu olmak üzere toplam 2 monomerden oluşmaktadır. Embriyonik dönemde erkek fetal cinsiyet farklılaşması ile ilişkili olduğu bilinse de, yapılan sonraki çalışmalar ile AMH'nın dişi ve erkek reproduktif organların işlevleri üzerine etkileri olduğu tespit edilmiştir (Cate ve ark., 1986; Teixeira ve ark., 2001). Çiftlik hayvanlarında AMH konsantrasyonu incelenmesi ile sürü fertilitite yeteneği ortaya konulabilmektedir. Dolaşımdaki AMH konsantrasyonu dişilerde fertilitite ve ovaryum rezervleri için, yenidoğan erkekte ise testis fonksiyonları için iyi bir belirteçtir (Monniaux ve ark., 2012; Stojsin-Carter ve ark., 2017).

2.2. İneklerde Doğumdan Pubertaya Kadar AMH Konsantrasyonu

Holştayn dişi buzağılarda AMH konsantrasyonunun doğumdan sonraki ilk 2 ay süresince arttığı, 5 aylıkken azaldığı ortalama 8-9 aylıktan ilk ovulasyona kadar sabit kaldığı bildirilmektedir. Maine-Anjou etçi sığır ırkında plazma AMH konsantrasyonunun 1-3 aylık dönemde hızlı bir şekilde arttığı, 6. aya kadar bu yüksekliği koruduğu ve daha sonra ise 12. aya kadar yavaşça azalmaktadır. Bu dönem ise tür için ovulasyon zamanına denk gelmektedir (Monniaux ve ark., 2012). 3-4 aylık buzağuların AMH seviyesi, 14-16 aylık Holştayn ve 18-24 aylık Bos indicus Nelore, düvelerine göre daha yüksektir (Batista ve ark., 2014). AMH konsantrasyonlarının kadınlarda olduğu gibi ineklerde de yaşamın ilk aylarında arttığını ve pubertas öncesinde azaldığı düşünülmektedir. Fakat ırk ve genetik özelliklere bağlı olarak dalgalanmalar gösterebilmektedir (Monniaux ve ark., 2012).

2.3. İneklerin Östrus Siklusu Boyunca AMH Konsantrasyonu

Etçil ırk düvelerde AMH konsantrasyonu, ovulasyonun 8 gün öncesinden 3 gün sonrasına kadar oldukça sabit seyretmektedir (İreland ark., 2011). Ancak süt ineklerinde AMH foliküler dalgalanmadan bağımsız bir şekilde östrus siklusunda hareketli bir profil çizmektedir. Östrus siklusu uzunluğu ve her siklus başına düşen foliküler dalgalanma esnasındaki AMH seviyesi inekler arasında önemli farklılıklar gösterebilir, ineklerde normal bir östrus siklusu boyunca AMH seviyeleri oldukça benzerdir. Özellikle östrüstan sonra siklusunun 4-9. günlerinde AMH konsantrasyonu azalmakta ve sonraki östrusa kadar yavaşça artmaktadır (Monniaux ve ark., 2012).

Ultrason taraması ile AMH konsantrasyonundaki değişikliklerin, folikül sayısındaki artışla ilişkili olmadığı tespit edilmiştir. Ancak yüksek AMH üreten foliküler popülasyonda atrezi olan foliküllerin AMH seviyesindeki değişikliklere dahil olup olmadığı bilinmemektedir. Özellikle in vitro şartlarda yüksek FSH konsantrasyonunun inek granüloza hücrelerinden AMH üretimini azalttığı bilinmektedir (Jimenez-Krassel ve ark., 2009; Scheetz ve ark., 2012). AMH seviyesinin preovulasyon ve periovulasyon döneminde FSH'ya tepki

olarak östrus sonrası günlerde azaldığı düşünülmektedir. Ayrıca FSH salınması, yüksek AMH üreten foliküller, küçük antral granüloza hücreleri tarafından üretilen AMH üretimini azaltmaktadır (Monniaux ve ark., 2012).

2.4. İneklerin Gebelik ve Postpartum Döneminde AMH Konsantrasyonu

Holştayn ırkında birbirini takip eden iki gebelik ve postpartum dönemde yapılan AMH seviyelerinin ölçülmesinde, AMH miktarı oldukça spesifik bir profil çizdiği görülmektedir. Plazma AMH seviyesi gebe düvelerde, gebeliğin ilk 3 ayı boyunca yüksektir. Buzağılamadan önce seviyesi alçalmaya başlamakta ve doğumdan sonraki dönemde ise düşük seviyede kalmaktadır. İkinci gebeliğin ilk 3 aylık döneminde tekrar yükselmekte ve buzağılamadan önceki dönemde azalıp postpartum dönemde düşük kalmaktadır (Monniaux ve ark., 2012).

Gebe kadınlarda AMH erken fütal cinsiyet belirlemede oldukça önemli bir belirteç haline gelmiştir (Empey ve ark., 2012). Erkek yavruya sahip kadın ve ineklerde, gebeliğin 7. ve 8. haftalarından başlayarak erkek fötüs tarafından AMH ekspresyonundaki artış potansiyel olarak fütal cinsiyetin en erken moleküler belirteçlerinden biri olmaktadır (Vigier ve ark., 1984). Yapılan bir çalışmada gebeliğin ilk 3 aylık döneminde gebe inekten alınan kan örnekleriyle plazma AMH seviyeleri incelenmiş ve dişi fötüse gebe olan ineklerin, erkek fötüse gebe olan ineklere göre plazma AMH seviyesinin daha düşük olduğu belirtilmiştir. Gebeliğin 54 ve 220. günleri arasındaki plazma AMH seviyeleri dişi fötüslerde erkeklere kıyasla 1000 kat daha düşük olduğu belirtilmektedir (Stojšin-Carter ve ark., 2017).

3. DOLAŞIMDAKİ AMH MİKTARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

3.1. Çevre

Fötal yaşam sırasında kötü çevre koşulları doku, organ ve sistemlerin fizyolojisi üzerinde kalıcı hasarlar yaratabilmektedir (Langley-Evans ve McMullen, 2010). Gelişim, belirli bir genotipte bir dizi farklı fenotipin eksprese edilebildiği bir süreçtir. Gelişmekte olan embriyolar, hücrel proliferasyon, farklılaşma ve olgunlaşmanın hassas dönemlerinde çevreden etkilenmekte, böylece dokular ve organ sistemlerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olmaktadır. Meydana gelen hasar ise kısa veya uzun süreli olabilmektedir. Bu nedenle, “programlama” terimi, kritik ve hassas bir fütal veya perinatal yaşam periyodunda bir uyarıcı veya bir etkinin, farklı organların ve sistemlerin yapısı, fizyolojisi ve metabolizması üzerinde kalıcı etkileri olduğu süreci tarif etmek üzere benimsenmiştir (Mossa ve ark., 2015).

Tropik bölgelerde, *Bos taurus* sığırlarında *in vitro* embriyo üretim veriminin kötü olması, kısmen ısı stresine bağlanabilir (Ferreira ve ark., 2011). Isı stresinin blastosist üretiminde ısı stresi bitiminden 105 güne kadar devam ettiği ve folikulogenezin erken evrelerinde folikül ve oositlerin zarar görmesine ve ovaryum fonksiyonu üzerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir. Ovaryumun hasar görmesiyle AMH seviyesi olumsuz etkilenmektedir (Torres-Júnior ve ark., 2008).

3.2. Beslenme

Maternal beslenme fetal gelişim programlarının ana nedeni olarak kabul edilmektedir (Mossa ve ark., 2015). Gebelik sırasında annenin sağlık ve beslenme durumu, fetal yaşam boyunca oluşan primordiyal foliküllerin sayısını etkileyen önemli faktörler olarak bildirilmektedir (Evans ve ark., 2012). Gebelik döneminde annenin yetersiz beslenmesi (annenin gereksinimlerinin %60'ına) yavrularda ovaryum rezervinin oluşumu üzerinde olumsuz ve kalıcı etkiler meydana getirmektedir. Gebeliğin ilk trimesterinde yetersiz beslenme fetal ovaryumlarda germ hücrelerinin sayısındaki artış pik yapmaktadır (Erickson, 1966). Doğan dişi buzağılarda, azalan ovaryum rezervlerine bağlı olarak, 4 aylıktan 1.8 yaşına kadar dolaşımdaki AMH konsantrasyonları düşük çıkmaktadır. Buzağılarda 7 haftadan 1.6 yaşına kadar düşük antral folikül sayısına sahip ineklerde fenotipik özellik olarak FSH konsantrasyonları artmış şekildedir (Ireland ve ark., 2008). Fakat kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında iki gruba ait yavruların doğum ağırlıkları, doğum sonrası büyüme oranları ve pubertaya ulaşma süreleri benzerdir (Mossa ve ark., 2013).

Gebeliğin ikinci trimesterinde yüksek düzeyde protein ile beslenen ineklerin yavrulardaki sağlıklı AFC'nin azaldığını, fakat AMH konsantrasyonlarının ölçülmediğini bildirilmektedir (Sullivan ve ark., 2010). Embriyonik hayattan laktasyonun sonuna kadar yüksek yağ ile beslenen ratlarda AMH konsantrasyonu düşük bulunmuştur (Tsoulis ve ark., 2016). Farklı deneysel modeller ve farklı beslenme şekilleri kullanılarak, fetal yaşam boyunca uygulanan aşırı veya yetersiz beslenmeler ovaryum gelişimi ve AMH konsantrasyonunu azalttığı bildirilmektedir (Mossa ve ark., 2017).

3.3. Hastalık

Süt ineklerinde laktasyon ve gebelikte, mastitislerin fetal gelişim programlamaya etkisi ortaya konulmamıştır. İnsanlarda yapılan bir çok araştırma ile farklı reproduktif bozuklukların orjinleri araştırılmış fakat gebelik sırasında maternal hastalıkların ovaryum gelişimi ve işlevi üzerine deneysel kanıtlar bulunmamaktadır (Ho ve ark., 2017). Sütte somatik hücre sayısının (SCC) artması, meme bezi yangısını göstermektedir, ve kronik olarak yüksek SCC bulunan ineklerin yavrularında ovaryumlar daha küçük boyuttadır. Dolayısıyla SCC yüksek olan ineklerden doğan yavruların dolaşım AMH

seviyelerinin sağlıklı hayvanlardan doğan yavrulara göre %50 daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Evans ve ark., 2012).

3.4. Yaş ve Laktasyon

Kadınlarda AMH miktarının ölçülmesi ovaryum yaşlanmasının tespit edilmesi için iyi bir belirteçdir (Nelson ve ark., 2012). Çünkü AFC gibi dolaşımdaki AMH miktarında yaşla birlikte azalmakta ve ovaryum rezervleri ile yüksek korelasyon göstermektedir (Ireland ve ark., 2009). Farelerde serum AMH miktarının yaşlanmayla birlikte azaldığı tespit edilmiştir (Kevenaar ve ark., 2006). Primiparous and pluriparous Holştayn ineklerinde AMH ile parite arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır (Souza ve ark., 2015). İkinci ve üçüncü laktasyonlardaki ineklerin plazma AMH seviyelerinin birinci ve dördüncü laktasyondan daha düşük olduğu bildirilmektedir (Ribeiro ve ark., 2014). Bu gözlemler, ineklerde AMH konsantrasyonlarının ilk birkaç yıl belirli bir korelasyon göstermediğini vurgulamaktadır (Mossa ve ark., 2017).

3.5. Irk

Etçi ırk ineklerle karşılaştırılan sütçü ırk ineklerde AMH konsantrasyonu ve folikül sayısının daha düşük olduğu bildirilmektedir. 12-16 aylık Holştayn inekler ile melez etçi (Angus × Charolais) düvelerde prostaglandin F_{2α} uygulamasından 96 saat sonra dolaşımdaki AMH konsantrasyonu, folikül ve ovaryum büyüklüğü değerlendirilmiştir. Çalışma verilerine göre, sütçü ırk ineklerde folikül sayıları, ovaryum boyutu ve AMH konsantrasyonlarının düşük olduğunu saptanmıştır (Mossa ve ark., 2017). Farklı araştırmacılar ise etçi (Angus ve Charolais) düvelerin AMH konsantrasyonlarının sütçü (Holştayn ve Jersey) düvelere göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Pfeiffer ve ark., 2014). Ayrıca Nelore (Bos indicus) zebu etçi düveleri, Holştayn (Bos taurus) düvelerden daha büyük bir ovaryum, antral folikül popülasyonu ve plazma AMH konsantrasyonuna sahip olduğu bildirmekteyler (Batista ve ark., 2014).

AMH konsantrasyonlarının sütçü ırklar arasında farklılık gösterip göstermediği tartışmalı bir konudur. Holştayn ve Jersey düvelerinin plazma AMH miktarlarında farklılık görülmemektedir (Pfeiffer ve ark., 2014). Daha fazla sayıda hayvan üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise Jersey ırklarında AMH konsantrasyonunun en fazla olduğu, melez ırklarda (Holştayn × Jersey) daha düşük, holştayn (Ribeiro ve ark., 2014) ırkında ise en düşük konsantrasyonları olduğu tespit edilmiştir (Ribeiro ve ark., 2014). Ayrıca Gyr sütçü düvelerde plazma AMH konsantrasyonları, Murrah buffalo ve holştayn düvelerine göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Baldrighi ve ark., 2014).

4. ANTRAL FOLİKÜL SAYISI

Ovaryum rezervlerinin bir parçası olan germ hücreleri, primordiyal foliküller ve gelişen (birincil, ikincil ve antral) foliküllerde bulunmaktadır. Bu folikül popülasyonları, önceden belirlenmiş veya dinamik ovaryum rezervlerini oluşturmaktadır (Monniaux ve ark., 2014). Ovaryum rezerv kavramı, dışı gonadın hem nicelleştirilmesi hem de nitellendirilmesi için kurulmuş olup (Ireland ve ark., 2011), ovaryumda bulunan morfolojik olarak sağlıklı foliküllerin sayısı (Ireland ve ark., 2011) ve ineklerde doğurganlık oranıyla ilişkilidir (Jimenez-Krassel ve ark., 2009). Gelişme aşamasında germ hücreleri, primordiyal folikülleri oluşturmak için granüloza hücreleriyle çevrilmektedir. Foliküller gelişmeye başlayınca, granüloza hücrelerinin morfolojisi değişerek normal küboidal olup çağalarak primer folikülleri oluşturmaktadır. Primer foliküller gelişerek sekonder folikülleri ve daha sonra antral folikülleri oluşturmaktadır. Bu gelişme fazından dolayı primordiyal foliküller ile daha gelişmiş folikülleri içeren antral folikül sayıları (AFC) arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır (Erickson, 1966). AFC ise ovaryum rezervleri hakkında bilgi vermektedir (Ireland ve ark., 2009). Ovaryumlarda bulunan 3 mm çapında ve daha büyük folikülleri içeren toplam folikül sayısı AFC olarak sınıflandırılmaktadır (Jimenez-Krassel ve ark., 2009).

Hayvanlar arasında AFC miktarlarında ki farklılık, AFC'nin düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılmasına neden olmaktadır (Burns ve ark., 2005). Hayvanlar arasında her ne kadar büyük farklılıklar görülsede, aynı hayvanlarda belirli dönemlerde yapılan ölçümlerde AFC'nin sabit olduğu görülmüştür. Ayrıca AFC ovaryumdaki, morfolojik olarak sağlıklı folikül ve oositlerin toplam sayılarıyla pozitif ilişkili olduğunu gösterilmektedir (Ireland ve ark., 2009).

Aynı hayvanlarda AFC oranının sabit olması, tek bir ultrason muayenesiyle AFC miktarına göre sınıflandırma olasılığında stratejik bir kaynak haline gelmiştir (Ireland ve ark., 2011). Genetik (Walsh ve ark., 2014), beslenme, sağlık durumu ve maternal çevre gibi diğer faktörler de AFC'yi etkilemektedir. Örneğin, metabolik hız ve beslenme durumu, sığırlarda foliküler büyümeyi, oosit kalitesini ve üreme hormonlarının sekresyonunu etkileyen faktörler olarak belirtilmiştir (Evans ve ark., 2012; Jimenez-Krassel ve ark., 2009).

Hayvanlar arasında AFC'nin farklı olması, ovaryum rezervleri ve reproduktif performans arasında bir ilişki olabileceğini düşündürmüştür ve fertil ineklerin AFC'sinin infertil ineklerden daha yüksek olduğu bulunmuştur (Ireland ve ark., 2008). Düşük AFC seviyesine sahip ineklerde, östrus siklusunun ilk günlerinde endometriyal kalınlık azalmakta ve AFC seviyesi yüksek olan ineklerde ise diöstrus döneminde progesteron seviyelerinin daha yüksektir (Jimenez-Krassel ve ark., 2009). Ayrıca düşük AFC seviyeli

düvelerin yüksek AFC düvelerle kıyaslandığında ovaryumların daha küçük olduğu ve gebelik oranlarının daha düşüktür (Cushman ve ark., 2009). Tüm bu bulgular AFC ile reproduktif performans arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Mossa ve ark., 2012).

İneklerde AFC, ovaryum fonksiyonu ile pozitif ilişkili olup, fenotipik bir biyobelirteçtir. Bu biyobelirteçler, ovaryumdaki sağlıklı foliküller ve oositler hakkında bilgi vermektedir. Aynı yaş ve vücut ağırlığına sahip olan ineklerde AFC oranına bakılmış. Antral folikül sayısı düşük olan hayvanlarda, yüksek olanlara göre %60 daha küçük ovaryumların olduğu tespit edilmiştir. Düşük AFC'ye sahip olan ineklerde toplam sağlıklı oosit ve folikül sayılarının yaklaşık olarak %80 daha az olduğu belirtilmektedir (Ireland ve ark., 2008).

5. ANTI-MÜLLERIAN HORMON VE ANTRAL FOLİKÜL SAYISI

Anti-müllerian hormon foliküler büyümenin indirekt belirteci olup foliküler popülasyon büyüklüğüne göre dışı seçiminde kullanılmaktadır. AMH, AFC ve oosit sayısı ile yüksek oranda ilişkili olduğundan, ineklerde AFC'nin potansiyel endokrin belirteçidir (Baldrighi ve ark., 2014; Batista ve ark., 2014).

Erken pubertaya ulaşan düvelerde AMH seviyeleri, geç pubertaya ulaşanlara göre daha yüksektir (Kavya ve ark., 2017). Koyunlarda ise puberta öncesi plazma AMH seviyesi, ilk çiftleşmeden sonra fertilitate hakkında bir belirteç olarak kullanılabilir (Lahoz ve ark., 2012).

Antral folikül sayısı ile yaş arasında da ilişki bulunmaktadır. AFC, ovaryum foliküllerinin rezervini yansıttığı için, yaşlı hayvanlar daha küçük foliküler rezerve ve daha düşük AFC'ye sahip olması beklenmektedir. Bu ilişkiyi Burns ve ark. (2005) holştayn ineklerde, Cushman ve ark. (2009) melez sığır ineklerde gözlemlemiştir. Tabapuã (Brezilya Bos indicus sığır ırkı) dişilerde, foliküler rezervin azalması ileri yaşlarda gerçekleşmektedir. Nulliparous düvelerinde ise, 14 yaşına kadar düzenli olarak artan, sonrasında azalmaya eğilimli olan daha az AFC sayımı olduğu gözlenmiştir. Jersey ve Holştayn ineklerinde 10 yıla kadar AFC'de artış gözlemlenmiştir (Martinez ve ark., 2016).

Ayrıca gebelik ve diöstrus sırasında progesteron konsantrasyonu ile yüksek AMH arasında da pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Yüksek AFC'ye sahip olan ineklerin düşük AFC'ye sahip olan genç yetişkin ineklerle kıyaslandığında düşük AFC'ye sahip olanlarda östrus döngüsü sırasında dolaşımdaki progesteron oranının düşük olduğu (Jimenez-Krassel ve ark., 2009) ve embriyonik ölümlerin daha fazla olduğu bildirilmektedir (Diskin ve Morris, 2008). Ayrıca AFC miktarı yüksek olan ineklerde buzağılama sonrası

sunu tohumlama ile gebe kalma aralıklarının, AFC miktarı düşük olan ineklere göre daha az olduğu bildirilmektedir (Mossa ve ark., 2012).

Genç yetişkin ineklerin ovaryumlarındaki morfolojik olarak sağlıklı foliküllerin toplam sayısının histolojik belirlenmesiyle, AFC ve AMH arasında yüksek derecede pozitif korelasyon belirlenmiştir. Foliküler dalgalanma esnasında AFC'si yüksek olan inekler düşük olan ineklerle kıyaslandığında plazma AMH seviyesi yaklaşık 2 ile 6 kat daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca östrus siklusu sırasında 2. veya 3. foliküler dalgalanma esnasında, ortalama AFC ile ovulatrör foliküler dalgalanma esnasında AMH ile pozitif ilişkilidir. Dolayısıyla AFC ve AMH ineklerde ovaryumların morfolojik değerlendirilmesinde (sağlıklı folikül ve oositlerin toplam sayısı) güvenilir bir şekilde birbirlerinin yerlerine kullanılabilir (Ireland ve ark., 2008).

Kan ve plazmada bulunan AMH miktarı ELISA testi ile tespit edilebilmektedir. Bir yıl boyunca toplanan örneklerle yapılan çalışmada, Holştayn ineklerde AMH konsantrasyonlarının AFC ile oldukça ilişkili olduğu tespit edilmiştir. AMH konsantrasyonları 87 pg/ml'nin altında olan donörlerde östrus siklusunda 15'ten daha az folikül ve embriyo üretimi tespit edilmiştir. Bu nedenle, sığır plazmasında AMH konsantrasyonunun saptanması, en iyi embriyo üretim potansiyeline sahip hayvanların tanımlanması için ovum pick up, in vitro fertilizasyon ve süperovulasyon prosedürlerinde rutin olarak düşünülebilir (Rico ve ark., 2012).

Çiftlik hayvanlarında genetik gelişim için embriyo üretiminin önemi dikkate alındığında, in vivo ve in vitro yöntemlerde, verici tarafından üretilen embriyo sayıları oldukça farklılıklar göstermektedir (Pontes ve ark., 2009). Toplanan oosit oranı ve süperovulasyon yanıtındaki yüksek değişkenlik, sığır embriyo üretiminin başarısını etkileyen önemli faktörlerdir (Center ve ark., 2018; Taneja ve ark., 2000). İndus-taurus hayvanları için, yüksek AFC'li hayvanlarda toplanan ortalama embriyo sayısının, düşük AFC'li olan hayvanlarda toplanandan daha fazla olduğu bildirilmektedir. Bu durum embriyo üretiminin yüksek AFC'li ineklerde daha faydalı olduğunun açık bir göstergesidir (Morotti ve ark., 2015).

Bireysel farklılıklara rağmen, yüksek AFC donörünün nicel avantajlarının kullanılması gerektiği konusunda fikir birliği bulunmaktadır. Dolayısıyla, embriyo üretiminin ticari programları için, donör başına folikül sayısındaki değişiklik şu anda çok önemli bir özelliktir. Ultrasonografik muayene ön değerlendirme için verici seçiminde bir tarama yöntemi olarak yaygın kullanılmaktadır. Seçilen donörler ise genellikle, değişken olan yüksek AFC'ye veya yüksek sayıda oosite sahip olanlardır (Morotti ve ark., 2015).

6. İNEKLERİN İN VİTRO EMBRİYO ÜRETİMİNDE AMH'NİN ROLÜ

Süt ve et endüstrisinde karlılık, genetik seçim ve üreme verimliliği ile yüksek oranda ilişkilidir. İn vitro embriyo üretimi gibi üreme teknolojileri, etçi ve sütçü dişi hayvanlarda genetiği hızlı bir şekilde geliştirmek için dünya çapında uygulanmaktadır (Pontes ve ark., 2009). İn vitro embriyo teknolojilerinin başarısı, ovaryum AFC, ve oosit yetkinliği (örneğin oositin blastosist aşamasına erişme yeteneği) gibi fizyolojik özellikler ile ilişkilidir (Taneja ve ark., 2000).

Hayvanlarda AFC, dolaşımdaki insülin, insülin benzeri büyüme faktörü I ve AMH konsantrasyonları dahil olmak üzere birçok maddeyle ilişkili bulunmuştur (Alvarez ve ark., 2000; Batista ve ark., 2014). Dolaşımdaki AMH konsantrasyonlarının ölçümü, süperovulasyon yanıtları ve in vivo embriyo üretimini öngörmede yardımcı olabilmektedir (Rico ve ark., 2009).

Ovaryum foliküler dalgası ile ilgili olarak, 3 ile 7 mm çapları arasında olan sağlıklı foliküller, antral ve atretik foliküller ile karşılaştırıldığında folikül sıvısı içerisinde daha yüksek AMH mRNA ve AMH konsantrasyonları içermektedir (Rico ve ark., 2009).

Yapılan bir araştırma sonucuna göre, plazma AMH konsantrasyonunun *B. taurus* (Holştayn) ve *B. indicus* (Nelore) donörlerinin in vitro embriyo üretim performansını tahmin etmek için yararlı bir belirteç olabileceğini belirtilmektedir. Ovum pick up, in vitro fertilizasyon prosedürleri ve plazma AMH konsantrasyonu sırasında in vitro gelişim yeterliliği ile ilgili değişkenler hariç (bölünme ve blastosist oranları), analiz edilen tüm nicel parametrelerle (toplam aspire edilen foliküller, toplanan kumulus-oosit kompleksi, ovum pick up başına üretilen embriyo sayısı ve ovum pick up başına üretilen embriyo sayısı), pozitif korelasyon gözlenmiştir. Böylece AMH konsantrasyonunun in vitro embriyo üretim miktarı ile yakından ilişkili olduğu hipotezini doğrulanmaktadır (Guerreiro ve ark., 2014).

Hayvanlarda AFC sayılması in vitro embriyo üretiminin bir belirleyicisi olabilse de, dolaşımdaki AMH konsantrasyonunun ölçülmesi, dünya çapında sığır embriyo endüstrisinde uygulanabilecek basit, hızlı ve standartlaştırılmış bir ölçüm olabilir (Guerreiro ve ark., 2014).

Ayrıca AFC'leri saymak için yapılan ultrason muayenesinin, in vitro embriyo üretimini takiben embriyo verimini veya *B. taurus* ve *B. indicus* türlerinde in vivo embriyo üretimini değerlendirmek için bir belirleyici olduğu bildirilmektedir (Morotti ve ark., 2015).

Sığırlarda plazma AMH konsantrasyonları ve in vitro embriyo üretimi arasında pozitif bir ilişki bildirilmektedir. Hem *B. Taurus* (Holştayn) hem de *B.*

Indicus (Nelore) sığırlarında, AMH konsantrasyonu ovum pick up, in vitro embriyo üretimi programında donörün embriyo verimi ile pozitif korelasyon gösterilmektedir. AMH konsantrasyonunun sığırlarda in vitro embriyo üretiminin endokrin biyobelirteci ve olası prediktörü olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Guerreiro ve ark., 2014).

Sonuç olarak, AMH ve AFC, sığırlarda ovaryum rezervinin değerlendirilmesinde önemli biyolojik göstergelerdir. Bu parametreler, üreme performansını tahmin etme, embriyo üretimi için donör seçimi ve süperovulasyon yanıtının öngörülmesi gibi hayvan yetiştiriciliğinde kritik rol oynamaktadır. Özellikle, AFC ve AMH seviyeleri, sığırların genetik potansiyeli, üreme kapasitesi ve embriyo kalitesi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu nedenle, bu biyolojik göstergeler, modern hayvancılıkta etkin genetik seleksiyon ve üreme programlarının tasarlanması için vazgeçilmez araçlar haline gelmiştir. Bu çalışmalar, çiftliklerde üreme verimliliğini artırmak ve genetik iyileştirmeleri yönlendirmek için çiftçilere değerli bir rehberlik sunmaktadır.

7. KAYNAKÇA

- Alvarez, P., Spicer L.J., Chase, Jr, C.C., Payton, M.E., Hamilton, T.D., Stewart, R.E., Hammond, A.C., Olson, T.A., Wettemann, R.P. (2000). Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *J Anim Sci*, 78, 1291-1302.
- Stojšin-Cartera, A. Costa, N.N., De Morais, R., Tiago, H., Costa, M.P., Carter, T.F., Gillis, D.J., Neal, M.S., Ohashi, O.M., Miranda M.S., Meirelles F.V., Favetta, L.A., King, W.A. (2017). Fetal sex alters maternal anti-Mullerian hormone during pregnancy in cattle. *Anim Reprod Sci*, 186, 85-92.
- Baldrighi, J., Sá Filho, M.F., Batista, E.O., Lopes, R.N., Visintin, J.A., Baruselli, P.S. & Assumpção, M.E. (2014). Anti-Mullerian hormone concentration and antral ovarian follicle population in Murrah heifers compared to Holstein and Gyr kept under the same management. *Reprod Domest Anim*, 49, 1015-1020.
- Batista, E.O., Guerreiro, B.M., Freitas, B.G., Silva, J.C., Vieira, L.M., Ferreira, R.M., Rezende, R.G., Basso, A.C., Lopes, R.N., Rennó, F.P. et al. (2016). Plasma anti- Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domest Anim Endocrinol*, 54, 1-9.
- Batista, E.O., Macedo, G.G., Sala, R.V., Ortolan, M.D., Sá Filho, M.F., Del Valle, T.A., Jesus, E.F., Lopes, R.N., Rennó, F.P., Baruselli, P.S. (2014). Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reprod Domest Anim*, 49, 448-452.
- Burns, D.S., Jimenez-Krassel, F., Ireland, J.L., Knight, P.G., Ireland, J.J. (2005). Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol Reprod*, 73, 54-62.
- Cate, R.L., Mattaliano, R.J., Hession, C., Tizard, R., Farber, N.M., Cheung, A., Ninfa, E.G., Frey, A.Z., Gash, D.J., Chow, E.P. et al. (1986). Isolation of the bovine and human genes for Mullerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell*, 45, 685-698.
- Center, K., Dixon, D., Looney, C., Rorie, R. (2018). Anti-Mullerian Hormone and Follicle Counts as Predictors of Superovulatory Response and

- Embryo Production in Beef Cattle. *Advan Reprod Sci*, 6, 22-33.
- Cushman, R.A., Allan, M.F., Kuehn, L.A., Snelling, W.M., Cupp, A.S., Freetly, H.C. (2009). Evaluation of antral follicle count and ovarian morphology in crossbred beef cows: investigation of influence of stage of the estrous cycle, age, and birth weight. *J Anim Sci*, 87, 1971-1980.
- Diskin, M.G., Morris, D.G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reprod Domest Anim*, 43, (Suppl. 2), 260-267.
- Empey, R., Santillan, D., Santiillan, M., Tyler, E., Hunter, S., Smith, E., Stegman, B. (2012). The influence of fetal sex on patterns of change in anti-Mullerian hormone during pregnancy. *Proc Obstet Gynecol*, 2, 1-2.
- Erickson, B.H., Reynolds, R.A., Murphree, R.L. (1976). Ovarian characteristics and reproductive performance of the aged cow. *Biol Reprod*, 15, 555-560
- Erickson, B.H. (1966). Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J Anim Sci*, 25, 800-805.
- Evans, A.C.O., Mossa, F., Walsh, S.W., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Ireland, J.L.H., Smith, G.W., Ireland, J.J. (2012). Effects of Maternal Environment During Gestation on Ovarian Folliculogenesis and Consequences for Fertility in Bovine Offspring. *Reprod Dom Anim*, 47, 31-37.
- Ferreira, R.M., Ayres, H., Chiaratti, M.R., Ferraz, M.L., Araújo, A.B., Rodrigues, C.A., Watanabe, Y.F., Vireque, A.A., Joaquim, D.C., Smith, L.C., Meirelles, F.V., Baruselli, P.S. (2011). The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *J Dairy Sci*, 94, 2383-2392.
- Guerreiro, B.M., Batista, E.O.S., Vieira, L.M., Sá Filho, M.F., Rodrigues, C.A., Castro, N.A., Silveira, C.R.A., Bayeux, B.M., Dias E.A.R., Monteiro, F.M., Accorsi, M., Lopes, R.N.V.R., Baruselli, P.S. (2014). Plasma Anti-Müllerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domest Anim Endocrinol*, 49, 96-104.
- Hagen, C.P., Aksglaede, L., Sørensen, K., Mouritsen, A., Juul, A. (2011). Clinical use of anti-Müllerian hormone (AMH) determinations in patients with disorders of sex development: importance of sex- and age-specific reference ranges. *Pediatr Endocrinol Rev*, 9, 525-528.
- Hirayama, H., Kageyama, S., Naito, A., Fukuda, S., Fujii, T., Minamihashi, A. (2012). Prediction of superovulatory response in Japanese Black cattle using ultrasound, plasma anti-Müllerian hormone concentrations and polymorphism in the ionotropic glutamate receptor AMPA1/GRIA1. *J*

- Reprod Dev*, 58, 380-383.
- Ho, S.M., Cheong, A., Adgent, M.A., Veevers, J., Suen, A.A., Tam, N.N., Leung, Y.K., Jefferson, W.N., Williams, C.J. (2017). Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders. *Reprod Toxicol*, 68, 85-104.
- Ireland, J.J., Smith, G.W., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Folger, J.K., Ireland, J.L.H., Mossa, F., Lonergan, P., Evans, A.C.O. (2011). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Mullerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reprod Fertil Dev*, 23, 1-14.
- Ireland, J.J., Zielak-Steciwo, A.E., Jimenez-Krassel, F., Folger, J., Bettgowda, A., Scheetz, D., Walsh, S., Mossa, F., Knight, P.G., Smith, G.W., Lonergan, P., Evans, A.C. (2009). Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biol Reprod*, 80, 954-964.
- Ireland, J.L., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A.P., Ward, F., Lonergan, P., Smith, G.W., Perez, G.I., Evans, A.C.O., Ireland, J.J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biol Reprod*, 79, 1219-1225.
- Jimenez-Krassel, F., Folger, J.K., Ireland, J.L., Smith, G.W., Hou, X., Davis, J.S., Lonergan, P., Evans, A.C., Ireland, J.J. (2009). Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biol Reprod*, 80, 1272-1281.
- Kavya, K.M., Sharma, R.K., Jerome, A., Phulia, S.K., Singh, I. (2017). Anti-Müllerian hormone and antral follicular count in early and delayed pubertal Murrah buffalo heifers. *Livestock Science*, 198, 89-92.
- Kelsey, T.W., Wright, P., Nelson, S.M., Anderson, R.A., Wallace, W.H. (2011). A validated model of serum anti-müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS ONE*, 6, e22024.
- Kevenaar, M.E., Meerasahib, M.F., Kramer, P., van de Lang-Born, B.M., de Jong, F.H., Groome, N.P., Themmen, A.P., Visser, J.A. (2006). Serum anti-mullerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*, 147, 3228-3234.
- Lahoz, B., Alabart, J.L., Monniaux, D., Mermillod, P., Folch, J. (2012). Anti-

- Müllerian hormone plasma concentration in prepubertal ewe lambs as a predictor of their fertility at a young age. *BMC Vet Res*, 8, 118-126.
- Langley-Evans, S.C., McMullen, S. (2010). Developmental origins of adult disease. *Med Princ Pract*, 19, 87-98.
- Martinez, M.F., Sanderson, N., Quirke, L.D., Lawrence, S.B., Juengel, J.L. (2016). Association between antral follicle count and reproductive measures in New Zealand lactating dairy cows maintained in a pasture-based production system. *Theriogenology*, 85, 466-475.
- McMillen, I.C., MacLaughlin, S.M., Muhlhausler, B.S., Gentili, S., Duffield, J.L., Morrison, J.L. (2008). Developmental origins of adult health and disease: the role of periconceptual and foetal nutrition. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 102, 82-89.
- Monniaux, D., Clément, F., Dalbiès-Tran, R., Estienne, A., Fabre, S., Mansanet, C., Monget, P. (2014). The ovarian reserve of primordial follicles and the dynamic reserve of antral growing follicles: what is the link? *Biol Reprod*, 90, 85.
- Monniaux, D., Drouilhet, L., Rico, C., Estienne, A., Jarrier, P., Touzé, J.L., Sapa, J., Phocas, F., Dupont, J., Dalbiès-Tran, R., Fabre, S. (2012). Regulation of anti- Müllerian hormone production in domestic animals. *Reprod Fertil Dev*, 25, 1-16.
- Morotti, F., Barreiros, T.R.R., Machado, F.Z., Gonzalez, S.M., Marinho, L.S.R., Seneda, M.M., (2015). Is the number of antral follicles an interesting selection criterion for fertility in cattle? *Anim Reprod*, 12, 479-486.
- Mossa, F., Carter, F., Walsh, S.W., Kenny, D.A., Smith, G.W., Ireland, J.L., Hildebrandt, T.B., Lonergan, P., Ireland, J.J., Evans, A.C. (2013). Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. *Biol Reprod*, 88, 1-9.
- Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Weber-Nielsen, M., Evans, A.C.O, Ireland, J.J. (2017). Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction*, 154, 1-11.
- Mossa, F., Walsh, S.W., Butler, S.T., Berry, D.P., Carter, F., Lonergan, P., et al. (2012). Low numbers of ovarian follicles >3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, 95, 2355-2361.
- Mossa, F., Walsh, S.W., Ireland, J.J., Evans, A.C.O. (2015). Early nutritional programming and progeny performance: is reproductive success already set at birth? *Animal Frontiers*, 5, 18-24.
- Nelson, S.M., Anderson, R.A., Broekmans, F.J., Raine-Fenning, N., Fleming,

- R., La Marca, A. (2012). Anti-Müllerian hormone: clairvoyance or crystal clear? *Hum Reprod*, 27, 631-636.
- Pfeiffer, K.E., Jury, L.J., Larson, J.E. (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol*, 46, 58-64.
- Pontes, J.H.F., Nonato-Junior, I., Sanches, B.V, Ereno-Junior, J.C, Uvo, S., Barreiros, T.R.R., Oliveira, J.A., Hasler, J.F., Seneda, M.M. (2009). Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (bos indicus) donor cows. *Theriogenology*, 71, 690-697.
- Ribeiro, E.S., Bisinotto, R.S., Lima, F.S., Greco, L.F., Morrison, A., Kumar, A., Thatcher, W.W., Santos, J.E.P. (2014). Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *J Dairy Sci*, 97, 6888-6900.
- Rico, C., Drouilhet, L., Salvetti, P., Dalbiès-Tran, R., Jarrier, P., Touzé, J.L., Pillet, E., Ponsart, C., Fabre, S., Monniaux, D. (2012). Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: from the laboratory to the farm. *Reprod Fertil Dev*, 24, 932-944.
- Rico, C., Fabre, S., Médigue, C., di Clemente, N., Clément, F., Bontoux, M., Touzé, J.L., Dupont, M., Briant, E., Rémy, B. et al. (2009). Anti-mullerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biol Reprod*, 80, 50-59.
- Scheetz, D, Folger, J.K., Smith, G.W., Ireland, J.J. (2012). Granulosa cells are refractory to FSH action in individuals with a low antral follicle count. *Reprod Fertil Dev*, 24, 327-336.
- Souza, A.H., Carvalho, P.D., Rozner, A.E., Vieira, L.M., Hackbart, K.S., Bender, R.W., Dresch, A.R., Verstegen, J.P., Shaver, R.D., Wiltbank M.C. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci*, 98, 169-178.
- Sullivan, T.M., Micke, G.C., Greer, R.M., Perry, V.E.A. (2010). Dietary manipulation of Bos indicus heifers during gestation affects the prepubertal reproductive development of their bull calves. *Anim Reprod Sci*, 118, 131-139.
- Taneja, M., Bols, P. E., de Velde, A. V., Ju, J. C., Schreiber, D., Tripp, M. W., ... & Yang, X. (2000). Developmental competence of juvenile calf

- oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal variation and repeated gonadotropin stimulation. *Biology of Reproduction*, 62(1), 206-213.
- Teixeira, J., Maheswaran, S., Donahoe, P.K. (2001). Mullerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocr Rev*, 22, 657-674.
- Torres-Júnior, J.R.S., Pires, M.F.A., Sá, W.F., Ferreira, A.M., Viana, J.H.M., Camargo, L.S.A., Ramos, A.A., Folhadella, I.M., Polisseni, J., Freitas, C., Clemente, C.A.A., Sá Filho, M.F., Paula-Lopes, F.F., Baruselli, P.S. (2008). Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, 69, 155-166.
- Tsoulis, M.W., Chang, P.E., Moore, C.J., Chan, K.A., Gohir, W., Petrik, J.J., Vickers, M.H., Connor, K.L., Sloboda, D.M. (2016). Maternal high-fat diet-induced loss of fetal oocytes is associated with compromised follicle growth in adult rat offspring. *Biol Reprod*, 94, 94.
- Vernunft, A., Schwerhoff, M., Viergutz, T., Diederich, M., Kuwer, A. (2015). Anti-Muellerian hormone levels in plasma of Holstein-Friesian heifers as a predictive parameter for ovum pick-up and embryo production outcomes. *J Reprod Dev*, 61, 74-79.
- Vigier, B., Picard, J.Y., Tran, D., Legeai, L., Josso, N. (1984). Production of anti- Mullerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology*, 114, 1315-1320.
- Walsh, S., Mossa, F., Butler, S.T., Berry, D.P., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Tempelman, R.J., Carter, F., Lonergan, P., Evans, A.C. (2014). Heritability and impact of environmental effects during pregnancy on antral follicle count in cattle. *J Dairy Sci*, 97, 4503-4511.

BÖLÜM 9

DERMATOFİTOZİSLERE GENEL BAKIŞ

Dr. Öğr. Üyesi Muazzez YEŞİLYURT¹

Doç. Dr. Aliye GÜLMEZ SAĞLAM²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402038>

¹Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Siirt, Türkiye.
muazzez.yesilyurt@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-4195-6335

²Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Kars, Türkiye.
aliye.saglam@kafkas.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7639-5075

1. GİRİŞ

Deri, kıl ve tırnak gibi keratinize dokularda *Epidermaphyton*, *Microsporum* ve *Trichophyton* türleri tarafından oluşturulan dermatofitozis (Ringworm), insanlara da bulaşabilen zoonotik bir hastalıktır (Arda, 2015; Dalis ve ark., Pin, 2017; 2018; Parmar ve ark., 2018; Azrad ve ark., 2019). Dermatofitozis, çeşitli hayvan türlerinde et ve deri kalitesini bozması, hastalığın tedavisinin güç olması ve uygulanan tedavi maliyetinin yüksek olmasından dolayı ekonomik öneme sahiptir (Gökçe ve ark., 1999). Hayvan hastalıklarının büyük çoğunluğundan *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton equinum*, *M. canis*, *Microsporum nanum* ve *Microsporum gypseum* türleri sorumludur (Paryuni ve ark., 2020).

Canlı dokuya invaze olamayan dermatofitler, keratinli tabaklarla sınırlı kalarak proteolitik enzimler vasıtasıyla, stratum korneum, tırnak ve kıl gövdesi gibi dokuları eriterek lipid tabakasına penetre olurlar ve hastalık tablosu oluştururlar. Dermatofitozis, stratum korneum'un sürekli nemli kalması ve hafif travmalar sonucunda yapısının bozulmasıyla meydana gelir (Rippon, 1988; Gudding ve Lund, 1995; Bıyık, 2008; Balıbay 2019). Çiftliklerde hayvan yoğunluğunun fazla olması, evde evcil hayvan bulundurma gibi nedenlerden dolayı hayvanlarla temasın artması sonucunda dermatofitozisin görülme oranı artmıştır (Begum ve Kumar, 2021).

2. DERMATOFİTOZİSLERE GENEL BAKIŞ

2.1. Etiyoloji

Dermatofitozis, genellikle keratinize dokulara yerleşen zoonoz özellikte bir enfeksiyondur. Ayrıca hayvanlarda stres, kilo kaybı, verim düşüklüğü ve gelişme geriliğine yol açarak ekonomiyi de etkilemektedir (Sudhakara Reddy ve ark. 2014).

Keratinize dokuların farklılıklarından dolayı dermatofitozis etkenlerinin konakçı duyarlılığının değiştiği bildirilmiştir (Lakshmipathy ve Kannabiran 2010). Dermatofitozis etkenleri konakçı duyarlılıklarına göre antropofilik, zoofilik, jeofilik olarak sınıflandırılırlar (Tablo, 1). Antropofilik dermatofitler (*T. rubrum*, *T. kanei*, *T. schoenleini*, *T. concentricum*, *T. tonsurans*, *M. gypseum*, *M. ferrugineum* ve *E. floccosum*) insanlar arasında bulaşma söz konusudur ve nadiren çiftlik hayvanlarında enfeksiyona yol açar (Weitzman ve Summerbell, 1995; Abou-Eisha ve ark. 2008). Zoofilik dermatofitler, ana konakçıları hayvanlardır (Weitzman ve Summerbell, 1995). Jeofilik dermatofit etkenleri (*T. ajelloi*, *T. terrestre*, *M. fulvum*, *M. gypseum*, *M. cookie* ve *E. stockdaleae*) genellikle toprakta bulunur (Lakshmipathy ve Kannabiran 2010).

Tablo 1. Dermatofit türlerinin etiyolojik sınıflandırılması (Weitzman ve Summerbell, 1995).

Etken	Konakçı	Kökeni
<i>Microsporum</i> Genusu		
<i>M. canis</i>	Köpek, Kedi, Koyun, Buzağı, Maymun, İnsan	Zoofilik
<i>M. nanum</i>	Domuz	Zoofilik
<i>M. distortum</i>	Kedi, Köpek, Maymun	Zoofilik
<i>M. gypseum</i>	Köpek, Maymun, İnsan	Geofilik
<i>M. audouinii</i>	İnsan, Maymun, Köpek	Antropofilik
<i>Trichophyton</i> Genusu		
<i>T. mentagrophytes</i>	Kedi, Köpek, Atı Keçi, Koyun, Sığır, tilki, Fare, Maymun, İnsan	Zoofilik
<i>T. equinum</i>	At, Sığır, İnsan	Zoofilik
<i>T. verrucosum</i>	Sığır, Koyun, At, Köpek, İnsan	Zoofilik
<i>T. gallinae</i>	Hindi, Tavuk, İnsan	Zoofilik
<i>T. schoenleinii</i>	Fare, Tavşan, Rat, Kedi, İnsan	Antropofilik
<i>T. rubrum</i>	İnsan, Sincap, Fare, Maymun, Köpek, Tilki	Antropofilik
<i>T. violaceum</i>	İnsan	Antropofilik
<i>T. concentricum</i>	İnsan	Antropofilik
<i>T. megninii</i>	İnsan	Antropofilik
<i>T. tonsurans</i>	İnsan	Antropofilik
<i>Epidermophyton</i> Genusu		
<i>E. floccosum</i>	İnsan	Antropofilik

M: Micosporium, T: Trichophyton, E: Epidemophyton

2.2. Dermatofitik Mantarların Yapısı

2.2.1. Dermatofitik Mantarların Mikroskobik Yapıları

Çok hücreli olan mantarlar genellikle birleşerek ince, uzun ve saydam filamentlerden oluşan hifaları oluşturmaktadırlar. Hifalar septumlu, septumsuz ve septumlu branşlı olmak üzere 3'e ayrılırlar. Hifalardan bir kısmı beslenmeyi sağlamaktadır ve bu tarz hifalara da vejetatif hifa adı verilmektedir. Bu hifaların birbirine sarılması ve dallanması sonucunda vejetatif gövdeyi oluşturan miselyumlar meydana gelmektedir. Geriye kalan kısım ise aerial hifa adını alır. Aerial hifaların da bir kısmı üremede görev alarak reproduktif hifa veya fertil hifa adını almaktadır (Arda, 2015). Dermatofitler genel olarak reproduktif ve aerial hifaların şekillendirdiği miselyal morfolojiye sahiptirler.

Ökaryotik yapıya sahip olan mantarların yapısında hücre duvarı, nükleus, nukleolus, golgi aparatı, ribozom, mitokondri, endoplazmik retikulum, vakuol, sitoplazmik retikulum, woronin cisimciği, lomasom ve glikojen granülü bulunmaktadır (Arda, 2015; İzgür, 2016).

2.2.2. Dermatofitik Mantarların Makroskobik Yapıları

2.2.3.1. Miselyal Koloniler

Epidermophyton, *Microsporum*, *Trichopyton* cinslerine ait türler, saprofitik özellik gösteren bazı mantar türleri ile *Blastomyces dermatitidis* (*B. dermatitidis*), *Coccidioides immitis* (*C. immitis*) ve *Histoplasma capsulatum* (*H. capsulatum*) gibi sistemik enfeksiyona neden olan mantarların oluşturmuş olduğu koloni tipleridir. Bu koloniler genellikle reproduktif ve aerial hifalardan meydana gelmekte ve kolonileri oval, yuvarlak bazen de düzensiz bir şekilde görülmektedir. Bazı miselyal koloniler yayvan, kabarık ve pamuk gibi tüylü bir görünüme sahip olabilirken, bazı kolonilerin üzerinde ise birden fazla sayıda kıvrım ve katlanmalar görülebilmektedir (Nelson ve ark., 2003; Özgür, 2007; Arda, 2015).

2.2.3.2. Renkli Koloniler

Miselyal koloni morfolojisine sahip bazı mantarların üreme ısısı, besiyeri bileşimi ve eskimeye bağlı dış etkenlerden etkilenerek oluşturduğu koloni morfolojisidir (Arda, 2015).

2.2.3.3. Pleomorfik Koloniler

Uzun süre pasaja uğramış ve aerial hifalar arasındaki reproduktif hifaların oluşmaması sonucu görülen koloni morfolojisidir. Bu tarz morfolojiye sahip kolonilerde, ortaları ya da kenarları beyaz ve kadife görünümde hifaların oluşumu gözlenmektedir. (Arda, 2015).

2.2.3.4. Membranöz Koloniler

T. schoenleini, *T. verrucosum* ve *T. violaceum* gibi mantarlarda reproduktif dönemin bazı dönemlerinde kolonilerin ince veya membranöz bir karakter göstermesi sonucunda meydana gelen koloni morfolojisidir. (Özgür, 2007; Arda, 2015).

2.2.3.5. Granüler Koloniler

Fazla miktarda sporulasyon meydana gelmesi ve aerial hifalarda azalma sonucunda oluşan koloni morfolojisidir. Başlangıçta filamentöz özellik gösteren koloniler daha sonra mantarlardaki meydana gelen sporların özelliğine göre ince ya da kaba bir granülasyon göstermektedir. Özellikle *E. floccosum*, *M. gypseum*, *M. van breuseghenii* ve *T. megninii* türleri böyle koloni morfolojisine sahip dermatofitlerdir. (Özgür, 2007; Arda, 2015).

3. Dermatofitlerde Üreme

Aseksüel (eşaysız) üreme gösteren dermatofitler sporu üreme aracı olarak kullanmaktadırlar. Tomurcuklanma veya bölünme sonucunda hifaların uç kısmında ve duvarlarında oluşan sporlar konidiyum adını alır ve mantarların üreme döngüleri bu konidiyumlarda gerçekleşir. Mantarlar, konidiyumlarda meydana gelen eşaysız üremede artrospor, klamidospore, blastospore ve konidiospore oluşturarak üreme faaliyetini gerçekleştirirler. (İzgür, 2016; Balıbay, 2019;).

3.1. Artrospor

Artrospor oluşumunda hifalarda çok fazla şekil değişikliği meydana gelmemektedir. Bu üreme şeklinde hifalar, septumlarla bölünerek ayrılır ve daha sonra serbest kalarak uygun koşullar altında çimlenerek tekrardan aynı tür mantarı oluşturmaya devam ederler. Çoğunlukla oval veya silindirik şekilde görülen artrosporların kenarlarında da hafif bir kalınlaşma görülmektedir. Kültür ortamında pek rastlanılmayan artrospor oluşumu özellikle deri ve kılların üzerinde görülmektedir. (Özgür, 2007; İzgür, 2016; Balıbay, 2019;).

3.2. Blastospore

Blastosporelar, hifalarda birden fazla tomurcuk oluşması sonucunda meydana gelmektedir. Olgunlaşan blastosporelar bazen hifalardan ya da ana hücreden ayrılmadan onlara yapışık halde de kalabilmektedirler. Filamentöz özellik gösteren Ascomycetes mantarları, mayalar ve maya benzeri koloni meydana getiren mantarlar bu tür sporlar aracılığıyla meydana gelmektedir. (Özgür, 2007; Arda,2015; İzgür, 2016).

3.3. Klamidospor

Klamidospor, hifalarda bulunan bazı hücrelerin büyüüp gelişmesi, kenarlarının kalınlaşması ve protoplazmalarının konsantre hale gelmesi sonucunda oluşmaktadır. Meydana gelen bu klamidosporlar hifaların, uç, orta ve yan kısımlarında bulunmaktadır. Klamidosporlar, kalın bir hücre duvarı yapısına sahip olduklarından çevresel koşullara karşı da daha çok dayanıklılık göstermektedirler. (Özgür, 2007; Arda, 2015; İzgür, 2016).

3.4. Konidiospor

Konidiospor, konidiofor adı verilen özel reproduktif hifaların yanlarında veya uçlarında meydana gelmektedirler. *Microsporum*, *Trichopyton* cinslerindeki dermatofitlerde meydana gelen konidiumlar iki türde oluşum göstermektedir. Konidiumların tek hücreli olanları ve mikrokonidium olarak isimlendirilen türü, hifaların çeşitli yerlerine lokalize olmuşlardır. Bu yapılar küçük, oval, yuvarlak ya da armut biçiminde bir morfolojiye sahiplerdir. Mikrokonidiumlar bazı mantar türlerinde fazla sayıda gözlemlenirken, bazı mantar türlerinde ise çok az sayıda bulunmaktadır. Konidiumların makrokonidium olarak isimlendirilen yapılarının ise; çok hücreli ve büyük spor formları mevcuttur. Bu sporlar, puro, mekik ya da limona benzer bir görünüme sahiptirler (Özgür, 2007; Arda, 2015; İzgür, 2016).

4. Dermatofitlerde Patogenez

Dermatofitler enfeksiyonun başlangıcında konağın kıl yada tırnaklarındaki keratin dokuya yapışır ve keratinaz enzimleri sayesinde keratin tabakayı eriterek yerleşim göstermektedirler (Özgür, 2007; Monod, 2008; İlhan ve ark., 2016). Keratin tabakada meydana gelen kolonizasyon sonrasında dermatofitler, keratinin besin kaynağı olarak kullanılmasını sağlayan ve stratum korneumda dermatofitik mantarların büyümesine katkı sağlayan keratolitik ve proteolitik enzimler üretme yeteneğine sahip olmaktadır (Kurniati, 2008; Frymus ve ark., 2013).

Dermatofitler; enfekte hayvanların deri döküntüleri ve kıllarındaki artrosporlar aracılığıyla çevreye saçılmaktadırlar. Etrafa saçılan bu artrosporlar ile temas sonucunda da bulaşma meydana gelmektedir. Dış çevreye karşı oldukça dayanıklı bir yapıya sahip olan artrosporlar, bulaştıkları yeni konakçılarının keratinositlerine yapışarak germinasyon meydana getirirler ve enfeksiyon oluştururlar. Dermatofitozis enfeksiyonları sonrasında genellikle hücresel bağışıklık şekillenmektedir. Ancak şekillenen bu hücresel bağışıklık daha sonra aşırı duyarlılık olaylarına sebebiyet verebilmektedir. Dermatofitozis enfeksiyonlarında az da olsa humoral bağışıklık da görülebilmektedir (Balıbay, 2019). Hastalığın meydana gelmesinde dermatofitlerin virulans faktörlerinin,

konakçının yaşı ve bağışıklık sisteminin de önemli rolü bulunmaktadır (Paryuni ve ark., 2020).

5. Dermatofitlerde Klinik Belirtiler

Dermatofitozis olgularında inkübasyon periyodu 2-4 hafta arasında değişmektedir. Her hayvan türü için farklı olmakla birlikte hayvanlarda gözlenen en yaygın klinik belirtiler kılların dökülmesi, kaşıntı, eritem ve ciltte kabuklaşmanın meydana gelmesidir (Indarjulianto ve ark., 2014; Paryuni ve ark., 2020). Sığır, koyun ve keçilerde meydana gelen lezyonlar genellikle baş bölgesinde lokalize olmuşlardır. Lezyonlar özellikle göz çevresinde, alın bölgesinde, yanak, kulak ve burnun üstünde görülmektedirler. Nadiren de olsa lezyonlar, boyunda, sırt ve sağrı bölgesine de yerleşme eğilimi göstermektedirler. Enfekte olan bölgede kılların kırıldığı veya döküldüğü görülür. 2-3 ay içerisinde yuvarlak, kabarık, kenarları belirgin, gri-beyaz renkte, kabuklanmış plaklar meydana gelmektedir. (Al-Ani ve ark. 2002). Dermatofitozise neden olan *Trichophyton* cinsinin neden olduğu enfeksiyonlar, *Microsporum* enfeksiyonlarından daha ciddi klinik tablo meydana getirebilmektedirler (Kwon-Chung ve Bennet, 1992; Özgür, 2007; Drouot ve ark., 2009).

6. Dermatofitlerde Tedavi

Veteriner hekimlikte başlıca 4 antifungal ilaç sınıfından oldukça yararlanılmaktadır. Bunlar; polienler, azoller (triazoller ve imidazoller), ekinokandinler ve pirimidin analoglarıdır (Carmona ve Limper, 2017; Balıbay, 2019).

Bu ilaç grupları mantar hücrelerinin farklı bölgelerini hedef alarak etkinliklerini göstermektedirler. Amfoterisin B, mantar hücre zarının büyük çoğunluğunu oluşturan ergosterol ile etkileşime girerek etkinliğini gösteren en önemli Poliyen grubu antifungal ilaçtır. Özellikle *Aspergillus fumigatus*, *A. Flavus* ve *Candida* cinslerine karşı oldukça antifungisidal etki gösterirler (Meletiadis ve ark., 2007; Kumar ve ark., 2018). Birinci ve ikinci nesil triazoller ise ergosterol biyosentezinin bozarak özellikle mayalarda fungistatik, *Aspergillus* türlerinde ise fungisidal etkili antifungallerdir (Geißel ve ark., 2018). Ekinokandinler, mantar hücre duvarında bulunan β -d-glukanların sentezini bloke ederek mantarlarda fungisidal ve fungistatik etki gösterirken, pirimidin analogları protein ve deoksiribonükleik asit (DNA) biyosentezini etkileyerek etkisini göstermektedirler (Patil ve Majumdar, 2017; Carmona ve Limper, 2017).

Sığırlarda uygulama alanı bulan tedavi yöntemleri ise lokal ve sistemik olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Lokal tedavide; batikon, %5 oranında hazırlanan salisilik asit, iyotlu gliserin, thiabendazol, veya clotrimazole içeren

krem veya solüsyonlar kabuğun kaldırıldığı deriye sürülmek suretiyle uygulanır. Lokal uygulamaların çok zor olduğu ilerlemiş olgularda ise sistemik tedavi uygulanmaktadır. Bu amaçla; Grisefulvin kilograma 10-40 mg olacak şekilde 15 gün boyunca ağız yoluyla verilebilir. Ayrıca thiabendazol de kilograma 20 mg olacak şekilde 10 gün boyunca ağız yoluyla verilebilmektedir (Özgür, 2007).

7. Dermatofitozislerin Laboratuvar Teşhisi

7.1. Materyal alınması

7.1.2.Dermatofitoziste Deri Kazıntısının Alınması

Derideki bozukluklar incelendikten sonra diğer kontaminant ve yabancı maddeleri uzaklaştırmak için lezyonlar, %70 alkol emdirilmiş pamukla iyice silinir ve (Ateş, 2007) alkolün kuruması sonucunda lezyonların kenarlarında bulunan aktif bölgelerden deri kazıntısı alınarak steril şişe veya kaplara yeterli miktarda toplanır ve rutubetten korumak için ağzı iyice kapatılır (Arda, 2015).

7.1.3.Dermatofitoziste Kılların Alınması

Steril bir pens yardımıyla lezyonlu bölgelerin etrafındaki kıllar, kıl kökleri ve kıl folikülleri ile birlikte çıkarılarak alınmaktadır (Arda, 2015).

8.1Mikroskopi

8.1.1.Direkt Mikroskopi

Alınan deri kazıntılarından bir miktar lam üzerine konulur ve üzerine 1-2 damla KOH damlatılır. Hazırlanan karışımın üzerine lamel kapatılır ve 30-60 dk. sonra preparat mikroskopta incelenir. Preparat, ışık mikroskobunda önce 10'luk büyütmede daha sonra ise 40'lık büyütmede hazırlanan preparat incelenir. Preparatlarda incelenen mantar hifaları uzun, dallanan, bölmeli ve kıvrımlı iplikçikler halinde görülmektedir (Arda, 2015; Balıbay, 2019).

8.1.2.Ultraviolet Wood Işığı Altında Muayene

Enfekte kılların saptanmasında kullanılan bu yöntemde temel amaç; çıplak gözle görülemeyen bazı maddelerin floresans verme özelliği kullanılarak görüntü elde etmektir. Elastin, kollajen, aromatik aminoasitler, melanin öncüleri ve ürünleri gibi deride doğal olarak bulunan maddeler floresans ışığı altında görülebilmektedir. Steril bir petriye alınan dermatofit şüpheli örnekler Wood ışığının altına konularak floresans verme durumları açısından değerlendirmeye tabi tutulurlar. Bazı dermatofit türleri tarafından enfekte olan kıl örnekleri bu Wood ışığı altında yeşil-sarı veya yeşil-mavi renkte bir görüntü vermektedirler. Ancak floresans göstermemesi enfeksiyonun olmadığı anlamına gelmemektedir. Bu nedenle wood lambası ile bakıldıktan sonra

mikroskopik muayene ve ekim işlemlerinin de yapılması gerekmektedir (Braun-Falco ve ark., Özgür, 2007; Chermette ve ark. 2008; Arda, 2015).

8.1.3.Dermatofitlerde Kültür

Kesin teşhis yöntemlerinden biri olan kültür işlemleri özellikle Sabraud Dextrsoe Agar (SDA) ya da Dermatophyte Test Medium (DTM) besi yerleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. SDA'ya saprofitik mantarların üremesini engellemek amacıyla sikloheksimit ve bakteri kontaminasyonunu engellemek için ise kloramfenikol gibi antibiyotik ilave edilmektedir. Ekimleri tamamlandıktan sonra kültürler 22-26°C'de 4 veya 8 hafta boyunca etüvde ve/veya oda sıcaklığında inkübe edilmektedirler. İnkübasyon süresince de kontrol edilmeleri gerekmektedir. Ancak *Trichopyton verrucosum* 37°C'de daha iyi üreme göstermektedir. Etkenin yapılan kültürü sonucu üreyen mantarların cins ve türleri, koloni özellikleri, mikroskopik yapı özellikleri gibi morfolojik ve metabolik incelemeleri sonucunda ortaya konulmaktadır (Balıbay, 2019).

8.1.4.Laktofenol Pamuk Mavisi ile Boyama

Bu boyama yöntemi sayesinde mikroskopik olarak incelenen preparatlarda kolonilerdeki hifa, makrokonidium, mikrokonidium, artrospor, klamidospore ve blastospore morfolojileri tespit edilerek dermatofitler tanımlanmaktadır (Balıbay, 2019).

8.1.5.Dermatofitlerin İdentifikasyonunda Kullanılan Moleküler Yöntemler

Dermatofitlerin tanısında genellikle kültür ve direkt mikroskopik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Ancak her iki yöntemde de yalancı negatif sonuçların olması ve tür tayinin gerçekleştirilememesi gibi dezavantajlar bulunmaktadır. Ayrıca inkübasyon sürelerinin uzun olması, alınan örneklerde az sayıda mantar bulunması ve saprofitik mantarlar tarafında oluşturulan kontaminasyonu gibi olumsuzluklar nedeniyle (Nelson ve ark., 2003; Arda, 2015) moleküler yöntemler daha çok kullanım alanı bulmuştur. Kullanılan moleküler yöntemler sayesinde kısa zamanda tür tayini ve direnç durumlarının belirlenebilmesi nedeniyle de önemli avantajlar elde edilmektedir (Balıbay, 2019). Dermatofitlerin identifikasyonu amacıyla RFLP, RAPD, AFLP, multiplex PCR, nested PCR ve LightCycler PCR gibi yöntemlerden yararlanılmaktadır (Gözel ve ark., 2016).

9.KAYNAKÇA

- Abou-Eisha, A.M., Sobih, M.A., Hanaa, M.F., Heba, E. (2008). Dermatophytes in animals and their zoonotic importance in Suez Canal area. *SCVMJ*, XIII (2), 625-642.
- Al-Ani, F.K., Younes, F.A., Al-Rawashdeh, O.F. (2002). Ringworm infection in cattle and horses in Jordan. *Acta Vet Brno*, 71, 55-60.
- Arda, M. (2015). Temel Mikrobiyoloji. Genişletilmiş Beşinci Baskı. Genel Mikoloji. Bölüm IV. Medisan yayın serisi, 82.
- Azrad M, Freidus V, Kassem R, Peretz A. (2019). Identification of dermatophytes by MALDI-TOF MS technology in the clinical laboratory. *Int J Mass Spectrom*, 440(2019), 32-36.
- Balıbay, Ö. (2019). Sığırlarda izole edilen *Trichophyton verrucosum* suşlarının kültür yöntemi ile identifikasyonu ve MALDI TOF-MS ile doğrulanması. <http://hdl.handle.net/11513/2103>.
- Begum, J., Kumar, R. (2021). Prevalence of dermatophytosis in animals and antifungal susceptibility testing of isolated *Trichophyton* and *Microsporum* species. *Trop Anim Health Prod*, 53, 3.
- Bıyık, F. (2008). Dermatofitlerin identifikasyonunda moleküler yöntemlerin yeri ve uygulanabilirliğinin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi, İstanbul.
- Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolff, H.H., Burdorf, W.H.C. (2000). Fungal Disease. In: *Dermatology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 313-338.
- Carmona, E.M.; Limper, A.H. (2017). Overview of treatment approaches for fungal infections. *Clin Chest Med*, 38, 393-402.
- Chermette, R., Ferreira, L., Guillo, J. (2008). Dermatophytoses in animals. *Mycopathol*, 166, 385-405.
- Dalis, J.S., Kazeem, H.M., Kwaga, J.K.P., Kwanashie, C.N., Yakubu, B., Owolodun, O.A., Jambol, A.R. (2018). Molecular characterization of dermatophytes isolated from cattle in Plateau State, Nigeria. *Vet Microbiol*, 219, 212-218.
- Drouot S., Mignon B., Fratti M., Roosje P., Monod M. (2009). Pets as the main source of two zoonotic species of the *Trichophyton mentagrophytes* complex in Switzerland, *Arthroderma van-breuseghemii* and *Arthroderma benhamiae*. *Vet Dermatol*, 20, 13-18.
- Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Pennisi, M.G., Addie, D., Belak, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Hartmann, K., Hosie, M.J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Mostl, K., Radford, A.D., Thiry, E., Truyen, U.,

- Hornizek, M.C.D. (2013). Dermatophytosis in cats:ABDC guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg*, 15(7), 598-604
- Geißel, B., Loiko, V., Klugherz, I., Zhu, Z., Wagener, N., Kurzai, O., Hondel, C.A.M.J.J.V.D., Wagener, J. (2018). Azole-induced cell wall carbohydrate patches kill *Aspergillus fumigatus*. *Nat Commun*, 9, 3098.
- Gökçe, G., Şahin, M., Irmak, K., Otlu, S., Aydın, F., Genç, O. (1999). Sığır Trichophytosis'inde profilaktik ve terapötik amaçla aşı kullanımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 5(1), 81-86.
- Gözel, U., Yurt, Ç., Gözel, Ç. (2016). Nematod taksonomisinde kullanılan moleküler yöntemler markörler. 2015. *Türk Entomol Bült*, 6(2), 179-189.
- Gudding, R., Lund, A. (1995). Immunoprophylaxis of bovine dermatophytosis. *Can Vet J*, 36, 302-306.
- Ilhan, Z., Karaca, M., Ekin, I.H., Solmaz, H., Akkan, H.A., Tutuncu, M. (2016). Detection of seasonal asymptomatic dermatophytes in Van cats. *Braz J Microbiol*, 47(1), 225-230.
- Indarjulianto, S., Yanuartono Purnamaningsih, H., Wikansari, P., Sakan, G.Y.I. (2014). Isolation and identification of *Microsporum canis* from dermatophytosis dogs in Yogyakarta. *J Vet*, 15(2), 212-216.
- İzgür, M. (2016). Mikoloji. dspace.ankara.edu.tr.
- Kumar, A., Zarychanski, R., Pisipati, A., Kumar, A., Kethireddy, S., Bow, E.J. (2018). Fungicidal versus fungistatic therapy of invasive *Candida* infection in non-neutropenic adults: A meta-analysis. *Mycology*, 9, 116-128.
- Kwon-Chung, K.J., Bennett, J.E. (1992). Medical mycology. Philadelphia, Lea & Febiger. 866p. Ill. ISBN: 0-8121-1463-9.
- Lakshmipathy, D.T., Kannabiran, K. (2010). Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. *Natural Science*, 2, 726-731.
- Meletiadiis, J., Antachopoulos, C., Stergiopoulou, T., Pournaras, S., Roilides, E., Walsh, T.J. (2007). Differential fungicidal activities of amphotericin b and voriconazole against *Aspergillus* species determined by microbroth methodology. *Antimicrob Agents Chemother*, 51, 3329-3337.
- Monod, M. (2008). Secreted proteases from dermatophytes. *Mycopathologia*, 166(5-6), 285-294.
- Nelson, M., Martin, A.N., Heffernan, M.P. (2003). Superficial fungal infections: Dermatophytosis, Onychomycosis, Tinea Nigra, Piedra. In: Fitzpatrick's Dermatology In General Medicine. McGraw-Hill Companies. 1989-2004.

- Özgür, N.Y. (2007). Sempozyum: Hayvan dermatomikozları: Çevre, toplum ve aile ilişkileri. *İnfeksiyon Dergisi*, 21, 85-89
- Parmar, B.C., Nayak, J.B., Brahmabhatt, M.N., Chaudhary, J.H., Patel, S.A., Gida, H.K. (2018). Prevalence of dermatophytosis in animal and human population with special reference to its zoonotic significance. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 6(5), 687-691.
- Paryuni, A.D., Indarjulianto, S., Widyarini, S. (2020) Dermatophytosis in companion animals. A review. *Vet World*, 13(6), 1174-1181.
- Patil, A., Majumdar, S. (2017). Echinocandins in antifungal pharmacotherapy. *J Pharm Pharmacol*, 69, 1635-1660.
- Pin D. (2017). Non-dermatophyte dermatoses mimicking dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*, 182(1-2), 113-126.
- Rippon, J.W. (1988). Medical mycology: The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. 1-797.
- Sudhakara Reddy, B., Rani Prameela, D., Sivajothi, S., Venkatasivakumar, R., Solmon Raju, K.G. (2014). Dermatophilosis in cross-bred cattle in Y.S.R. DISTRICT of Andhra Pradesh. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3(4), 1371-1374.
- Weitzman, I., Summerbell, R.C. (1995). The dermatophytes. *Clinical Microbiol Review*, 8(2), 240-259.

BÖLÜM 10

REKOMBİNANT AŞI TEKNOLOJİLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Nurettin ÇANAKOĞLU¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402044>

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Milas Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Viroloji Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, nurettincanakoglu@mu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-0252-2377

1.GİRİŞ

Enfeksiyöz hastalıklardan yapay yolla korunmak için kontrollü koşullarda belirli patojenlere karşı immün yanıtın uyarılmasına aşılama veya immunizasyon, bu amaçla kullanılan biyolojik maddelere de aşı adı verilmektedir (Delany, 2014).

Aşılamada temel amaç, enfeksiyöz bir ajanı veya antijeni canlıya vermek suretiyle immün sistemi uyararak konağın patojen etkenle veya antijenle karşılaştığında ortaya çıkması muhtemel hastalık tablosunu düzeltmektir (Plotkin 2004).

İmmün sistemin, antijen özellikleri gösterebilen bir maddeyle ilk kez karşılaştığında oluşan yanıt tipi primer immün yanıttır. Bu yanıt tipinde bağışıklığın etkili bir düzeye çıkması için ortalama 1-2 haftalık bir sürenin geçmesi gerekmektedir. Acil bağışıklık gerektiren durumlarda primer immün yanıtın en büyük dezavantajının bunun olduğu bildirilmiştir. İmmün sistem aynı antijenle ikinci kez karşılaştığında oluşan yanıt ise sekonder immün yanıttır ve primer immün yanıtla göre daha hızlı ve etkili bir koruyuculuk sağlamaktadır. Aşılama ile primer immün yanıt uyarıldıktan sonra, organizmanın ikinci kez aşılama veya enfeksiyöz etkenle karşılaşmasıyla sekonder immün yanıt oluşmakta ve primer immün yanıtla karşılaştırıldığında, daha hızlı, uzun süreli ve tekrar uyarılabilir bir bağışıklık sağlamaktadır (Pearce 2005).

2. AŞILAMANIN TARİHÇESİ

Aşılama ile ilgili öncü kabul edilen çalışmalar 1770'li yıllara dayanmaktadır. Bu yıllarda İngiliz çiftçi Benjamin Jesty Sığır Çiçeği hastalığına (Cowpox) yakalanmış ineklerle temas ettiği için köyünde ortaya çıkan Çiçek hastalığından (Smallpox) etkilenmediğini düşünmüş ve bu uygulamayı karısı ve iki çocuğu üzerinde denemiştir. Sonuçta Jesty ailesi salgından etkilenmemiştir (Peard, 2006).

1770-1791 yılları arasında aralarında Peter Plett, Jobst Bose, Ann Notley ve Mary Reade'nin de bulunduğu altı kişinin daha aynı yöntemle çiçek hastalığından korunduğu bildirilmiştir.

1796 yılında Edward Jenner (1749-1823) salgın esnasında çevre köyleri dolaşırken sığır çiçeği hastalığına yakalanıp atlatmış olan kişilerin insan çiçeği hastalığına yakalanmadıklarını fark etmiştir. Bu konuyu araştırmak isteyen E. Jenner gezdiği köylerden birinde süt sağarken elindeki çiziklerden sığır çiçeği hastalığına yakalanmış olan bir kızla karşılaşır. Teorisini test etmek isteyen Jenner genç kızın parmaklarındaki kapanmamış yaralardan elde ettiği sığır çiçeği virüsünü küçük bir erkek çocuğuna verir. Aradan sekiz hafta geçtikten

sonra çocuğa bu kez insan çiçeği virüsü verdiğinde çocuğun hastalanmadığını görür ve iddiasını kanıtlamış olur (Bazin, 2000).

Daha sonra elde edilen bilgiler ışığında aşılamanın temellerini oluşturan uygulamaların Jenner'den yaklaşık 2000 yıl önce Çin ve Hindistan'da, 1000 yıl önce de Anadolu'da yapıldığı ortaya konmuştur (Kayser, 2021).

Louis Pasteur ilerleyen yıllarda Jenner'in çalışmalarını bir adım öteye taşımıştır. Pasteur, kolera ve antrax bakterileri üzerinde yaptığı çalışmalarda bakterilerin kültür ortamlarını değiştirmiş ve çalışmaları esnasında alışıktan olmadıkları ortamda üreyen bakterilerin patojenitelerinin azaltarak lethal bir enfeksiyon oluşturmadıklarını, zayıflatılmış bakteri ile hastalığı atlatan hayvanların hastalığa bir daha yakalanmadıklarını göstermiştir. Attenüasyon adı verilen bu durumda patojen mikroorganizma alışkın olmadığı koşullarda üremeye veya normalde enfekte etmediği canlılara enfeksiyona zorlanarak mutasyona uğratılmakta ve patojenitesi zayıflatılmaktadır (Smith, 2012).

Pasteur daha sonraları kuduz hastalığına karşı aşı geliştirmek için Kuduz virüsü enfeksiyonundan ölmüş tavşanların omuriliklerinden elde ettiği inaktif virüsü köpeklerde denemiştir. Aşı daha sonra Temmuz 1885'te Joseph Meister adlı bir çocukta kullanılmıştır. Tedaviye yönelik olarak denenilen kuduz aşısı etkinliğini göstermiş ve sonuçta Meister kuduz semptomları göstermemiştir.

Bu tarihten sonra aşı konusundaki çalışmalar yeni aşı teknolojilerinin geliştirilmesiyle hızlı bir ivme kazanarak gelişmeye devam etmiştir. 1920'li yıllarda Difteri ve Tetanoz'a karşı toksoidler kullanılmış, 1938'de Influenza'ya karşı inaktif aşı üretilmiş, 1944'te Japon Encephalitis Hastalığına karşı subunit aşı geliştirilmiştir.

Bu süreçte pek çok bakteriyel ve viral hastalık aşılama yoluyla savaşılmış ve aşılama insanların hastalıklara karşı kullandığı en etkili silahlardan biri haline gelmiştir. Fakat özellikle canlı ve inaktif olarak kullanılan aşuların tekrar virülens kazanabilme özelliklerinin olması, muhafazalarının zor olması, immunsupresif ve immun yetmezliği olan kişilerde kullanımlarının riskli olması, bazı durumlarda yeterli yanıt oluşturamamaları gibi pek çok dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar göz önüne alındığında daha etkili ve daha güvenli yeni aşı teknolojilerinin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur.

Özellikle son 20 yılda genetik alanında kaydedilen ilerlemeler, aşı üretiminde çok önemli gelişmeler de beraberinde getirmiş ve rekombinant aşı teknolojilerinin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Bu doğrultuda rekombinant proteinler, rekombinant DNA aşuları, reverse genetik ürünü aşular, rekombinant vektörler ve sentetik peptidler aşılama için kullanılmaya başlamıştır.

İlk üretilen rekombinant aşı Hepatit B aşısıdır ve 1984'te geliştirilmiştir. Hepatitis B virüsü S geni tarafından sentezlenen yüzey antijeninin oldukça immunojenik 19 aminoasitlik bölgesinin sentetik olarak üretilmesiyle oluşturulan aşı uzun yıllar Hepatitis B hastalığına karşı kullanılmıştır (McAleer, 1984).

1990 yılında plazmid DNA'ların vektör olarak kullanımının yaygınlaşmasıyla plazmid tabanlı farklı rekombinant aşılar geliştirilmeye başlanmıştır. 12 1993 yılında İnfluenza A virüsüne karşı DNA aşısı geliştirilmiş ve farelerde olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu amaçla, DNA aşısı olarak İnfluenza A virüsü Nükleoprotein (NP) geni kullanılmış ve immunizasyon yapılan farelere daha sonra epruvasyon yapıldığında viral titrenin düşük olduğu saptanmıştır.

Günümüzde pek çok viral hastalık için farklı yöntemlerle geliştirilmiş rekombinant aşılar mevcuttur. Ayrıca henüz etkin bir aşı geliştirilememiş olan AIDS, KKKK, EBOLA gibi hastalıklar için rekombinant aşı stratejileri geliştirilmektedir.

Rekombinant aşılardan günümüzde bir başka kullanım alanı da kanser terapisi. Özellikle vektör tabanlı rekombinant aşılardan hücresel immün yanıt etkili bir şekilde uyarmaları bu aşılardan kanser terapisinde kullanılmalarını sağlamaktadır. Taban olarak kullanılan plazmid DNA'nın kendi antijenik yapısı olduğu için hem doğal immün yanıt hem de hücresel immün yanıt etkili bir şekilde uyarılabilmektedir (Gurunathan, 2000).

Yeni hastalıkların ortaya çıkışı ve eski hastalıklara karşı daha efektif ve güvenli aşılardan geliştirme çalışmaları son yıllarda önemi gittikçe artan çalışmalardır. Ayrıca patojen mikroorganizmalarının genetiği ile ilgili bilgiler ve epitoplarının daha iyi anlaşılabilmesi sonucu kaydedilen gelişmeler, immün sistemin çalışma mekanizmalarını daha iyi ortaya koyabilmemize sebep olmuştur. Bu sayede subunit aşılardan bunların modifikasyonları sayılabilecek virüs benzeri partikellerin aşı çalışmalarında kullanılmaları yaygınlaşmıştır.

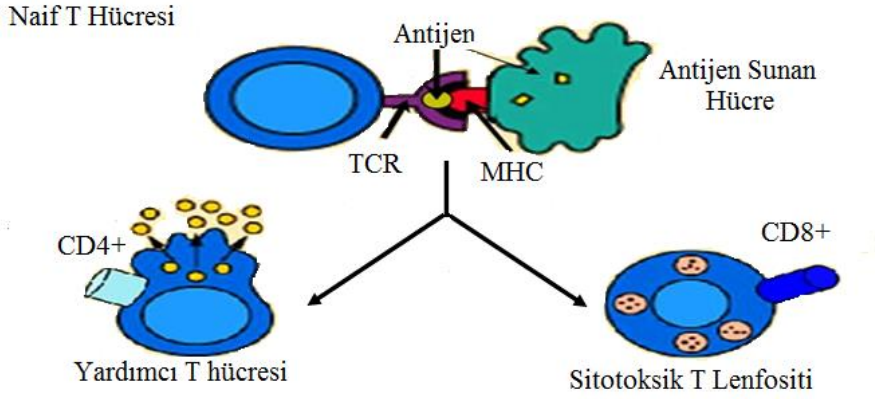
3. AŞILAMA VE BAĞIŞIKLIK

İmmün yanıtın başlayabilmesi için önce konağın yabancı materyali tanıması gerekmektedir. İmmün yanıt başlıca doğal ve kazanılmış immün yanıt olarak iki kısma ayrılır. İkisi arasındaki en büyük fark kazanılmış immün yanıt patojene karşı oldukça spesifik. Ayrıca doğal bağışıklıkta patojenle ikinci kez karşılaşma herhangi bir değişiklik oluşturmaz fakat kazanılmış immün yanıtta aynı antijenle ikinci kez karşılaşma daha başarılı bir yanıtın oluşmasını sağlar. Doğal immüntenin elemanları olarak ilk savunma bariyerleri epitelyum hücreleri, fagositler, doğal öldürücü hücreler, kompleman sistemin bileşenleri sayılabilir. Edinsel immün sistemin iki ana bileşeni T ve B hücreleridir. Edinsel immün yanıt bir kere uyarıldıktan sonra spesifik antijenlere karşı "hafıza"

geliştirebilme yeteneğine sahiptir ve bu özelliği sayesinde koruyuculuğu daha uzun süre devam edebilmektedir.16 Aşılama ile sağlanan aktif bağışıklığı, pasif bağışıklıktan ayıran en önemli özellik immün sistemi aktif bir şekilde uyarabilmesidir ki aşılamanın başarılı sayılabilmesi için gerek hücresel gerekse humoral yanıtın etkili bir şekilde uyarılabilmesi gerekmektedir (Amanna, 2008).

Kullanılan aşının immunojenik özellik gösterebilmesi için aşı olarak kullanılmaya aday antijenin antijen sunan hücrelere (APC) ulaşabilmesi gerekmektedir. Profesyonel antijen sunan hücreler taşıdıkları MHC II (Major Histocompatibility Complex) molekülleri sayesinde protein ve glikoprotein yapısındaki antijenlerin 10-30 aminoasitlik bölgelerini tanıyıp bunları hücre yüzeyinde CD4+ ve CD8+ T hücrelerine sunmakla görevlidirler. Başlıca dendritik hücreler ve makrofajlar profesyonel antijen sunan hücreler olarak bilinmektedir.19 İmmunojenik özellik göstermesini istediğimiz antijenin konak canlıda immün yanıtı sağlayan kaskadları aktive edebilmesi için dendritik hücreler tarafından tanınabilmesi ve işlenip T hücrelerine sunulabilmesi gerekmektedir. Bu aşama gerçekleştikten sonra stimüle olan T ve B hücreleri efektör görevlerini yerine getirmek amacıyla proliferere olmaktadır (Sprent, 1995).

Diğer yandan humoral bağışıklıkta rol oynayan temel bileşenler olan B hücreleri glikoprotein, lipid ve küçük kimyasallar dahil çok çeşitli antijenler tarafından T hücre yardımı olmaksızın direk olarak uyarılabilmektedir. Fakat protein antijenlerin büyük çoğunluğu T bağımlı antijenler olarak adlandırılmaktadır ve B hücrelerinin bu antijenlere karşı uyarılabilmesi için T hücre yardımı gerekmektedir. B hücrelerinin aktive olabilmesi için CD4+ yardımcı T hücrelerinin yüzeylerinde bulunan CD40L (CD154) ile B hücre yüzeyindeki CD40 moleküllerinin birleşmesi ve sinyal iletimi gerekmektedir. Sinyal iletimi sonrasında aktive olan B hücreleri lenfoid organlarda affinite olgunlaşması geçirmekte ve efektör Plazma hücrelerine dönüşmektedir. Plazma hücrelerine dönüşümünü tamamlamış B hücreleri hayatları boyunca tek tip antikor salgılamaktadır. Yukarıda belirtilen yollarla aktive edilen immün sistem enfeksiyonlara karşı etkili bir yanıt oluşturmakta ve patojen etkenlerle mücadele etmektedir.

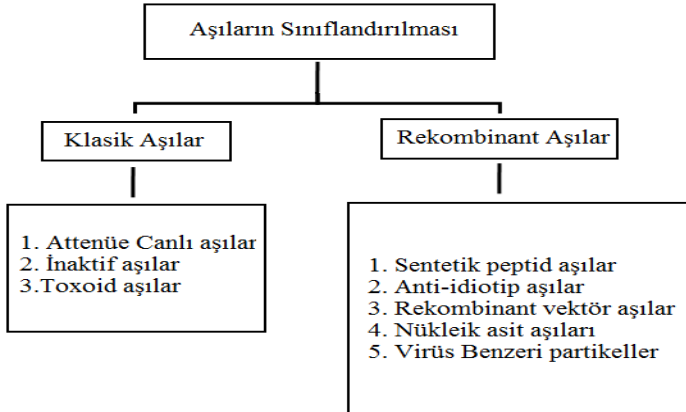


Şekil 1. Antijenlerin MHC molekülleri tarafından T hücrelerine sunulması.

4. AŞILARIN SINIFLANDIRILMASI

Aktif bağışıklığı uyarmak için kullanılan aşılar başlıca ikiye ayrılmaktadır

- 1-Klasik (Konvensiyonel) aşılar
- 2-Biyoteknolojik (Rekombinant) aşılar



Şekil 2. Aşıların sınıflandırılması.

Canlı aşılar, normal koşullarda vücutta üreyebilme ve hastalık oluşturabilme yeteneğine sahip canlı mikroorganizmaların zayıflatılmaları sonucu hazırlanmaktadır. Doğal attenüe aşı suşları, suni olarak attenüe edilen

suşlardan daha güvenli ve standarttır. Tekrar virülens kazanma olasılığı, doğal attenüe suşlarda, çok zayıftır. Bu aşılar vücuda verildiklerinde, çoğalır, yayılır ve immun sistemi (hem lenfoid hem myeloid hücreleri) uyarmaktadırlar. Bu uyarımın, derecesi, vücuda giren virüsün, antijenik yapısına, virülensine, miktarına, giriş yoluna, konakçının bağışıklık durumuna, yaşına, cinsine ve duyarlılığına göre değişebilmektedir (Minor, 2015).

Suni attenüe canlı aşılar, virüslerin doku kültürü, embriyolu yumurta ve deneme hayvanlarında seri pasajları sonu meydana gelirler. Bu tür attenüasyonlarda çok dikkatli olmak ve attenüasyon durumunun iyi bir kontrolden geçirilmesi gerekmektedir. Kullanılan aşı materyalinin geri mutasyonla tekrar virülens kazanma ve enfeksiyon oluşturma olasılığı bulunmaktadır. Attenüe aşılar, immun yetmezliği olan şahıslarda, kronik, gizli ve latent infekte bireylerde, immun supresör ilaç kullanan şahıslarda, otoimmun hastalarda kullanılırsa enfeksiyon oluşturabilmektedir. Canlı aşıların bazı avantaj ve dezavantajları vardır. Avantajları arasında daha iyi bir uyarım yapmaları, kolay ve ucuz olmaları ve uzun süre bağışıklık sağlamaları sayılabilir. Dezavantajları ise tekrar virülens kazanabilme riskleri, muhafazalarının zor olması ve aşılacak bireyin bağışıklık durumunun iyi bilinmesi gerekliliği olarak sayılabilir (Wareing, 2001).

İnaktif aşılar enfektif patojenlerin çeşitli yöntemlerle inaktive edilmesi sonucunda hazırlanmaktadırlar. En sık kullanılan inaktivasyon metodları ısı ve formalin inaktivasyonudur. İnaktivasyonda kullanılan yöntemler virüslerin antijenik yapılarına zarar vererek veya değiştirerek, vücutta oluşturduğu yanıtta farklılık meydana getirebilmekte ve virulent suşlara karşı koruma gücünde azalma olabilmektedir. İnaktivasyonun iyi yapılamadığı durumlarda aşılama sonucu enfeksiyon oluşma riski vardır. İnaktif aşıların vücutta oluşturduğu uyarım genellikle zayıftır. Uyarımın artırılması amacıyla, aşıya çeşitli adjuvantlar karıştırılır ve birlikte vücuda (deri altı veya kas içi) verilirler. Adjuvantlar, aşılar ile verildiklerinde, aşıların etkilerini artıran ve immun sistemi daha iyi uyarmalarını sağlayan kimyasal maddelerdir. Kullanılan başlıca adjuvantlar alüminyum tuzları, yağlı adjuvantlar, virozomlar ve bazı sitokinlerdir. Bu adjuvantların immun sistemi uyarıma yardımcı olmak için kullandığı mekanizmalar birbirinden farklıdır. Bazıları depo görevi görerek antijenin salınım süresini uzatırlar. Bazıları uygulandıkları bölgede yangı reaksiyonlarını ve sitokinlerin salınımını uyarırlar. İnaktif aşıların sağladığı bağışıklığın istenilen düzeye gelebilmesi için iki veya üç kez kullanılması gerekir. İnaktif aşıların da avantajları ve dezavantajları vardır. Avantajları arasında, canlı aşılara nazaran daha uzun süre saklanabilmeleri, enfeksiyon oluşturmamaları, canlı aşılarda görülen tekrar virülens kazanma riskinin olmaması sayılabilir. Dezavantajları ise oluşan bağışıklık kısa sürelidir, lokal reaksiyonlara yol açabilir, büyük dozlara gereksinim vardır ve etkinliklerini arttırmak için adjuvant adı verilen maddelere gerek vardır (Hilleman, 2000).

5. REKOMBİNANT AŞI TEKNOLOJİSİ

Biyoteknoloji ve modern biyoloji mühendisliği çalışmaları, son yüzyılın en hızlı ilerleyen bilim dallarından biridir. Özellikle 1938 yılında ilk kez DNA ve proteinlerin bazı laboratuvarlarda çalışılmasının ardından ilk kez “Moleküler Biyoloji” terimi literatüre girmiştir.

Bu yıllardan itibaren günümüze kadar gelen süreçte bilim adamları hem yeni ortaya çıkan hastalıklar için yeni aşilar geliştirmiş, hem de çok eski hastalıklarda daha önceki yıllarda kullanılan aşiların yerine daha teknolojik, daha etkili ve risk oranları daha düşük aşilar geliştirmeye çalışmıştır. Tarihte üretilen ilk rekombinant aşı 1984 yılında üretilen Hepatit B aşisidir. 1990 yılında Felgner plasmid DNA’sını memeli hücrelere enjekte edip, sekans spesifik proteinleri in vivo sentezlemeyi başardıktan sonra rekombinant aşı teknolojisinde yeni bir çığır açmışlardır. Rekombinant aşilar konvensiyonel aşilara göre oldukça avantajlı aşilarlardır. Enfeksiyon oluşturma riski yoktur ve genetik düzeyde çalışmalar sonucu ortaya çıkmış oldukları için etkin bir immun yanıt oluşturmak için ve immun yanıtı istenilen yöne doğru yönlendirmek için gerekli özelliklere sahiplerdir. Günümüzde rekombinant aşı teknolojisi ile hazırlanmış pek çok aşı çeşidi mevcuttur. Yeni hastalıkların ortaya çıkışı, hastalıkların önem sıralarının değişmesi, mevcut aşidan daha etkili ve güvenilir yeni aşilar geliştirme çabası gibi gereksinimler, farklı teknolojik temelleri olan ve mekanizmaları birbirinden farklı yeni rekombinant aşiların ortaya çıkmasını sağlamıştır (Barnard, 2010).

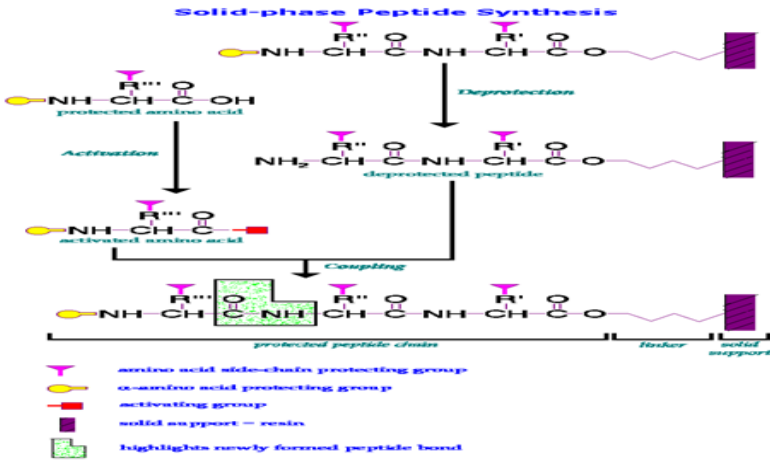
5.1. Sentetik Peptid Aşilar

Patojen etkenlerin yüzeylerinde immunojenik ve immunojenik olmayan karaktere sahip çok değişik sayıda ve yapıda makromolekül bulunmaktadır. Bu moleküllerden, protein karakterinde olanlar, vücutta iyi bir uyarım oluşturan, çok sınırlı sayıda ve 8-15 aminoasitten oluşan antijenik determinantlar (epitop) içermektedir. Bu bölgelerin belirlenip, aminoasit sekans analizi yapılarak, in vitro şartlarda çok miktarda sentezleri yapılır. Bu şekilde kısa sentetik antijenik peptidler aşı olarak kullanılabilir.

Örneğin; Şap hastalığı virüsünün O1 serotipinin VP1 kapsid proteini üzerinde yer alan ve 134-158. aminoasit rezidülerini içeren bölgenin, nötralizan antikorlar tarafından tanınan immunojenik bölge olduğu bildirilmiştir (Pfaff, 1988). 1984’te üretilen ilk sentetik aşilardan biri olan Hepatit B aşısı tasarlanırken virüsün S geninden bir major yüzey proteininin (HBsAg), Pre-S adı verilen bir bölge içerdiği görülmüştür. Pre-S bölgesinde N terminale yakın 14-32 aminoasitlik bir bölgenin virüsün diğer suşlarında da büyük oranda benzer olarak bulunduğu saptanmış ve bu bölgenin epitop olarak rol oynadığı düşünülmüştür. Böylece Hepatit B virüsüne karşı sentetik peptid aşısı geliştirilip şempanzelerde denenmiş ve hayvanlarda antikor üretimi

gözlenmiştir. Sentetik peptid aşılı ile immunizasyon yapıldıktan sonra efektif bir T hücre cevabı elde edilebilmesi için uygun agretopların da belirlenmesi gereklidir. Agretoplar, antijen sunan hücrelerde bulunan MHC sınıf molekülleri tarafından tanınan bölgelerdir. MHC molekülleri 10-30 aminoasitten oluşan bu bölgeleri tanıyıp bağlanırlar ve antijeni hücre yüzeyinde uygun T hücrelerine (T helper veya Sitotoksik T lenfositleri) sunarlar. Antijenlerin üzerindeki bu agretopların doğru bir şekilde tespiti uyarımın hangi tip T hücresine yönlendirileceğinin belirlenmesinde önemlidir (Reddehase, 1989).

Diğer bir önemli nokta, kullanılan antijenler monoklonal karakterde antikörlerin sentezine yol açarlar ve mikroorganizmaların yüzeyindeki bütün değişik antijenik determinantlara bağlanamazlar. Bu nedenle birden fazla antijenik determinant saptanıp, bunlardan hazırlanan aşılar kullanıldığında alınan immun yanıt daha kuvvetli olmaktadır. Antijenik determinantlar belirlenirken göz önüne alınması gereken bir diğer nokta belirlenen bölgelerin değişkenliğidir. Bazı mikroorganizmalara ait epitoplara hyper-variable (değişken) bölgeler içermektedir. Bu durum özellikle B lenfosit cevabının istenilen düzeyde ulaşamamasına ve efektif bir nötralizan antikor yanıt oluşmamasına neden olabilir. Dolayısıyla antijenik determinant olarak saptanan bölgenin değişken olmamasına dikkat edilmelidir. Aşı için kullanılacak bölge saptanıp aminoasit dizilimi (sekansı) belirlendikten sonraki aşama, bu bölgelerin laboratuvar ortamında kimyasal olarak sentezlenmesidir. Peptidlerin kimyasal olarak sentezlenmesi ilk kez 1959'da Bruce Merrifield tarafından gerçekleştirilmiştir. Solid Phase Peptide Synthesis olarak adlandırılan prosedür coupling (bağlama) ve deprotection safhalarından oluşmaktadır. Kimyasal yollarla elde edilen peptidler normal biyosentez olayının tersine C-Terminal ucundan başlar ve N-Terminalde sonlanır. Bu işlem için küçük boncuk yapısında katı cisimler kullanılır. Üzerlerinde peptidlerin yapışabileceği fonksiyonel bölgeler bulunduran bu boncuklar peptidlere katı bir yapı kazandırır. Tetrabütildikarbonat esterleri kullanılarak peptidlerin amin rezidülerinde protektif gruplar oluşturulur. Bağlanma aşamalarından sonra bu rezidüler trifluoroasetik asit gibi kimyasallarla inaktif hale getirilir. Peptid sentezi ile ilgili prosedürler ilk kez ortaya konduğunda bu işlemler manual olarak yapılmaktaydı. Fakat son yıllarda peptid sentezi işlemi çeşitli firmaların geliştirildiği cihazlarla yapılmaktadır (Amblard, 2006).



Şekil 3. Solid faz peptit sentezi.

Sentez edilen peptidler immunojenik özelliğe sahiptir. Fakat daha etkili bir immun yanıt oluşturması için adjuvantlarla birlikte kullanılırlar. Daha etkili bir uyarım için taşıyıcı birtakım proteinlere de ihtiyaç vardır.

Sentetik peptid aşılı vücuda verildikten sonra kullanılan antijenler vücutta antijen sunan hücrelerde bulunan MHC molekülleri tarafından sunulurlar. MHC I sınıf molekülleri bütün çekirdekli hücrelerde bulunan özelleşmiş moleküllerdir. Özellikle virüslere karşı geliştirilen bağışıklıkta anahtar rol oynamaktadırlar. MHC I sınıf molekülleri sentetik olarak üretilmiş epitoplara peptid bağlama yarıkları vasıtasıyla yakalamakta ve hücre yüzeyinde bunları CD8+ Sitotoksik T lenfositlerine sunmaktadırlar. Fakat daha etkili bir immun cevabın gerçekleşmesi için yardımcı T lenfositlerinde uyarılması gereklidir. Vücutta antijen sunan hücreler olarak özelleşmiş dendritik hücreler, makrofajlar ve B hücreleri taşıdıkları MHC II sınıf molekülleri sayesinde bu işi yapmaktadırlar. MHC II sınıf molekülleri eksojen antijenlerin sunumunda rol oynayan oldukça kompleks moleküllerdir. Ig super familyası içerisinde değerlendirilen MHC molekülleri birden fazla alt domain içeren yapılardır. MHC II sınıf molekülleri birer $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ domaini, bu domainin ortasında 10-30 aminoasidi bağlayabilen bir yarık ve $\beta 1$ ve $\beta 2$ alt ünitelerinden oluşmaktadır. Antijen tanıma yarıkları sayesinde antijenleri yakalayıp hücre yüzeyinde CD4+ Th hücrelerine sunarlar. Th hücreleri üzerlerindeki TCR vasıtasıyla MHC moleküllerinin $\beta 2$ ünitelerine bağlanıp MHC'ler tarafından sunulan antijenleri tanıdıktan sonra etkin bir yanıt geliştirilebilir. Çünkü Th hücreleri olmaksızın hafıza immun yanıtın şekillendirilmesi mümkün değildir. Ayrıca Th hücre yardımı varlığında B lenfositleri de daha etkili bir şekilde uyarılabilmektedir. Th hücreleri ile B lenfositleri arasında CD40-CD40L bağlanması B hücre uyarımı için son derece önemlidir.

Sentetik peptid aşuların geliştirilme aşamaları uygun epitopun belirlenmesi zordur. Bazı durumlarda oldukça zayıf bir immün yanıt oluşturabilirler. İn vitro sentez işlemlerine ihtiyaç duymaları nedeniyle pahalıdırlar. Multivalan kullanılmadıklarında monoklonal antikor expressiyonuna neden olurlar. Yapılarında lipid, glikoz olmadığı için zayıf antijeniteye sahiptirler ve bu yüzden adjuvant ve bir takım taşıyıcı moleküllere gereksinim duyarlar.

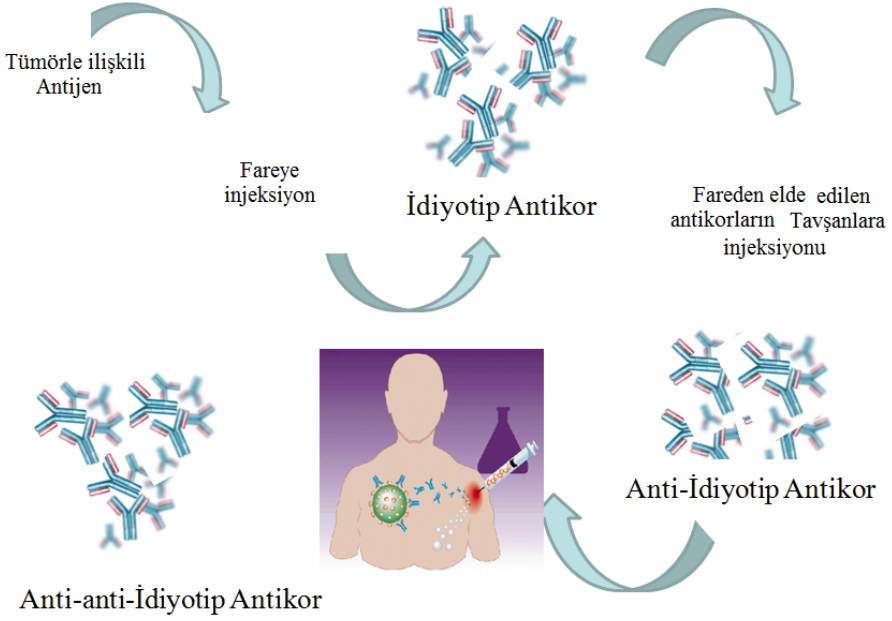
Yukarıda verilen dezavantajların ortadan kaldırılmaları amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Bu sebeple direkt olarak MHC II sınıf moleküllerini hedef alan agretoplar kullanılmakta, taşıyıcı proteine ihtiyaç duymayan sistemler geliştirilmekte ve adjuvant olarak sitokinler kullanılarak aşuların etkinliği artırılmaya çalışılmaktadır (Tovey, 2010).

Sentetik peptid aşular tamamen sentetik oldukları, bütün organizma yerine sadece ona ait determinantları içerdiklerinden dolayı enfeksiyon ve kontaminasyon yapma riski olmayan güvenilir aşılardır.

5.2. Anti-idiotip Antikor Aşuları

İmmunglobülinler humoral bağışıklıkta rol oynayan önemli moleküllerdir. Bir antikor molekülü, birbirine eş iki ağır (H) ve iki hafif (L) zinciri olan ve her bir zinciri biri değişken (V), biri sabit (C) bölge içeren yapıdadır. Her hafif zincir bir ağır zincire, her iki ağır zincir de birbirine disülfid bağları ile bağlıdır. Ağır ve hafif zincirlerin her bir değişken bölgesi (sırasıyla VH ve VL) üçer tane çok değişken bölge (hypervariable) veya CD reseptörü taşır. Antikoronun ağır zincirinin V bölgesi ve ilk C bölgesi antijen tanıma bölgesini oluşturur ve bu parça Fab (Fragment of Antigen Binding) olarak adlandırılır. Ağır zincirin kalan C bölgeleri Fc (fragment crystalline) olarak adlandırılır ve bu bölge solusyon içinde kristal oluşturma eğilimindedir. Antikoronun yapısındaki bu bölgeler yapılarındaki aminoasit dizilimlerinin değişmelerine göre özel bir farklılık kazanmakta yani “idiyotipik karakter” göstermektedirler. Bu bölgeler sayesinde antikorlar yabancı antijenleri tanıyabilmekte, fakat bu idiyotipik karakterlerin kendileri de başka immün sistem hücreleri tarafından antijen olarak tanınabilmektedir. Bu nedenle bu idiyotipik antikorlar canlı bir hayvanda spesifik antijene karşı oluşturulur, (örn; fare) daha sonra bu hayvanların serumlarından pürifiye edilir ve başka bir hayvana verilirse (örn tavşan), ikinci hayvanda ilk hayvandan elde edilen idiyotipik antikorlara karşı anti-idiyotipik antikorlar oluşur. Oluşan anti-idiyotipik antikorların değişken bölgeleri ile immunojenin epitop kısımları arasında moleküler internal imaj benzerliği denilen yapısal benzerlik mevcuttur ki bu sayede elde edilen anti-idiyotipik antikorlar başka bir hayvana verildiğinde idiyotipik antikorlar spesifik antijene karşı canlıyı nasıl koruyorsa anti-idiyotipik antikorlar kullanılarak aşılanan hayvanlar da aynı antijene karşı koruma geliştireceklerdir. Bu sebepten aktif immunizasyon oluşturmak için

direkt olarak antijenin yerine o antijene karşı oluşmuş anti-idiotipik antikorlar kullanılabilir. Anti-idiotipik aşılama son yıllarda özellikle kanserin ilk aşamalarında tedavi edici özellikte kullanılmaktadırlar. Bu aşuların hazırlanmasında ilk aşama tedavi edilmek istenen tümör hücreleri yüzeyinde açıklanan idiyotipik antikorların antijenite ve immunojenitelerinin belirlenmesidir. Örn; Gastrointestinal adenokarsinomalarda görülen Carsinoembriyonik antijen immun sistem için self-antijenik özellik göstermektedir. Non Hodgkin's Lymphoma'da görülen malignant B hücreleri tarafından sentezlenen immunglobülinler yine immunojenik özellik göstermektedirler. Söz konusu antijenlerden bazıları birden fazla malignant hücre çeşidinde ortak olarak bulunabilir. Örn; Gangliosidler hem Melanoma hem de göğüs kanserinde ortak olarak bulunurlar. Anti-idiotipik antikor aşuları geliştirilirken hedef alınan antijenlerden bazıları zayıf immunojenik özellik gösterebilirler. Bu durumda immunojeniteyi arttırmak için bazı alternatif yaklaşımlar söz konusudur. Örn; Melanoma ve Göğüs kanserinde hedef antijen olan Gangliosidlerin antijenik özellikleri zayıftır ve bu amaçla anti-idiotipik antikorlar oluşturma aşamasında bu gangliosidler pürifiye edilip Bacillus Calmette-Guerin'e eklenip canlı organizma kullanılmıştır (Mittelmann, 1992). Böylece söz konusu antijene N-Glycolyl rezidüleri eklenerek daha etkili bir immun yanıt oluşturulmuştur. Burada temel nokta N-Glycolyl rezidüleri insan genomu tarafından açıklanmadığı için gangliosidlerin antijenitelerini arttırmakta ve ayrıca hem etkili bir T hücre yanıtı, hem de etkili bir B hücre yanıtı elde edilmektedir. Anti-idiotipik aşı teknolojisinde hedef antijen belirlendikten sonra deney hayvanları mevcut antijenlerle immunize edilmekte ve monoklonal antikorlar elde edilmektedir. Monoklonal antikorlar genellikle tavşan gibi hayvanlara verilerek anti-idiotipik antikor oluşturulmaktadır. Daha sonra bu anti-idiotipik antikorlar biotin konjugasyonu, sepharose kolon pürifikasyonu gibi işlemlerle pürifiye edilir ve hibridoma hücreleri ile füzyon işlemine tabi tutulur. Elde edilen anti-idiotipik antikorlar aşı olarak kullanılır. Anti-idiotipik aşuların uygulanmasından sonra humoral yanıt uyarılır ve canlıda anti-anti-idiotipik antikorlar sentezlenir. Sentezlenen bu anti-anti-idiotipik antikorlar variable bölgelerinde deney hayvanlarında ilk oluşturulan idiyotipik antikorlar ile benzer moleküler motiflere sahiptir ve idiyotipik antikorların spesifik olduğu antijenlere bağlanabilme özelliği vardır. Anti-idiotipik aşı teknolojisi özellikle kemoterapi ve radyoterapi ile tedavi edilmesi oldukça zor olan kanser türleri için tedaviye yönelik kullanılmış ve bazı olumlu sonuçlar alınmıştır (De cerio, 2007). Ayrıca malignant B hücre lenfoması gibi, malignant hücrelerin immun cevaptan kaçabildiği ve immun sistemin baskılandığı durumlarda immun yanıtı stimüle etmede başarılı sonuçlar alınmıştır (Meeker, 1985).



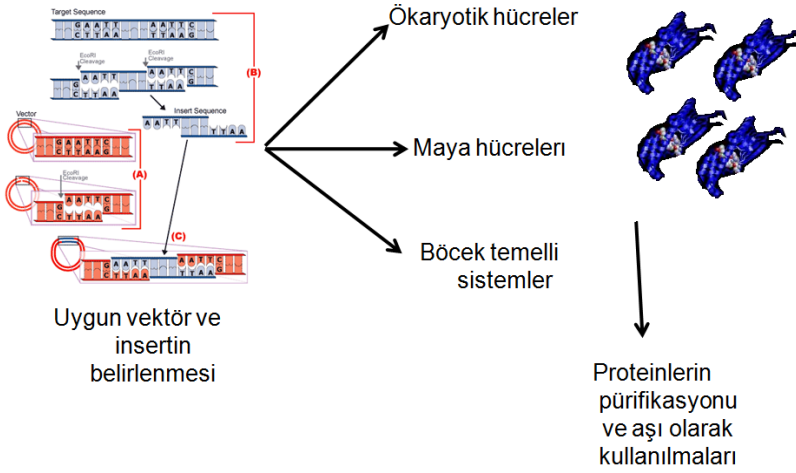
Şekil 4. Anti idiyotip antikorların hazırlanması.

5.3. Rekombinant Vektör Aşıları

Genetik mühendisliği, rekombinant DNA teknolojisi ve revers genetik alanındaki çalışmalar mikroorganizmaların-özellikle virüslerin- genomlarında istenilen değişikliklerin yapılmasına olanak sağlamıştır. Rekombinant vektör aşıları genomu değiştirilmiş mutant suşların vektör olarak kullanılmasına dayalı bir teknolojidir. Rekombinant vektör aşıları elde etmek amacıyla yaygın olarak kullanılan viral vektörler, Poxvirüs, Adenovirüs, Alphavirüs, Vesiküler Stomatitis virüsü, Flavivirüslerdir (Ertl, 2016). Her bir viral vektörün kendine göre avantajları olmakla beraber aşılama teknolojisinde viral vektörlerin seçilmesinin bir takım genel avantajları vardır. Viral vektörler MHC sınıf I antijen sunan hücreler tarafından sunuldukları için çok güçlü bir CD8+ T hücre yanıtı oluştururlar (Zaiss, 2005). Bununla beraber vektörlerin kendi antijenik yapılarından kaynaklanan aktivasyon sonucu innate (doğal) bağışıklık sistemide iyi bir şekilde uyarılmış olur. Toll Like Reseptörleri (TLR) vasıtasıyla gerçekleştirilen uyarı sonucu Tip 1 interferonların salınmasıyla CD8+ T lenfositlerinin klonal çoğalma ve bellek forma dönüşmeleri sağlanmış olur. Rekombinant vektör teknolojisi hızla gelişmekle beraber popüler olarak kullanılan viral vektörler Poxvirus (MVA) ve Adenovirus'tur. Poxvirus DNA'sının büyük olması nedeniyle yapısına oldukça büyük DNA sekanslarını eklemek mümkündür. Bu nedenle tercih edilen bir viral vektördür. Adenovirüsler ise spesifik konaklarında ürediklerinden dolayı insanlarda ciddi hastalık riski taşımadıkları için tercih edilir. Bakteriler diğer taraftan bu aşı

teknolojisinde vektör olarak kullanılabilir. Bakterilerde bulunan ekstrasözomal gen gölgeleri olan plazmidler rekombinant DNA teknolojisinin önemli parçasını teşkil etmekte ve plazmidler vektör olarak kullanıldığında DNA üzerinde çeşitli işlemler kolaylıkla yapılabilmektedir. Rekombinant vektör aşılı üretilmesinde kullanılan plazmidlerin kullanım amaçlarına göre iyi seçilmesi önem arz etmektedir. Rekombinant vektör aşılı geliştirilirken izlenen yol genel hatlarıyla şöyledir. Normal koşullarda enfektif, vücutta çoğalma ve protein açıklatma özelliği bulunan virionlar veya protein sentezi için gerekli promoter bölgeler ve enhancerları taşıyan plazmidler kullanılmalıdır. Promoter bölgeler DNA üzerinde bulunan ve transkripsiyonun (DNA'dan mRNA sentezi) başladığı bölgelerdir. Genelde DNA üzerinde regüle ettikleri genlere yakın bölgelerde bulunurlar. Ana promoter olarak bilinen bölgeler bir TSS (Transcription Starting Site) ve RNA Polymerase'ların bağlanabileceği bölgeler içerirler. Prokaryotlarda bu işi promoter üzerinde bulunan Sigma faktör yapmaktadır. Plazmid DNA ve vektörlerinde en fazla çalışılan model olan E. coli sekiz farklı Sigma faktör içermektedir ve bunların her biri farklı çevresel koşullarda aktive olmaktadır. Örn; Housekeeping Sigma faktör olan Sigma70 genel olarak birçok proteinin üretilmesinden sorumludur. Sigma54 azot azlığında, Sigma24 ortamda ısı artışı olduğunda, Sigma36 ortamda yeterli besin maddesi bulunmadığında aktive olur (Gross, 1998). Enhancerlar DNA yüzeyinde yer alan ve gen ekspresyon düzeyini kontrol altında tutan bölgelerdir. Prokaryotlarda enhancerlar lokalizasyon olarak promoter genlere uzak olabilirler fakat Supercoil yapıdan dolayı geometrik olarak promoter genlere yakındırlar. Bu şekil avantajı sayesinde RNA polymerase veya bazı transkripsiyon faktörleri ile interaksyona girebilirler. Plazmid DNA'lar virionların aksine çıplak DNA'lardır ve protein sentezi için hücreye transfekte edilmeleri gerekmektedir. Ancak viral vektörler kullanıldığında hücre viruslar ile enfekte olduğu için antijenik özellikleri olan protein kolayca sentezlenebilmektedir. Ayrıca kendi antijenik yapısından dolayı viral vektörler özellikle viral enfeksiyonlarda ihtiyaç duyulan hücresel immun yanıtı daha etkili bir şekilde uyarabilme yeteneğine sahiptirler. Committee of Medicinal Products of Veterinary use (CVMP) 2004 yılında aldığı kararla Avrupa Birliği ülkelerinde kullanılmaya aday viral vektörlerin özelliklerini belirtmiştir (Cattle, 2004). Bu doğrultuda kalite, güvenlik, etkinlik gibi konu başlıklarına dikkat çekilmiştir. Genom iyi tanımlanmış, kolay manipüle edilebilir, fazla kompleks olmayan ve geniş çerçevede protein sentezleme yeteneğine sahip bir vektör adayı belirlendikten sonra yapılan iş, virüsü rekombine ederek enfeksiyöz özelliğinin ortadan kaldırılmasıdır. Bu amaçla bütün sekansı ortaya konmuş ve özellikleri iyi bilinen genom üzerinde enfeksiyöziteyi belirleyen, konak immun yanıtından kaçmada rol oynayan bir takım hayati fonksiyonları üstlenmiş proteinleri açıklayan gen bölgelerinde mutasyonlar yapılır. Çoğunlukla delesyon mutasyonları tarzında olan bu mutagenesis sonucu viral ajanların enfeksiyözitesi kaybettirilir. Örn;

Adenovirus vektöründe genom üzerinde tanımlanmış E1 ve E3 isimli viral transkripsiyon noktaları hedef alınır. Bu noktalardan E1'de delesyon sonucu virüs partikellerinde defektif tarzda bir mutasyon meydana getirilir ve hedef hücrede enfeksiyöz virüs partikellerinin üremesi engellenir. E3 bölgesindeki mutasyon sonucu ise virüsün immun sistemden kaçışında rol oynayan proteinin yapısı bozulmaktadır. RNA virüsleri de viral vektör olarak kullanılabilir. Bir negatif anlamlı RNA virüsü olan Newcastle hastalığı virüsünün viral vektör olarak kullanıldığı ve başarılı olduğu belirtilmiştir (Amalfitano, 1998). Rekombine edilmiş mutant virüs partikeli bu aşamadan sonra direkt olarak aşılamada kullanılabilir. Rekombinasyon temelli bu aşılama "Mutant virus aşısı" veya "Rekombinant Mikroorganizma aşısı" olarak isimlendirilir ve bu aşılama türü canlı aşı kullanımına nazaran daha güvenlidir. Bu durumda virion yapısal proteinleri antijenitelerini koruduğundan etkili bir immun yanıt elde edilir, fakat virus-hücre interaksyonları, patojenite değişiklikleri, hücre ve konak tropizminin değişmesi gibi problemlere yol açabileceğinden ve özellikle bu aşuların immunsupresif ve immun yetmezliği bulunan kişilerde risk taşımalarından viral vektörlerle aşılamada yeni açılımlar geliştirilmiştir. Rekombine edilmiş vektöre ait olmayan yabancı genler ve bunların ortak fenotipleri, homolojik rekombinasyon ürünü olarak vektörlere transfer edilebilir. Bu sayede yabancı bir gen dizisine ait proteinler rekombinant vektörler kullanılarak hücrede sentez edilmekte ve böylece mevcut antijene karşı bağışıklık uyarılmaktadır. Burada önemli nokta bağışıklık sağlanmak istenen canlıdan vektöre insert edilecek gen dizisinin antijenik açıdan önemli immunojenik determinantları içermesi gerekmektedir. Örn; Influenza için hemaglütinin geni bu iş için idealdir. Ayrıca HIV virüsünün gp120 proteini, Bunyavirüsler için Gn ve Gc proteinleri yüksek immunojeniteye sahiptir. Rekombine edilmiş aşuların hazırlanması için vektör ve istenilen gen bölgesinin birleştirilmesi gerekmektedir. Bu işlem için plazmidler, bakteriyofajlar, cosmidler gibi moleküller kullanılır. Hedef gen PZR ile çoğaltılıp restriksiyon bölgelerinde spesifik enzimlerle kesilip vektör üzerine ligasyon ile eklenir. Sonuçta elde edilen aşı canlıya verildiğinde immun sistemin çeşitli mekanizmaları uyarılmak suretiyle bağışıklık sağlanmış olur.



Şekil 5. Vektör aşılarnın hazırlanması.

Antijenik proteinler hücre içinde önce “proteozom” adı verilen organellere yönlendirilir ve proteolizis ile parçalanır. Sonuçta MHC 1 molekülleri tarafından bağlanabilecek düzeyde 8-10 aminoasitlik dizeler oluşur. Ancak MHC 1’ler endoplazmik retikulumda sentez edilmekte ve bu iki grubun bir araya gelmesi gerekmektedir. Bu problem TAP (Transfer Associated Protein) ile çözülür. TAP aktif pompalama ile proteinleri endoplazmik retikulum’a taşır. MHC molekülleri kendilerine uyan peptidleri tanıyıp bağlanırsa moleküler düzeyde dayanıklılık kazanır ve kompleks hücre yüzeyine taşınır. Eğer MHC 1 molekülleri uygun peptidleri bulup bağlanamamışsa kompleks oluşmaz bu yüzden MHC’ler dayanıksızdır ve parçalanır. Sonuçta hücre yüzeyinde MHC molekülleri ile sitotoksik T lenfositleri arasındaki bağlanma sonucu hücrel immun yanıt gelişir. Son yıllarda vektör olarak Baculovirüs ekspresyon sisteminin kullanılmasıyla ilgili çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmıştır. Baculovirüsler yaklaşık 600 kadar vertebrasız türünde hastalık yaptığı belirtilen memeli ve omurgalılarda replikasyona sahip olmayan virüslerdir ve diğer vektörlere nazaran bazı önemli avantajlara sahiptir. Baculovirüsün vektör olarak kullanılmasının en önemli üstünlüğü polihedral inklüzyon yapı matrix proteini (polihedrin) ve p10 proteinlerini kodlayan genlerden ileri gelmektedir. Bunlar enfekte olmuş hücrelerde virüs replikasyon siklusunun en geç safhasında fazla miktarda üretilir. Bu proteine virus partikellerinin doğadaki konaklarında, inklüzyon yapılarının oluşumunda veya partikellerin polihedrin içinde paketlenmesinde ihtiyaç duyulmaktadır. Polihedrin’e böcek enfeksiyonlarında ihtiyaç duyulmasına rağmen, in vivo replikasyonda ihtiyaç duyulmaz. Bu bölgeler çıkartılıp yerine yabancı genler yerleştirilebilir. Baculovirüs vektörlere yabancı genlerin yerleştirilme prensipleri diğer vektörlerle aynıdır. Polh genini oluşturan genom bölgesi

bakteriyel plazmide yerleştirilip kesilir ve sonuçta rekombinant Baculovirüs (rBV) elde edilir. Bu bölgeye homoloji gösteren yabancı bir gen eklenebilir. Mevcut bölgeler oldukça güçlü promotör bölgelere sahiptir ve yüksek düzeyde protein ifadesi olmaktadır. (10^9 hücre kültürden 1 g protein). Son yıllarda Baculovirüs vektör sistemi ile geliştirilmiş rekombinant aşılarda yalancı kuduz hastalığında kullanılmaya başlanmıştır (Chambers, 2018, Freuling, 2017).

5.5. Nükleik Asit Aşılı

Nükleik asit aşılı mikroorganizmaların çeşitli protein karakterindeki antijenik moleküllerin sentezlendiği genlerin inserte edildiği ekspresyon plazmid vektörlerinden hazırlanırlar. Bu plazmid vektörler, DNA yapısında ekstrakromozomal genetik elementlerdir. Böylece aşılama ex vivo koşullarda üretilmiş, herhangi bir post-translasyonel işleme tabi tutulmamış moleküller konformasyonu uygun olmayan, antijeniteleri zayıf ve genellikle bir adjuvant veya tanıyıcı proteinle kullanılan polipeptidler yerine, in vivo üreyen, vücuda yabancı olmayan, minimal risk taşıyan ve uzun süreli immun yanıt sağlayan bir gen aşısı kullanılmış olur (Dunham, 2002). Rekombinant DNA teknolojisi bazı mikroorganizmaların genlerinin ve proteinlerinin düzenlenmesine olanak vermiştir. Fakat bu teknolojiler ile üretilmiş rekombinant vektör aşılılarının ve rekombinant proteinlerin bazı dezavantajları vardır. Örneğin; rekombinant bir protein post-translasyonel işlemler sırasında doğal antijenik yapısını kaybedebilir. Daha da önemlisi enjekte edilmiş proteinler MHC 1 yanıtını tam olarak uyaramadıkları için efektif bir sitotoksik T lenfosit uyarımı sağlanamaz. DNA aşılı bu dezavantajı ortadan kaldırmak için geliştirilmiştir. DNA aşılı kısmen memelilerde ekspresyonu yapılan bir takım viral, parazitik ve bakteriyel proteinleri encode eden genleri veya memeliye ait proteinleri encode eden genleri taşıyan bir plazmid olarak tanımlanabilir. Bu plazmid DNA'lar konağa verildiğinde, konak hücrelerinde antijen üretme yeteneğine sahiplerdir (Vogel, 1995).

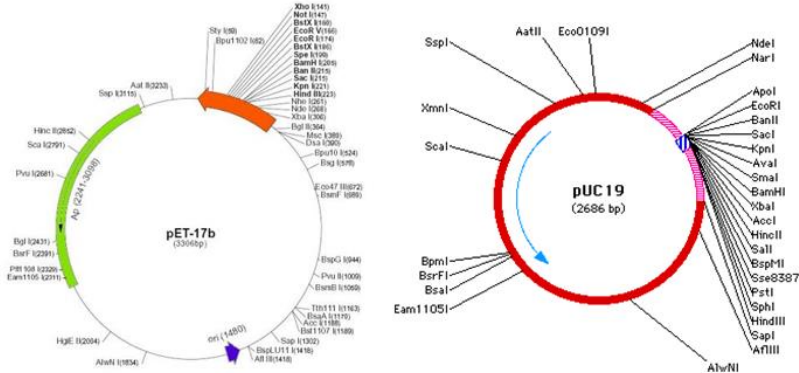
Plazmid DNA'ların hücrelere alınması ve ekspresyonu ile ilgili ilk çalışmalar 1992'de Wolf ve ark. tarafından yapılmıştır. Gen transferi amacıyla tasarlanmış çalışmada plazmid DNA fareye verilmiş ve fare iskelet kaslarındaki hücrelerde açıklatılmıştır (Wolf, 1992). Bu çalışma ayrıca plazmidlerin hücrede ekstrakromozomal formda kaldıklarını göstermiştir. Buradan hareketle plazmid DNA teknolojisinin ekzojen proteinlerin memeli kas hücrelerinde üretilmesi için etkili ve güvenli bir yol olabileceği düşünülmüştür. Rekombinant DNA aşılı ile ilgili ilk çalışmalar 1995'te Donnelly ve ark. tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada internal Influenza NP ekspresyonu için NP bölgesini kodlayan gen bölgesi plazmid içinde fareye verilmiş ve farelerde bağışıklık uyarılmıştır (Donnelly, 1995).

Normalde ideal bir aşının sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Bunlar;

- i – Güvenli olması
- ii – Humoral, hücrel ve mukozal bağışıklığı iyi uyarmaları
- iii – Düşük dozlarda bile uzun süreli bağışıklık sağlamaları
- iv – Maliyetlerinin yüksek olmaması
- v – Optimal olmayan şartlarda bile saklanabilmeleri

olarak sayılabilir. Bütün bu sayılan özelliklerin hepsi DNA aşılı için geçerli olmalıdır. DNA aşılı için kullanılacak vektörlerin güvenli ve ticari açıdan kolay ulaşılabilir olması gerekmektedir. Ticari olarak temin edilebilir plazmidler *E. coli* orjinli pBR322 ve pUC gibi plazmidler olup *E. coli* replikasyon orjinine sahiptirler. Böylece bu vektörler *E. coli*'de replike olabilmektedirler. pUC plazmidleri *E. coli* hücre başına 500-700 kopya yapabildikleri için genelde DNA aşılılarında kullanılan plazmidlerdir. Aşılımada vücuda verilen plazmidler picogram düzeyinde uygulanmaktadır. Bu açıdan güçlü promotere ihtiyaç duyulmaktadır. Viral gen promoterları housekeeping memeli promoterlarına nazaran daha güçlüdür ve daha yüksek seviyelerde protein sentezi yapabilmektedirler. Kullanılan en güçlü promoterelerden biri CMV IEG-1 (intermediate early gen) promotörüdür. Bu promoter influenza A genlerinin ekspresyonu için kullanılmış ve fare, maymun gibi hayvanlarda koruyuculuk sağlamıştır. Diğer bazı promoterlar SV-40, Adenovirus 2 ML promoteri, Rous sarcoma virus LTR gibi promoterlardır. Fakat laboratuvarında genellikle CMV promoteri kullanılmaktadır. Bazı non-viral promoterlar Örn; Albümin promoteri dalak hücresinde protein ekspresyonu için kullanılmıştır. Yukarıda bahsedilen promotere ek olarak araştırmacılar kontrollü ekspresyon için bazı özel promoterları kullanabilirler. Kontrollü ekspresyon bazı durumlarda oldukça kullanışlı olabilir. Örn; antijenik uyarım problemliyse sitokinler yardımcı olarak kullanılabilirler. Kontrollü ekspresyon yapılması ile ilgili en önemli örnek pUC bazlı vektör üzerinde kullanılan CMV/BGH kombinasyonudur. Montgomery ve ark. yaptığı çalışmaya göre transkripsiyon terminatörü/Poly A kuyruğu sinyali transkripsiyonda yüksek düzeyde avantaj sağlamaktadır. Vektör seçiminin yanında hedef genin ekspresyonu ettiği proteinlerin antijenik ve immunojenik özelliklerinin bilinmesi gerekir. Plazmidler tarafından sentezlenen proteinler, doğal enfeksiyondakiyle aynı çerçevededir, bu sebeple ilk önce bağışıklık sağlanmak istenen mikroorganizmanın hangi proteinlerine karşı nasıl bir immun yanıt şekillendiğinin bilinmesi gereklidir. Influenza A'da antikor yanıt HA (hemagglütinin) proteinine yönelik olmaktadır. Bu amaçla HA proteini sentezleyen gen bölgesi hedef alınmalıdır. Eğer protein kendi natif yapısında sentez edilirse bu proteine karşı oluşan antikorlar koruyucu bağışıklık sağlarlar. Hepatit B virüs enfeksiyonunda nötralizan antikorlar viral zar üzerinde yer alan Dane partikeli adı verilen yüzey antijenlerine yönelik oluşmaktadır. Çoğu

durumda bir plazmide birden fazla gen bölgesi eklenerek hazırlanan aşılar oldukça etkili bir koruma sağlamaktadırlar. Uygun vektör ve gen bölgesi belirlendikten sonra istenilen gen bölgesi restriksiyon bölgesinde spesifik enzimlerle kesilir ve PCR ile çoğaltılır. Daha sonra çoğaltılan bölgeler plazmid vektörlere eklenir aşı materyali hazırlanmış olur.



Şekil 6. Nükleik asit aşularının hazırlanmasında kullanılan plazmidler.

Hazırlanan aşı materyali vücuda çeşitli yollarla verilmektedir. Çıplak genom ya direkt olarak ya da çeşitli lipozomlarla karıştırılıp verilir. DNA direkt olarak verildiğinde özellikle iskelet ve kalp kasında yüksek oranda ekspresyon gerçekleşmektedir. Bunun mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır fakat çıplak DNA'nın hücrelere nasıl girdiği bilinmektedir. Çalışmalar DNA'nın iskelet kasları içerisine T tübüleri adı verilen kanallardan girebildiğini göstermektedir. Hücreye alınan plazmid 7-14 gün sonra gen ekspresyonunu meydana getirmiştir. Aşının uygulanması için bir diğer metot "Gen Tabancası" tekniğidir. Bu metotta DNA altın partikelleri ile kaplanır. Altın ile kaplı partikeller hava basıncı kullanılarak hızlandırılır ve hücreye verilir (Braun, 1999). DNA aşuları vücuda verildikten sonra oluşan immün yanıtı ortaya koymak için çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar genel olarak 3 başlıkta toplanır.

1-) Antikor sunumu 2-) Kullanılan gen bölgesinin kendi antijenitesi 3-) Sitokinlerin rolü. Bu doğrultuda aşının vücuda verilme yolunun transfekte edilen hücrelerin çeşitliliğini direkt olarak etkilediği bilinmektedir. Gen tabancası metodunda transfekte edilen hücreler keratinsitler, Langherhans hücreleri gibi hücrelerdir. Kas içi uygulamada myositler transfekte edilmektedir. Fakat kas içi enjeksiyon yolu ile aşılama profesyonel antijen sunan hücreler ile antijenin sunumu mekanizması daha zayıftır DNA aşuları tıpkı Rekombinant vektör aşuları gibi MHC 1 antijen sunum yolu ile işlenip sunulmaktadır. CD8+ CTL aktivasyonu ve hücrel immün yanıt oluşmaktadır. DNA aşularının oluşturduğu immün yanıt ile ilgili çalışmalar plazmid

DNA'ların kendilerinde immunolojik özelliklerinin olduğunu kanıtlamaktadır. Bakteriyel DNA metillenmemiş CpG sekansına sahiptir ve bu sekans B hücrelerini poliklonal olarak aktive edebilmektedir. Sonraki çalışmalarda bu mekanizmada B hücreler üzerinde TLR9 (Toll Like Receptor) un rol oynadığı ortaya konmuştur. Sitokinler ve kemokinlerin adjuvan olarak kullanılmaları son yıllarda popüler bir çalışma alanı olmuştur. Sitokinlerin immun sistemi regüle edici özelliklerinden yararlanılarak sitokin genleri plazmidlerle birlikte verilerek immun sistem spesifik olarak hücresel ve humoral yöne kaydırılabilir. Özellikle IL-2 ve GM-CSF kullanımına dair çalışmalar yapılmıştır. IL-2 T hücre büyüme faktörü olarak bilinir ve T hücrelerinin olgunlaşmasında etkilidir. Granülosit Makrofaj Koloni Stimulan Faktör (GM-CSF) makrofaj sinyal iletimi, makrofaj aktivasyonu gibi görevlere sahiptir. Eğer Th1 yanıtına ihtiyaç duyulan mikroorganizmalara karşı aşı geliştirilmeye çalışılıyorsa immun sistemi Th1 yönüne kaydırmak amacıyla IL-12 veya IL-23 genleri hedef genle füzyona sokularak kullanılırlar.⁹⁵ Wang ve ark. yaptığı bir çalışmada IL-15 ile kullanılan DNA aşısı ile şap hastalığına karşı etkili bir mukozal ve sistemik bir bağışıklık sağlandığını göstermiştir DNA aşıları güvenli olmaları, kontaminasyon risklerinin olmaması, doğal enfeksiyonlarla benzer immun yanıt oluşturmaları, antijenik proteinlerin in vivo sentezlenmesi, muhafaza kolaylıkları, az miktarda kullanılmaları, konak genomuna entegre olmamaları, immun yetmezlikli kişilerde risk taşımamaları gibi avantajlara sahiptir. Fakat üretilmeleri için iyi donanımlı bir laboratuvar gereklidir. Ayrıca bazı proteinler immunojenite kaybına uğrayabilirler. Uygulama yolları kısıtlıdır.

5.6. Virüs Benzeri Partikeller

Virüs benzeri partikeller (VLP) genom taşımayan virionlar olarak tanımlanmaktadır. Genom taşımadıkları için enfeksiyöz değildirler ama antijenik özellik olarak orjinal virüsle aynı özelliklere sahiptir.⁹⁸ Virüs benzeri partikeller temelde subunit aşılardan oluşur ve değerlendirilebilirler. Fakat subunit aşılarda genelde virüse ait bir protein antijen olarak kullanılırken virüs benzeri partikeller, virüse ait bütün yapısal proteinleri birden fazla yapısal protein içeren parçalardır ve bu durum subunit aşılarda ortaya çıkan bazı dezavantajları ortadan kaldırmaktadır. Subunit aşılarda antijen olarak tek bir protein kullanıldığı için, diğer yapısal proteinlerin yokluğunda oluşan immun yanıt daha zayıf olabilmektedir. Ayrıca kullanılan proteinin nativ forma uygun konformasyon göstermemesi bazen uygun olmayan katlanma ve bükülmeler-antijenitesinin kaybıyla sonuçlanabilir. Virüs benzeri partikeller yapısal olarak özgündür ve böylece immun sistemi attenüe canlı aşılardan daha etkili bir şekilde uyarabilirler. Ayrıca genom içermedikleri için güvenli bir şekilde kullanılabilirler. Virüs benzeri partikeller oluşturmada temel nokta orijinal virüsle aynı yapıda viral kapsid proteinleri ekspres edilmesidir. Ekspres edilen bu proteinler spontane olarak assembly (kurulum, toplanma)

geçirmektedir ve sonuçta kapsid yapısı orijinal virüsle aynı fakat genom içermeyen partikeller ortaya çıkmaktadır. Günümüzde insan ve hayvanları enfekte eden 30'dan fazla virüs için virüs benzeri partikel geliştirilmiştir. Fakat bunların tamamı aşılama kullanılmamaktadır. Bazıları virüslerin biyolojilerini çalışmak için geliştirilmiştir. Virüs benzeri partikellerin aşı adayı olması için güvenli bir ekspresyon sisteminde üretilmeleri gerekmektedir. Günümüzde rekombinant protein ve partikellerin üretilmesi için pek çok farklı ekspresyon sistemi mevcuttur. Fakat seçilecek olan ekspresyon sisteminin güvenli, efektif ve ekonomik olması gerekmektedir. Bu açıdan çoğu virüs benzeri partikel Baculovirüs sisteminde üretilmektedir. Baculovirüs ekspresyon sistemi böcek insekt temelli bir sistemdir ve birtakım avantajlara sahiptir. Bunlar kolay manipüle edilebilir olmaları, böcek temelli bir sistem olduğu için memeli hücre temelli sistemlerde gelişen fırsatçı patojenlerin bu sistemde görülmemesi, hücre çekirdeğinden ekstrakte edilmeleri olarak sıralanabilir.102 Ayrıca bu ekspresyon sisteminde istenilen protein çok yüksek miktarda düzeyde elde edilebilmektedir. Yapısal olarak basit virus benzeri partikeller matür virüs partikellerinin taşıdığı major kapsid proteinlerinin vektör sisteminde ekspresse edilmesiyle oluşturulur. Örn; Papillomaviruslar, Parvoviruslar, Caliciviruslar, Circoviruslar, Polyomaviruslar zarsız ve bir adet major yapısal proteine sahip virüslerdir. Bu virüslerin içinde en iyi tanımlanmış olanı ve en başarılı aşılama oranına sahip olanı Papillomavirüslerdir. Bu aşılama major kapsid proteini L1'in fazlaca ekspresyonu ile üretilirler. Bu partikeller yüksek immunojeniteye sahiptir ve iyi bir B ve T hücre cevabı oluştururlar.

Parvovirüsler için yapılan bir araştırmada Canine Parvovirüs VP2 geninin fazlaca ekspresyonu ile üretilen aşı köpeklerde yüksek koruyuculuk göstermiştir (Casal, 1999). Zarlı virüs ailelerinden virüs benzeri partikeller elde etmek için farklı yollar izlenmelidir. Söz konusu virüsler için ekspresyon sisteminin doğru seçilmesi önemlidir. Örn; Hantaan virüs VLP'leri memeli hücre temelli ekspresyon sistemlerinde yüksek oranda elde edilebilen, böcek temelli sistemlerde istenilen düzeyde elde edilemeyen virüslerdir. Bu tür virüs ailelerinde Virüs benzeri partikel üretmek için hibridizasyon gerekli olabilir. Örn; Retrovirüsler için "gag" kapsid proteinini SIV'den (simian immunodeficiency virüs), zar proteinini HIV'den (Human Immunodeficiency virüs) almış hibrid virüs benzeri partikeller oluşturulmuş ve fare deneylerinde hem hücre sel hem humoral bağışıklığın etkili olarak uyarıldığı gözlemlenmiştir. Ayrıca Influenza A/Üdm/72 suşunda denendiği gibi aynı suşa ait birden fazla protein tek vektör üzerinde kullanılıp aşı geliştirme çalışmaları yürütülmüştür (Galarza, 2005). Bu amaçla Influenza virüs HA, NA ve M1 kapsid proteinleri kullanılarak rekombine edilmiş ve VLP'ler oluşturulmuştur. Baculovirüsler, ekspresyonu istenen proteinleri kodlayan DNA'yı taşıyan bir sistem olarak görev yapmaktadır. Gen bölgesi baculovirüsler tarafından böcek hücre çekirdeğine taşınmakta ve rekombinant proteinlerin ekspresyonu yapılmaktadır. Viral DNA'nın soyunması ve

replikasyonu çekirdekte olmaktadır. Daha sonra viral mRNA'ların transkripsiyonu gerçekleşmektedir. Neticede sitoplazmada rekombinant proteinlerin ekspresyonu gerçekleşip, toplanma meydana geldikten sonra virüs benzeri partikeller elde edilmiş olur. VLP'ler kullanılarak yapılan aşılama ile hem humoral hem de hücrel immun yanıt etkili bir şekilde uyarılmaktadır. Daha önceki yıllarda ve günümüzde yapılan çalışmalarda hedef kapsid proteinine karşı oldukça kuvvetli bir humoral yanıt IgG ve IgA yoluyla gerçekleşmektedir. Özellikle intranasal uygulamalar gibi mukozal yolla verildiklerinde IgA titresi daha yüksek seviyede gözlenmiştir. Ayrıca antijen işlenmesi ve sunumu mekanizmaları da etkili bir biçimde gerçekleştiğinden yüksek seviyede CTL ve CD4+ Th hücre uyarımı şekillenmektedir. Bunun sebebinin VLP'lerin MHC I ve MHC II'leri çok iyi bir biçimde stimüle etmeleri olduğu ortaya konmuştur. VLP'lerin aynı zamanda heterotipik immun yanıt sağladığı da bilinmektedir. Bu amaçla amaçla yapılan bir çalışmada 1918 (H1N1) Influenza VLP ile hazırlanan aşı daha sonra epruvasyon yapıldığında hem 1918 Influenza virüsüne karşı, hem de H5N1 virüsüne karşı koruma sağlamıştır (Matassov, 2007). Direkt immunojen olarak kullanılmalarının yanı sıra hücrel ve humoral immun yanıt uyardıkları için VLP'ler farklı epitoplara için taşıyıcı olarak kullanılabilir.

6. KAYNAKÇA

- Aiyer-Harini, P., Ashok-Kumar, H. G., Kumar, G. P., & Shivakumar, N. (2013). An overview of immunologic adjuvants-A review. *J Vaccines Vaccin*, 4(1), 1000167.
- Amanna, I. J., Messaoudi, I., & Slifka, M. K. (2008). Protective immunity following vaccination: how is it defined?. *Human vaccines*, 4(4), 316-319.
- Amalfitano, A., Hauser, M. A., Hu, H., Serra, D., Begy, C. R., & Chamberlain, J. S. (1998). Production and characterization of improved adenovirus vectors with the E1, E2b, and E3 genes deleted. *Journal of virology*, 72(2), 926-933.
- Amblard, M., Fehrentz, J. A., Martinez, J., & Subra, G. (2006). Methods and protocols of modern solid phase peptide synthesis. *Molecular Biotechnology*, 33, 239-254.
- Bazin, H., & Jenner, E. (2000). *The eradication of smallpox*. London: Academic Press.
- Barnard, R. T. (2010). Recombinant vaccines. *Expert Review of Vaccines*, 9(5), 461-463.
- Braun, R. P., Babiuk, L. A., & Loehr, B. I. (1999). Particle-mediated DNA immunization of cattle confers long-lasting immunity against bovine herpesvirus-1. *Virology*, 265(1), 46-56.
- Casal, J. I. (1999). Use of parvovirus-like particles for vaccination and induction of multiple immune responses. *Biotechnology and applied biochemistry*, 29(2), 141-150
- Cattle, E. I. (2004). Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (CVMP).
- Chambers, A. C., Aksular, M., Graves, L. P., Irons, S. L., Possee, R. D., & King, L. A. (2018). Overview of the baculovirus expression system. *Current Protocols in Protein Science*, 91(1), 5-4
- Delany, I., Rappuoli, R., & De Gregorio, E. (2014). Vaccines for the 21st century. *EMBO Molecular Medicine*, 6(6), 708-720.
- De Cerio, A., Zabalegui, N., Rodriguez-Calvillo, M., Inoges, S., & Bendandi, M. (2007). Anti-idiotypic antibodies in cancer treatment. *Oncogene*, 26(25), 3594-3602.
- Donnelly, J. J., Friedman, A., Martinez, D., Montgomery, D. L., Shiver, J. W., Motzel, S. L., ... & Liu, M. A. (1995). Preclinical efficacy of a prototype

- DNA vaccine: enhanced protection against antigenic drift in influenza virus. *Nature Medicine*, 1(6), 583-587.
- Dunham, S. P. (2002). The application of nucleic acid vaccines in veterinary medicine. *Research in Veterinary Science*, 73(1), 9-16.
- Ertl, H. C. (2016). Viral vectors as vaccine carriers. *Current Opinion in Virology*, 21, 1-8.
- Freuling, C. M., Müller, T. F., & Mettenleiter, T. C. (2017). Vaccines against pseudorabies virus (PrV). *Veterinary Microbiology*, 206, 3-9.
- Galarza, J. M., Latham, T., & Cupo, A. (2005). Virus-like particle (VLP) vaccine conferred complete protection against a lethal influenza virus challenge. *Viral Immunology*, 18(1), 244-251.
- Gross, C. A., Chan, C., Dombroski, A., Gruber, T., Sharp, M., Tupy, J., & Young, B. (1998, January). The functional and regulatory roles of sigma factors in transcription. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 63, pp. 141-156). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Gurunathan, S., Klinman, D. M., & Seder, R. A. (2000). DNA vaccines: immunology, application, and optimization. *Annual Review of Immunology*, 18(1), 927-974.
- Hilleman, M. R. (2000). Vaccines in historic evolution and perspective: a narrative of vaccine discoveries. *Vaccine*, 18(15), 1436-1447.
- Kayser, V., & Ramzan, I. (2021). Vaccines and vaccination: History and emerging issues. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 17(12), 5255-5268.
- Matassov, D., Cupo, A., & Galarza, J. M. (2007). A novel intranasal virus-like particle (VLP) vaccine designed to protect against the pandemic 1918 influenza A virus (H1N1). *Viral Immunology*, 20(3), 441-452.
- McAleer, W. J., Buynak, E. B., Maigetter, R. Z., Wampler, D. E., Miller, W. J., & Hilleman, M. R. (1984). Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature*, 307(5947), 178-180.
- Meeker, T. C., Lowder, J., Maloney, D. G., Miller, R. A., Thielemans, K., Warnke, R., & Levy, R. (1985). A clinical trial of anti-idiotypic therapy for B cell malignancy. *Blood*, 65(6):1349-63.
- Minor, P. D. (2015). Live attenuated vaccines: Historical successes and current challenges. *Virology*, 479, 379-392
- Mittelman, A., Chen, Z. J., Yang, H., Wong, G. Y., & Ferrone, S. (1992). Human high molecular weight melanoma-associated antigen (HMW-MAA) mimicry by mouse anti-idiotypic monoclonal antibody MK2-23: induction of humoral anti-HMW-MAA immunity and prolongation of

- survival in patients with stage IV melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(2), 466-470.
- Pead, P. J. (2006). Benjamin Jesty: the first vaccinator revealed. *The Lancet*, 368(9554), 2202
- Pearce, E. J. (2005). Priming of the immune response by schistosome eggs. *Parasite Immunology*, 27(7-8), 265-270.
- Pfaff, E., Thiel, H. J., Beck, E., Strohmaier, K., & Schaller, H. (1988). Analysis of neutralizing epitopes on foot-and-mouth disease virus. *Journal of virology*, 62(6), 2033-2040
- Plotkin, S. A. (2005). Vaccines: past, present and future. *Nature Medicine*, 11(Suppl 4), 5-11.
- Reddehase, M. J., Rothbard, J. B., & Koszinowski, U. H. (1989). A pentapeptide as minimal antigenic determinant for MHC class I-restricted T lymphocytes. *Nature*, 337(6208), 651-653.
- Smith, K. A. (2012). Louis Pasteur, The father of immunology? *Frontiers in Immunology*, 3, 68.
- Sprent, J. (1995). Antigen-presenting cells: professionals and amateurs. *Current Biology*, 5(10), 1095-1097.
- Tovey, M. G., & Lallemand, C. (2010). Adjuvant activity of cytokines. *Vaccine Adjuvants: Methods and Protocols*, 287-309.
- Vogel, F. R., & Sarver, N. (1995). Nucleic acid vaccines. *Clinical Microbiology Reviews*, 8(3), 406-410.
- Wareing, M. D., & Tannock, G. A. (2001). Live attenuated vaccines against influenza; an historical review. *Vaccine*, 19(25-26), 3320-3330.
- Wolff, J. A., Dowty, M. E., Jiao, S., Repetto, G., Berg, R. K., Ludtke, J. J., ... & Slautterback, D. B. (1992). Expression of naked plasmids by cultured myotubes and entry of plasmids into T tubules and caveolae of mammalian skeletal muscle. *Journal of Cell Science*, 103(4), 1249-1261
- Zaiss, A. K., & Muruve, D. A. (2005). Immune responses to adeno-associated virus vectors. *Current Gene Therapy*, 5(3), 323-331.a

BÖLÜM 11

KEDİ VE KÖPEKLERDE KERATOKONJUKTİVİTİS SIKKA HASTALIĞI VE SAĞALTIM SEÇENEKLERİ

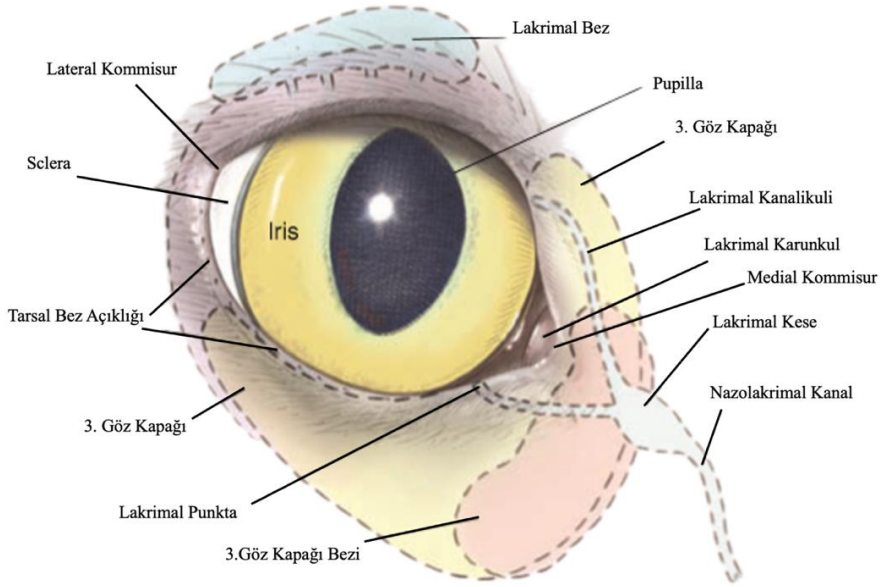
Dr. Öğr. Üyesi Osman BULUT¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402049>

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Milas Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Cerrahi Ana Bilim Dalı, Muğla, Türkiye, obulut@mu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-2773-8243

1.GİRİŞ

Göz küresine aynı zamanda bulbus okuli denir (Dursun, 2000). Bulbus okuli; orbita adı verilen kemik çukurluk içinde, gözün kasları, fasyası, yağ dokusu, konjunktiva, nazolakrimal sistem, sinirler ve damarlar gibi ekstraoküler unsurlarla birlikte bulunmaktadır. Ön ve arka kamera olarak göz iki ana bölüme ayrılır. Ön segment, konjunktiva, kornea, ön kamera, iris, pupilla, siliyer cisim ve lensi içerirken; arka segment, vitreus, koroidea, retina ve optik sinir başını içerir (Arffa, 1997; Gelat, 2000; Akın ve Samsar, 2001). Göz üç katmana ayrılır, bu katmanlar; sclera ve korneayı içeren tunica fibrosa bulbi; choroidea, korpus ciliare ve irisi içeren tunica vasculosa bulbi; retinayı içeren tunica interna bulbi'dir (Gelat, 2000).



Şekil 1. Gözde yer alan oluşumların anatomik bölgeleri (Anonim).

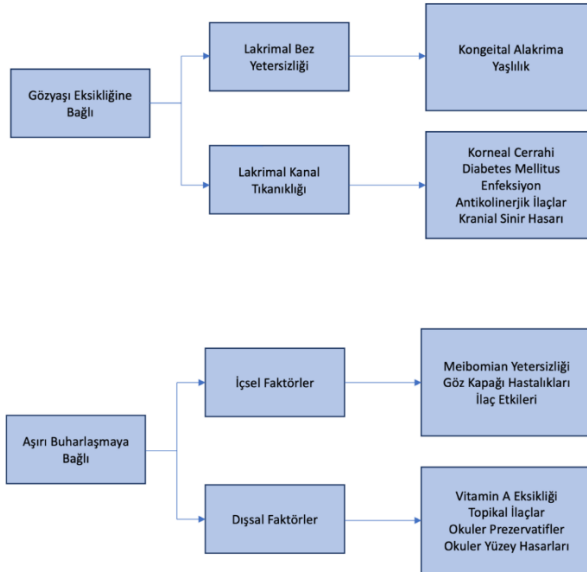
Kedilerde ve köpeklerde, iki adet lakrimal bez bulunmaktadır. Bu bezler, glandula niktitans ve glandula lakrimalis olarak adlandırılır. Glandula niktitans, membrana niktitans'ın bir parçasıdır ve üçüncü göz kapağının vertikal kıvrımda etrafında konumlanmıştır. Glandula lakrimalis ise, orbital ligamentin lateralinde ve frontal kemiğin processus zygomaticus'u altında bulunur (Kaswan, 1994) (Şekil 1). Gözyaşı tabakası, lakrimal sistemin önemli bir bileşeni olup, gözle ilgili birçok bezin ortak salgılarının karışımından oluşan bir sıvıdır. Kornea ve konjunktivayı bir zar gibi çevreleyen gözyaşı tabakasının her katmanı, farklı bir kompozisyon ve işlevle karakterizedir (Severin, 1986). Gözyaşı tabakası, göz ile ilgili birçok bezin ortak salgılarının karışımından

oluşan 3 katmanlı bir sıvıdır. (Whitley ve ark., 1991). Gözyaşının göz kapaklarından dışarı çıkmasını engelleyen en dıştaki superfisial katman, Zeis ve Meibomian bezleri tarafından salgılanır (İzci, 1995). Konjunktival yüzeylerden yabancı cisimlerin uzaklaştırılmasını sağlayan aköz ya da orta katman, lakrimal ve 3. göz kapağı bezinin salgılarının bileşiminden oluşmaktadır. En içteki mukoid katman ise konjunktival goblet hücreleri tarafından salgılanır (Williams, 2017).

Keratokonjunktivitis sikka (KKS); asıl lakrimal bezler ve yardımcı lakrimal yapıların disfonksiyonları ile birlikte gözyaşı aköz katmanının yetersiz sekresyonuna bağlı olarak ortaya çıkan, kornea ve konjunktivadaki progresif yangısal değişikliklerle karakterize, multifaktöriyel oftalmik bir bozukluktur (Kulualp ve Kılıç, 2012).

2. ETİYOLOJİ

Hastalık daha çok aköz katmana bağlı prekorneal gözyaşı tabakasının yetersizliği sonucu meydana gelmektedir (Kaswan ve Salisbury, 1990). KKS'nin oluşumunda; çevresel ve hormonal faktörler, ilaç uygulamaları ve hayvanın eşgali gibi birçok faktör rol oynamaktadır (Sullivan ve ark., 2002) (Şekil 2).



Şekil 2. Keratokonjunktivitis sikka nedenleri ve risk faktörlerinin şematik olarak değerlendirilmesi.

Köpeklerin kedilere, yaşlıların gençlere, dişilerin erkeklere göre KKS'ye yakalanma oranı daha yüksektir (Schaumberg ve ark., 2001). Birçok köpek ve

kedilerinde KKS sporadik olarak şekillenmektedir. Shih Tzu, Golden Retriever, Terrier ırkları, Chow Chow English Bulldog, Lhasa Apso, Pug, American Cocker Spaniel, Pekinese, Shih Tzu, American Cocker Spaniel ve Miniature Schnauzer gibi köpek ırkları ise predispoze ırklar olarak kabul edilmektedir (Alkan ve Esin, 2017). Köpeklerde diabetes mellitus, hipotiroidizm, hipoadrenokortizm gibi endokrinopatiler ile distemper gibi bazı viral hastalıklar sonucunda KKS oluşabilmektedir. Çok sayıda kornea, konjunktiva ve göz kapağı hastalıklarıyla radyasyon tedavisi, otoimmün hastalıklar ve kemik iliği transplantasyonu gibi faktörler, KKS'nin başka önemli nedenleri arasında yer almaktadır (Sullivan ve diğerleri, 2002). Bazı ilaç ve anesteziğin de gözyaşı sekresyonunda azalmaya neden olabileceği ileri sürülmektedir. Bunlar arasında furosemid gibi diüretikler ve bazı antihistaminikler ile atropin, xylazine, diazepam, gibi anestezi ilaçları sayılabilmektedir (İzci, 1995). Kranial travmalar, açık ve kapalı mandibula kırıkları, gözyaşı sekresyonuna katılan bezlerin cerrahi yöntemlerle uzaklaştırılması, fasial sinir yaralanma ve felçleri ile gözyaşı sekresyonuna katkı sağlayan yapıların neoplazileri KKS'ye neden olmaktadır (Alkan ve Esin, 2017). Düşük bağıl nem ve ortam sıcaklığının artması gibi evaporatif stres faktörlerinin, gözyaşı üzerinde olumsuz bir etki bırakarak KKS'yi aktive ettiği iddia edilmektedir (Kjaergaard ve ark., 2004; Wolkoff ve Kjaergaard, 2007). A vitamini eksikliğinin, lakrimal bezde hasara neden olarak goblet hücrelerinin gelişimini bozabildiği ve bu durumun KKS'ye yol açabileceği bilinmektedir (Bennett 1969; Boussemart 1974; Perry, 2008).

3. PATOGENEZ

KKS'nin patogeneğinde, gözyaşı miktarı, döngüsü, akışı ve osmolaritesi kilit bir rol oynamaktadır. Gözyaşının azalması, döngüsündeki düzensizlik ve akışındaki problemler, osmolariteyi artırarak oküler yüzeydeki yangısal yolları aktive eder. Bu durum, hiperosmolarite, evaporatif stres, ve yangı öncesi sitokinlerin konsantrasyonlarında artışa ve göz kırpma anormalliklerine neden olabilir (Kulualp ve Kılıç, 2012). Bu sitokinler lakrimal bezlerin hem sinyallerini inhibe eder hem de bezin koruyucu etkilerini bozarak, ilerleyici hasarlara yol açarlar. Tüm bu olayların neticesinde yangı hücreleri ve sitotoksinler sekretorik bezlere, konjunktiva ve korneaya infiltre olarak epitel hücrelerde skuamoz metaplazi gelişimine sebep olurlar. Zamanla korneal epitelindeki yangı ilerler ve yangı hücrelerinin korneal stromaya infiltrasyonu vaskularizasyon, pigmentasyon ve ülser şekillenir. Böylece bu kısır döngü lakrimal sekretorik bezlerin ve gözyaşının, göz yüzeyini koruyucu etkilerini de bozarak gözde ilerleyici ve kalıcı yıkımlanmalara yol açar (Alkan ve Esin, 2007).

4. KLİNİK GÖRÜNÜM

KKS'nin klinik bulguları birçok faktöre göre değişiklik göstermektedir. (Akın ve Samsar, 2005). Hastalığın tipik klinik bulgusu konjuktival hiperemi ve korneal epitelyuma yapışan mukopurulent nitelikli mukoid akıntıdır (Gelatt ve Gwin, 1981) (Şekil 3). Hasta sahipleri anamnezde petlerinin keyifsiz, hareket etmekte ve verilen komutu yerini getirmede isteksiz, gözde kızarıklık, çapaklanma ve patileriyle gözünü sürekli kaşıma isteği gibi şikayetleri belirtmektedirler (Alkan ve Esin, 2017). Hastalık gözyaşı tabakasının osmolalitesinin artmasına ve gözyaşı sekresyonunun önemli ölçüde azalmasına; bunun sonucunda blepharospazm, konjunktivitis, keratitis ve sekonder korneal ülserasyonlara yol açmaktadır (Kaswan, 1994). KKS'nin başlangıç döneminde; konjuktivada kızarıklık ve yapı değişiklikleri dikkati çeker. Korneanın periferinde ödem ve vaskularizasyon gözlenmektedir. Işığa karşı duyarlık ve blefarospazm bu dönemde görülen belirgin semptomlardandır (Calogne, 2001). Hastalığın ilerlemesiyle birlikte, aşırı göz kırpma, göz çevresinde kabuklanma, hiperemi, konjunktivit, episkleral ödem ve kapillar damarlarda konjesyon gibi çeşitli semptomlar ortaya çıkar. Bunun yanı sıra, korneal ülserasyon, korneal yüzeyde kalınlaşma, skar doku oluşumu, opasite gibi belirtiler de gözlemlenebilir; bu durum bazen körlüğe kadar ilerleyebilir (Kulualp ve Kılıç, 2012).



Şekil 3. (A) Bir kedide KKS olgusu, (B) bir köpekte KKS olgusu (Anonim).

Hastalık kronik hale geçtikten sonra konjunktivitis ve keratitisin kronik semptomları göze çarpmaktadır. Kornea parlaklığını kaybeder ve uzun süreli olgularda göz kapaklarının kornea üzerine yapıştığı gözlenmektedir. (Nell ve ark., 2005). Küçük süperfisyal ülserler, yüzlek damarlaşma, aşırı pigmentasyon, kornea üzerinde lekeler ve enophtalmitis bu dönemde görülmektedir (Kaswan ve Salisbury, 1990).

5. TANI

Her hastalıkta olduğu gibi KKS’de tanıya yaklaşım için klinik muayene sırası ve sonrası uygulanabilecek birçok test vardır. Hastada mevcut klinik

belirtiler arasında blefarospazm, konjunktival hiperemi, mukopurulent keratokonjunktivitis, korneada vaskulerizasyon, pigmentasyon ve ülserasyon görülmesi önemli ipuçlarındandır. Ayrıca, hastanın öyküsünde KKS ile ilişkili sistemik hastalıkların bulunması nedeniyle nonspesifik semptomlar da sorgulanabilir (Best ve ark., 2014). Bu amaçla, oküler boyama, aköz gözyaşı üretim miktarı, gözyaşı kırılma zamanı, gözyaşı osmolaritesi, gözyaşı fluorescein temizlenme testleri ve goblet hücre dansitesi gibi diagnostik testlerden yararlanılmaktadır (Lim ve Cullen, 2005).

KKS'nin teşhisinde fluorescein sodyum, rose bengal ve lissamine green gibi oküler yüzey boyaları rutin olarak kullanılmaktadır (Barabino ve ark., 2004). Bu amaçla slitlamp biyomikroskopta mavi filtre altında floresan yeşili bir renkte görünen ve defektli korneal epitel hücrelerinin boyanmasını sağlayan florescein sodyum testi, kullanılan oküler boyama yöntemlerindedir (Savini ve ark., 2008). Rose bengal testi ise ölmüş veya dejenere olmuş hücrelerin kırmızı renge boyanmasına sebep olmaktadır (Vashisht ve Singh, 2011). Lisamine Green ise yalnızca hasara uğramış hücreleri boyamaktadır (Hamrah ve ark., 2011).



Şekil 4. Bir köpekte schirmer gözyaşı testi 1 uygulaması (Woodham-Davies, 2020).

Prekorneal gözyaşı filmi (PGF) stabilitesinin değerlendirilmesinde Gözyaşı Kırılma Zamanı Testleri (GKZT) rutin olarak kullanılmaktadır (Savini ve ark., 2008). KKS'li ve meibomian bez disfonksiyonlu hastalarda kullanılan bu testte, göze fluorescein uygulanmasını takiben iki göz kırpma zamanı arasında oküler yüzeyde noktasal kuruluklarının ilk tespiti yapılmaktadır (Barabino ve ark., 2004). Kırılma alanları, slitlamp biyomikroskop altında belirlenir. GKZT'nin normal değeri 27 saniye iken, 5 saniyenin altında hastalık oluşmaktadır (Kuluoğlu ve Kılıç, 2012).

Gözyaşı osmolaritesi, hastalık için önemli bir belirteçtir (Baenninger ve ark., 2018). Hayvanlarda 400-600 mOsM/kg olduğu tespit edilen gözyaşı osmolaritesi, KKS'li hayvanlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu testte gözyaşı örneği mikropipetlerle alınır ve osmometre ile ölçülür (Liu ve ark., 2009).

Hayvanlarda gözyaşı üretim miktarı Schirmer gözyaşı testi (ŞGT) ve fenol kırmızısı pamuk ipliği (FKPT) testleri ile ölçülebilmektedir (Savini ve ark., 2008). Schirmer gözyaşı testinin hayvanlarda uygulanması kolay, hızlı ve ucuz bir yöntemdir. Kornea'da herhangi bir lezyon oluşmaksızın oftalmik muayenelerde standart olarak bu testlerden faydalanılmaktadır. Testler Schirmer test 1 ve Schirmer test 2 şeklinde uygulanmaktadır. Schirmer test 1 korneaya lokal anestezi uygulamadan gerçekleştirilen bir yöntem iken, Schirmer test 2 lokal anestezi ile gerçekleştirilen bir yöntemdir (Şekil 4). Gözyaşı miktarının subjektif değerlendirilmeleri bazal ve refleks sekresyon miktarları göz önüne alınarak değerlendirilmesi gerektiğinden ve Schirmer test 2 uygulamalarında refleks sekresyon meydana gelmediğinden dolayı klinik uygulamalarda Schirmer 1 gözyaşı test değerleri esas alınır (Akin ve Samsar, 2005). Schirmer gözyaşı testi göze diğer herhangi bir tanısız ve tedavisel girişimler gerçekleştirilmeden yapılması gerekmektedir (Barabino ve ark., 2004). Test için standart gözyaşı test striptlerinin 0.5 cm'lik kısmı kıvrılarak alt göz kapaklarının konjunktival boşluğuna yerleştirilerek 1 dakika süre ile beklenir. Bir dakika sonra gözyaşı miktarı, test striptinin kıvrılan kısmından milimetre olarak ölçülmesiyle tespit edilir. Köpeklerde normal değerler 13-24 mm/dk'dır. Sonucun 5-8 mm/dk olması KKS şüphesini akla getirirken, 5 mm/dk'dan az olması KKS tanısını kesinleştiren bir değerdir (Lim ve Cullen, 2005). Fenol kırmızısı pamuk ipliği testi (FKPT) ise 75 mm uzunluğundaki pH indikatörü olan fenol kırmızısı şerit uç kısmından 3 mm bükülerek 15 saniye süreyle alt konjunktival forniksın lateral kantusuna yerleştirilir ve alkalik gözyaşı sıvısının absorpsiyonu, iplikte sarıdan kırmızıya bir renk değişimine neden olur (Vashisht ve Singh, 2011). İşlem sonrası boyanan kısım kutu üzerindeki skala ile ölçülür ve 10 mm'den düşük değerler, aköz yetersizliğin göstergesi olarak düşünülür (Şındak ve ark., 2010).

KSS'nin teşhisinde kullanılan bir diğer yöntem de gözyaşındaki bazı enzimlerin azalmasının tespiti ile ortaya konulmaktadır. Bu enzimlerden biri lizozimdir. Lizozim lakrimal hücrelerden salgılanan bir enzimdir. (Barabino ve ark., 2004). Lizozim ölçümü için schirmer kağıtları kullanılır. Bu kağıtlar micrococcus lysodekticus ekilmiş agar üzerine yerleştirilerek örneği çevreleyen lizis alanı spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (Vashisht ve Singh, 2011).

Raporlara göre, impresyon sitolojisi, konjunktival epiteldeki hücresel düzeydeki değişiklikleri tanımlamak ve izlemek için güvenli, güvenilir ve invazif olmayan bir tekniktir. Konjunktival yüzeyden alınan epitel örnekleri kullanılarak, bu prosedür goblet hücre yoğunluğunu, nükleus sitoplazma

oranını ve epitel hücre morfolojisini belirler ve oküler yüzeyin sağlığı hakkında bilgi sağlar (Eördögh ve ark., 2015).

6. SAĞALTIM

KKS'nin tedavisinde; etiyolojik ve patognomik faktörlerin ortadan kaldırılması, semptomların giderilmesi, oküler reepitelizasyonun sağlanması ve olası komplikasyonların önlenmesi hedeflenmektedir (Williams, 2017). Bu amaçla; azalan gözyaşının etkilerini gidermeye yönelik yapay gözyaşı preparatları, sekonder enfeksiyonları elimine etmek adına antibiyotikler, kornea ve konjunktivadaki yangıyı gidermek için kortikosteroid ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, gözyaşı sekresyonunu uyaran gözyaşı stimulantları, oluşan mukus tabakasını dağıtmaya yönelik mukolitik ilaçlar ve vitamin A preparatları ile siklosporin, takrolimus gibi medikal uygulamalar gerçekleştirilirken bunların yetersiz geldiği durumlarda cerrahi sağaltıma da başvurulmaktadır (Matsuda ve Koyasu, 2000).

5.1. Medikal Sağaltım

Yapay gözyaşı preparatları, oküler yüzeyin nemlenmesini artırarak hidrasyonu desteklemek, gözyaşı eksikliğine bağlı oluşabilecek komplikasyonları önlemek, bu bileşenlerin eksikliğini telafi etmek, yangı öncesi maddelerin dilüsyonunu sağlamak, gözyaşı osmolaritesini azaltmak ve gözü osmotik strese karşı koruyarak hastalığın semptomlarını hafifletme gibi görevlere sahiptir (Lemp, 2008). Bunların normal gözyaşının yerini tutmaları oldukça zordur. Bu nedenle yapay gözyaşı uygulamalarının yararlı olabilmesi için en geç her 4 saate bir lokal olarak uygulanması gerekmektedir (Wilkie, 1993). Bunlar dışında kornea ve konjunktivada ıslaklık ve nemliliği sürekli sağlayabilmesi için son yıllarda konjunktival alt keseye yerleştirilen ve belirli sürelerde suni gözyaşı salgılayan pelet şeklinde preparatlar da mevcuttur. Bu tür preparatların, uzun süre damla uygulaması gerektiren durumlarda faydalı olduğu kabul edilmektedir (Whitley ve ark., 1991).

Gözyaşı sekresyonu eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan lizozim yetersizliği, kornea ve konjunktivada sekonder enfeksiyonların oluşmasına zemin hazırlamaktadır (Best ve ark., 2014). KKS'de oluşan sekonder enfeksiyonlarda mikrobiyal aktivite skalası çok geniştir. Bu nedenle tedavide geniş spektrumlu antibiyotik tercih edilirken, bu antibiyotikler 6-8 saat ara ile 14-21 gün boyunca topikal olarak kullanımı gerekmektedir (İzci, 1995). Belirtilerin tamamen ortadan kalkmadığı ya da azalmadığı durumlarda mikrobiyel kültür yapılmalı ve bunun sonucuna göre antibiyotik seçimine karar vermek gerekmektedir (Trepanier ve ark., 2003).

Tacrolimus, doku reddini önlemek için geliştirilmiş *Streptomyces tsukubaensis* türünden izole edilmiş makrolit grubu bir antibiyotiktir. Lokal

immunsupresyon, goblet hücre proliferasyonu, lakrimal hücre apoptozisinde supresyon ve antienflamatuvar etkinliğe sahiptir (Zulim ve ark., 2018). İmmunmodüler etkinliği siklosporine benzemekle beraber moleküler ağırlığı nedeniyle daha fazla potansiyel etkiye sahiptir (John ve ark., 2018). İlacın günde 1 kez 2 ay süreyle kullanımı, gözyaşı miktarını artırırken, kronik KKS ile ilişkili pigmentasyon, keratit gibi klinik bulguları ise azalttığı belirtilmektedir (Best ve ark., 2014)

KKS'nin patogenezi içinde yangısal süreç anahtar rol oynadığından kortikosteroidler gibi güçlü anti-inflamatuvar ajanlar kornea ve konjunktivadaki yangıyı tedavi etmek adına sıklıkla kullanılmaktadır (Yang ve ark., 2006). KKS olgularında kortikosteroidlerin lokal olarak kullanılmasıyla keratit veya konjunktivit bulguları ortadan kalkmaktadır (Wilkie, 1993). Fakat kortikosteroidlerin doz aşımaları, kullanım şekli ve süresi ile ilaç seçimlerinde yapılan yanlışlıklar tedavinin yararlarını azaltmaktadır. Özellikle KKS'li köpeklerde sıklıkla kornea ülseri şekillenmekte ve kortikosteroidler var olan korneal ülserin daha da büyümesine neden olmaktadır. Bu nedenle kortikosteroid kullanımına dikkat edilmesi gerekmektedir (İzci, 1995).

Oküler yangıyı azaltmak için NSAİD'ler sıklıkla tercih edilmektedir. Alerjik konjunktivit semptomlarının azaltılması, operasyon sırasında meydana gelen miyozisin önlenmesi, operasyon süresince oküler yangı ile katarakt cerrahisine ilişkin komplikasyonların azaltılmasına kadar birçok kullanım alanı vardır (Kulualp ve Kılıç, 2012). NSAİD'lerin, steroid tedavisinden kaynaklanan potansiyel komplikasyonlarından sakınmak için özellikle KKS gibi hastalıkların tedavisinde alternatif olarak kullanılması önerilmektedir (Savini ve ark., 2008).

Kolinerjik veya parasempatomimetik etkiye sahip ilaçlar topikal yollarla kullanıldığında gözyaşı volümü ve sekresyonunu hızlı bir şekilde artırmaktadır. Bu amaçla pilokarpin, carbachol, bromhexin, elodoisin, bethanecol gibi çeşitli ajanlar kullanılmaktadır (Wilkie, 1993). Ayrıca KKS'nin seyri sırasında oluşan göz kapaklarındaki çapaklanma ve aşırı mukusu dağıtmak için asetil sistein gibi mukolitiklerden yararlanılmaktadır (Alkan ve Esin., 2017). Genellikle suni gözyaşlarıyla beraber kullanılan asetilsistein, mukoid yapıyı da yıkımlayıp uzaklaştırdığından dolayı korneada sekonder lezyonlara sebep olabilmektedir. Bu nedenle aşırı çapaklanma ve mukus oluşumu problemlerinde kullanılması gerekiyorsa uygulama günde en fazla 2 kez ve 2 hafta süreyle sınırlandırılması gerekmektedir (İzci, 1995).

Siklosporin, yardımcı T-lenfositlerin aktivitesini engelleyen, immunosupresif ve hormonal etkiye sahip, kronik yangılar üzerinde etkili, gözyaşı sekresyonunu uyaran nonsitotoksik immunosupresant bir ilaçtır (Parilha ve ark., 2015). Siklosporinin lokal olarak göze kullanımının, aköz gözyaşı üretimi ve konjunktival goblet hücre dansitesinin artmasına ve epitelyal

hasarın azalmasına sebep olmaktadır (Tatlipinar ve Akpek, 2005). KKS'nin tedavisinde siklosporinin %0.2'lik oftalmik pomat veya %1-2'lik oftalmik solüsyonunun günde 1-2 kez lokal damla şeklinde kullanılmasının klinik bulguları azalttığı, gözyaşı sekresyonu üzerine ise pozitif etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Williams, 2017). Cerrahi olarak uygulanan episkleral siklosporin uygulamalarının KKS belirtilerini cerrahi prosedürden 24 saat sonra azalttığı ve 8-9 günlük süreçte tüm klinik belirtileri yok ettiği bildirilmektedir. Bu amaçla üst bulbar konjunktiva boyunca yapılan korneal ensizyonla kese içerisine siklosporin implantları yerleştirilerek işlem gerçekleştirilmektedir (Mackenzie ve ark., 2016).

KKS'de, lokal olarak Vitamin A ve retinoik asitin suni gözyaşı preparatları ve antibiyotiklerle birlikte kullanılması gerektiği ve bu kombinasyonun klinik semptomları azalttığı belirtilmektedir. Etiyolojide hipovitaminoz A durumlarında lokal A vitamini uygulamalarının sonuçları net olarak aydınlatılamamıştır. Klinik pratik kullanımında %0.01'lik Vitamin A ihtiva eden oftalmik bir preparatın suni gözyaşı ve antibiyotikle birlikte, 2 hafta süreyle günde 3-4 kez, sonraki iki hafta günde en fazla 2 kez uygulanması önerilmektedir (Calonge, 2001).

Trombosit açısından zengin plazma (PRP), elde edilen bir yan üründür kan plazmasından elde edilir, doku yenileyici ve büyüme faktörleri içerdiği için onarıcı özellikler trombositler, sitokinler, integrinler ve A vitamini, plazma, başta trombosit alfa granülleri olmak üzere kanda sentezlenen biyoaktif proteinler açısından zengindir. İmmunomodülatör bir işlevi vardır, kolayca elde edilebilir ve kullanılabilir ve ucuzdur. Kuru göz hastalığı olan hastalarda, enjekte edilebilir PRP ile tedavi, gözyaşı üretimini artıran, görme keskinliğini iyileştiren ve kuru göz belirtilerini azaltan etkili bir tedavidir (Estanho ve ark., 2023).

5.2. Operatif Sağlıkım

Hayvanlarda KKS tedavisi için kullanılan cerrahi yöntemler arasında nazolakrimal punkta oklüzyonu, kalıcı kısmi tarsorafi ve parotis kanalı transpozisyonu yer almaktadır (Calonge, 2001). Kaswan ve Salisbury'ye (1990) göre, kalıcı kısmi tarsorafi göz kırpmayı azaltır, parotis bezi transpozisyonu salivasyon üretir ve nazolakrimal punkta oklüzyonu gözyaşı retansiyonuna neden olur. Tıbbi tedavilere yanıt vermeyen ilerlemiş KKS hastalarında parotis kanalı transpozisyonu düşünülmelidir (Whitley ve ark., 1991). Prosedür oral (kapalı) ya da lateral (açık) teknik kullanılarak gerçekleştirilir. Bu prosedürü seçmeden önce parotis kanalının kapasitesi ve bazal tükürük salgılama oranı hakkında kapsamlı bir araştırma yapılmalıdır. Parotis kanalının transpozisyonu, ağız ve burun mukozası kuru olan hayvanlar için

önerilmez. Çok fazla salya akması, yüz dermatiti, kalsiyum birikintilerinden kaynaklanan yüzeysel keratopatiler ve göze tükürük akışının azalması olası yan etkiler arasındadır (Bistner, 1992). Lateral cerrahi yaklaşım, parotis kanalını konjonktival forniksten geçen subkutan bir tünelden geçirerek konjonktival keseye nakletmeyi amaçlamaktadır. Oral cerrahi yaklaşımdaki tek farklılık oral insizyondur (Alkan ve Esin, 2017).

6. KAYNAKÇA

- Akın, F., Samsar, E. (2005). *Göz hastalıkları*. Medipress matbaacılık: Ankara.
- Alkan, F., Esin, E. (2017). Köpeklerde keratokonjunktivitis sikka. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 3(3), 157-163.
- Arffa, R.C. (1997). *Grayson's disease of the cornea*. Mosby, St. Louis.
- Baenninger, P.B., Voegeli, S., Bachmann, L.M., Faes, L., Iselin, K., Kaufmann, C., Thiel, M.A. (2018). Variability of tear osmolarity measurements with a point-of-care system in healthy subject systematic review. *Cornea*, 1-8.
- Barabino, S., Chen, W., Dana, M.R. (2004). Tear film and ocular surface tests in animal models of dry eye: uses and limitations. *Exp Eye Res*, 79, 613-621.
- Batista, A.S., Andrade, S.F. (2018). Comparison of the efficacy of 0.03% tacrolimus eye drops diluted in olive oil and linseed oil for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Arq Bras Oftalmol*, 81(4), 293-301.
- Bennett, J.E. (1969). The management of total xerophthalmia. *Arch Ophthalmol*, 81, 667-682.
- Best, L.J., Hendrix, D.V.H., Ward, D.A. (2014). Diagnosis & treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *TVP*, 16-22.
- Boussemart, J.F. (1974). *Contribution à l'étude de la techniquis detransposition du canal parotidien en vue du traitement des kératoconjunctivites sèches chez le chien* (Thèse Doctora). Vét Alfort, France.
- Bistner, S.I. (1992). Recent developments in comparative ophthalmology. *Compend Contin Educ Vet*, 14(10), 1304-1321.
- Calonge, M. (2001). The treatment of dry eye. *Surv Ophthalmol*, 45(2), 227-239.
- Dursun, N. (2000). *Veteriner Anatomi 3*. Ankara: Medisan.
- Eördögh, R., Schwendenwein, I., Tichy, A., Nell, B. (2015). Impression cytology: a novel sampling technique for conjunctival cytology of the feline eye. *Vet Ophthalmol*, 18(4), 276-284.
- Estanho, G.J.G., Passareli, J.V.G.C., Pando, L.D.S., Vieira, D.E., Nai, G.A., Santarém, C.L., Andrade, S.F. (2023). Comparison of topical 0.03% tacrolimus and homologous injectable platelet-rich plasma in the treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Vet World*, 16(1), 134-143.
- Gelatt, K.N. (1981). *Textbook of Veterinary Ophthalmology*. London: Elsevier.

- Gelat, K.N. (2000). *Essentials of veterinary ophthalmology*. London: Lippincott Wilkins.
- Hamrah, P., Alipour, F., Jiang, S., Sohn, J.H., Foulks, G.N. (2011). Optimizing evaluation of Lissamine Green parameters for ocular surface staining. *Eye (Lond)*, 25(11), 1429-1434.
- İzci, C. (1995). Köpeklerde keratokonjunktivitis sikka ve tedavisinde Yeni bir yaklaşım. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 11(2), 65-75.
- John, C., Gopinayhan, A., Singh, K., Sharma, P., Sowbharenaya, C., Sarangom, S.B. (2018). Clinical evaluation of topical tacrolimus ointment usage in different stages of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Turkish J Vet Anim Sci*, 42(4), 259-268.
- Kaswan, R.L., Salisbury, M.A. (1990). A new perspective on canine keratoconjunctivitis sicca. *Vet Clin North Am Small Anim*, 20(3), 583-613.
- Kaswan, R.L. (1994). Characteristics of a canine model of KCS: effective treatment with topical cyclosporine. *Adv Exp Med Biol*, 350, 583-594.
- Kjaergaard, S.K., Hempel-Jørgensen, A., Mølhøve, L., Andersson, K., Juto, J.E., Stridh, G. (2004). Eye trigeminal sensitivity, tear film stability and conjunctival epithelium damage in 182 non-allergic, non-smoking Danes. *Indoor Air*, 14(3), 200-207.
- Kulualp, K., Kılıç, S. (2012). Kuru göz sendromu. *Fırat Üniv Sağlık Bilim Vet Derg*, 26(2), 115-124.
- Lemp, M.A. (2008). Management of dry eye disease. *Am J Manag Care*, 14(3), 88-101.
- Liu, H., Begley, C., Chen, M., Bradley, A., Bonanno, J., McNamara, N.A., Nelson, J.D., Simpson, T. (2009). A link between tear instability and hyperosmolarity in dry eye. *IOVS*, 50(8), 3671-3689.
- Mackenzie, C.J., Carslake, H.B., Robin, M., Kent, R.J., Malalana, F. (2016). Episcleral cyclosporine A implants for the management of unilateral keratoconjunctivitis sicca in an 8-year-old mare. *ACVO*, 20, 79-83.
- Matsuda, S., Koyasu, S. (2000). Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology*, 47(2-3), 119-125.
- Nell, B., Walde, I., Billich, A., Vit, P., Meingassner, J.G. (2005). The effect of topical pimecrolimus on keratoconjunctivitis sicca and chronic superficial keratitis in dogs: results from an exploratory study. *Vet Ophthalmol*, 8(1), 39-46.
- Perry, H.D. (2008). Dry eye disease: pathophysiology, classification, and diagnosis. *Am J Manag Care*, 14(3), 579-587.

- Savini, G., Prabhawasat, P., Kojima, T., Grueterich, M., Espana, E., Goto, E. (2008). The challenge of dry eye diagnosis. *Clin Ophthalmol*, 2(1), 31-55.
- Schaumberg, D.A., Buring, J.E., Sullivan, D.A., Dana, R.M. (2001). Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. *JAMA*, 86(7), 2114-2119.
- Sullivan, D.A., Sullivan, B.D., Evans, J.E., Schirra, F., Yamagami, H., Liu, H., Richards, S.M., Suzuki, T., Schaumberg, D.A., Sullivan, R.M., Dana, M.R. (2002). Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. *Ann N Y Acad Sci*, 966, 211-222.
- Şındak, N., Kandemir, L., Yertürk, M., Biricik, H.S. (2010). Measurement of phenol red thread tear test in Arabian and through bred horses. *Vet. Ophthalmol*, 13(4), 219-221.
- Tatlipinar, S., Akpek, E.K. (2005). Topical ciclosporin in the treatment of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol*, 89(10), 1363-1367.
- Trepanier, L.A., Danhoff, R., Troll, J., Watrous, D. (2003). Clinical findings in 40 dogs with hypersensitivity associated with administration of potentiated sulfonamides. *J Vet Intern Med*, 17(5), 647-652.
- Vashisht, S., Singh, S. (2011). Evaluation of phenol red thread test versus Schirmer test in dry eyes: A comparative study. *Int J Appl Basic Med*, 1, 40-42.
- Whitley, R.D., McLaughlin, S.A., Gilger, B.C., Lindley, D.M. (1991). The treatment for keratoconjunctivitis sicca. *Vet Med*, 11, 1077-1093.
- Wilkie, D.A. (1993). Management of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Copmend Contin Educ Vet*, 15(1), 58-63.
- Williams, D. (2017). Canine Keratoconjunctivitis Sicca: Current Concepts in Diagnosis and Treatment. *J Clin Ophthalmol Opt*, 2(1), 101.
- Wolkoff, P., Kjaergaard, S.K. (2007). The dichotomy of relative humidity on indoor air quality. *Environ. Int*, 33(6), 850-857.
- Woodham-Davies, S. (2020). Keratoconjunctivitis sicca in dogs. *The Vet Nurse*, 11(1), 19-23.
- Yang, C.Q., Sun, W., Gu, Y.S. (2006). A clinical study of the efficacy of topical corticosteroids on dry eye. *J Zhejiang Univ Sci B*, 7(8), 675-678.
- Zulim, L.F.D.C, Nai, G.A., Giuffrida, R., Pereira, C.S.G., Benguella, H., Cruz, A.G., Foglia, B.T.D., Batista, A.D.S., Andrade, S.F. (2018). Comparison of the efficacy of 0.03% tacrolimus eye drops diluted in olive oil and linseed oil for the treatment of keratoconjunctivitis sicca in dogs. *Arq Bras Oftalmol*, 81(4), 293-301.

BÖLÜM 12

SÜTÇÜ SIĞIRLARDAN GENOMİK SELEKSİYON

Dr. Ali Osman TURGUT

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10402051>

1. GİRİŞ

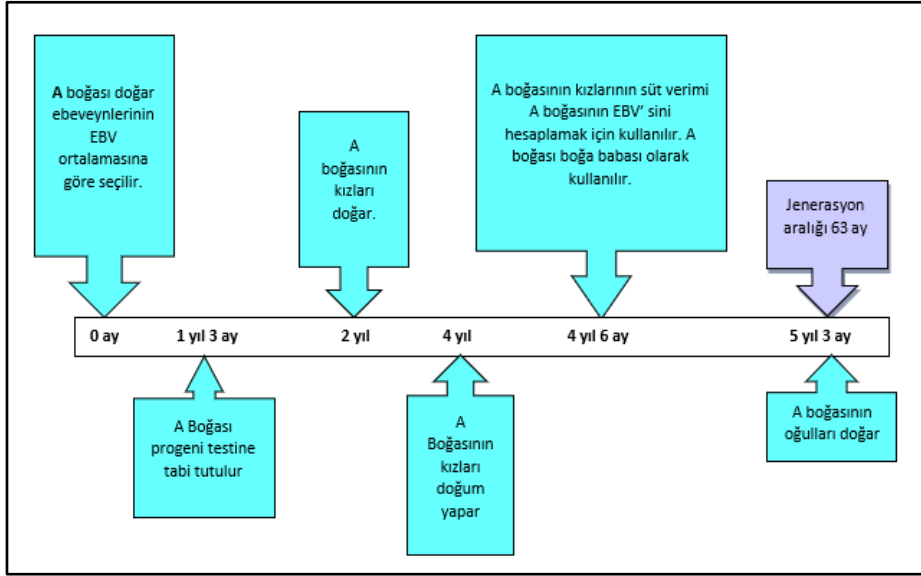
Sığır yetiştiriciliğinde farklı seleksiyon yaklaşımları ile sonraki jenerasyonlardan elde edilen verimin artırılması hedeflenmektedir. Bu anlamda geçmişten günümüze sütçü sığırlarda verim özelliklerinin iyileştirilmesi noktasında pek çok ilerleme kaydedilmiştir. (Eggen, 2012). Bu ilerleme genellikle hayvanların kendi fenotip verilerine dayalı fenotipik seleksiyon, anne baba ve büyük akrabalarının fenotipine dayalı pedigrî seleksiyonu ve yavru döllerin verimine bakılarak yapılan ve döl verimi kontrolü olarak da isimlendirilen progeni testi gibi yaklaşımlarla mümkün olmuştur (Zhang ve ark., 2011). Bu bağlamda özellikle progeni testi sütçü sığırlarda verim özelliklerinin iyileştirilmesi noktasında en önemli yöntemlerin başında gelmektedir (Eggen, 2012).

Hayvan ıslahında yaygın olarak kullanılan bu seleksiyon yaklaşımlarına ek olarak, moleküler biyoloji ve genetik alanında yaşanan gelişmeler sayesinde yeni seleksiyon yaklaşımları da geliştirilmiştir. Bu moleküler seleksiyon yaklaşımlarından ilki belirteç destekli seleksiyon (marker-assisted selection; MAS) fikridir. MAS yaklaşımında verim özelliklerini etkileyen genler üzerindeki genetik varyasyonlar tespit edilmekte ve bu varyasyonlar verim özellikleri ile ilişkilendirilmektedir (Eggen, 2012; Zhang ve ark., 2011). Sonuç olarak herhangi bir genetik varyasyon yönünden elde edilen genotiplerin seleksiyonda belirteç olarak kullanılması mümkün olabilmektedir. Klasik MAS yaklaşımlarında ilgili genetik varyasyonu içeren gen bölgeleri genellikle polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction; PCR) ile çoğaltıldıktan sonra farklı genotiplendirme yaklaşımları ile seleksiyonda fayda sağlayabilecek genotipler tespit edilmeye çalışılmaktadır (Williams, 2005). Teorik olarak MAS yaklaşımları ile seleksiyonun daha erken yaşlarda yapılabilme potansiyeli nedeniyle seleksiyon birim zamanda alınan yanıtın ve dolayısıyla genetik ilerleme hızının artabileceği düşünülebilir. Her ne kadar teorikte bu mümkün olsa da klasik MAS yaklaşımının pratikte uygulaması beklenen faydayı sağlayamamıştır. Bunun en büyük nedeni ise sütçü sığırlar da dahil olmak üzere çiftlik hayvanlarında ekonomik önemi olan verim özelliklerinin kantitatif özellikler olmasıdır (Zhang ve ark., 2011; Wiggans ve ark., 2017). Hayvan ıslahı bakımından kantitatif karakterler, çok sayıda gen tarafından kontrol edilen, çevre faktörlerinden etkilenen ve genellikle ekonomik önemi olan karakterlerdir. Bu bağlamda çiftlik hayvanlarında süt verimi, süt kompozisyonu, döl verimi vb. karakterler kantitatif karakter sınıfına girmektedir (Akçapınar ve Özbeyaz, 2021) ve genetik yapı ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (Turgut ve ark., 2023; Koca ve ark., 2023). Klasik MAS yaklaşımları ile bu özelliklerini etkileyen çok sayıda genetik varyasyonun tamamının belirlenmesi oldukça zahmetlidir ve ekonomik bir yükü bulunmaktadır (Wiggans ve ark., 2017).

Klasik MAS yaklaşımlarının yetersiz kaldığı bu noktada ise genomik seleksiyon fikri ortaya atılmıştır. Genomik seleksiyon bir tür MAS yaklaşımı olup, incelenen genetik belirteç sayısı klasik MAS yaklaşımlarına göre çok daha fazladır. Genomik seleksiyon fikri ilk olarak Meuwissen ve ark. (2001) tarafından ortaya atılmış ve bu fikri baz alan genotiplendirme platformlarının geliştirilmesiyle de genomik seleksiyon uygulanabilir hale gelmiştir. Bu genotiplendirme platformları, incelenen her bir karakterle ilişkili genetik varyasyonların ve aday genlerin tespitini ve genom bilgisine dayalı seleksiyon yapılmasını mümkün hale getirmiştir. Bu bağlamda, genotiplendirme platformlarının uygun maliyetle genom boyu ilişki analizi yapılmasına ve üstün genetik yapıya sahip hayvanların seçimine olanak tanıdığı söylenebilir (Zhang ve ark., 2011; Wiggans ve ark., 2017; Wiggans ve Carrillo, 2022). Bu kitap bölümünde, sütçü sığırlarda genomik seleksiyon konusu özetlenmeye çalışılmıştır.

2. PROGENİ TESTİ

Progeni testi özellikle süt sığırı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan bir yetiştirme metodudur. Bu yöntemde her yıl belirli sayıdaki boğa adayı teste tabi tutulmaktadır. Test boyunca boğa adaylarının spermeleri dondurularak saklanmaktadır. Bu test sürecinde sütçü ırklarda boğa adaylarının kızlarının verim özellikleri kaydedilmekte ve yavru verimlerine bakılarak boğa adaylarına damızlık değer (estimated breeding value; EBV) atfedilmekte ve en iyi boğalar sperma üretimi amacıyla kullanılmaktadır (Scheffers and Weigel, 2012). Progeni testi sütçü sığırlarda verim özelliklerinin iyileştirilmesine önemli katkılar sunsa da bazı dezavantajları bulunmaktadır. İlk olarak progeni testi oldukça maliyetli bir yöntemdir (Zhang ve ark., 2011; Scheffers and Weigel, 2012) İkinci olarak ise boğaların test sonucunda kendini ispatlamaları (proven bulls) oldukça uzun zaman almaktadır. Klasik bir progeni testi 5 yıldan uzun bir süre almaktadır (König ve ark., 2009; Scheffers and Weigel, 2012) (Şekil 1).



Şekil 1. Progeni testi yöntemiyle suni tohumlama boğası seçimi.

Seleksiyon programlarında ise istenilen bir verim özelliği yönünden birim zamanda genetik ilerleme hızının artırılması amaçlanmaktadır. Yetiştiricilikte genetik ilerleme hızı (ΔG); seleksiyon entansitesi (i), fenotipik standart sapma (σ_p), kalıtım derecesi (h^2) ve jenerasyon aralığına (L) bağlıdır (Scheffers and Weigel, 2012).

$$\Delta G = \frac{i \cdot \sigma_p \cdot h^2}{L}$$

Ancak progeni testindeki uzun jenerasyon aralığı genetik ilerleme hızını kısıtlanmaktadır. Bu noktada genomik seleksiyon uygulaması jenerasyon aralığın önemli bir azalma sağlayarak genetik ilerleme hızının artırılmasına olanak tanımaktadır. Genomik seleksiyon uygulaması sütçü sığırlarda hızlı bir şekilde benimsenmiştir. Bunun temel sebebi halihazırda uygulanan progeni testi sayesinde sütçü sığırlarda yüksek miktarda fenotipik verinin kayıtlı olmasıdır (Wiggans ve ark., 2017, Wiggans ve Carrillo, 2022).

3. GENOMİK SELEKSİYONUN TARİHÇESİ

Genom bilgisine dayalı seleksiyon fikri ilk olarak 2001 yılında ortaya atılmıştır. Ancak teknolojik nedenlerle bu fikir 2005 yılından sonra uygulanmaya başlanmıştır. Sığır genom projesinin başlaması ve genom diziliminin ortaya konulmasıyla tek seferde binlerce genetik varyasyonun belirlenmesine olanak tanıyan array platformları geliştirilmiştir (Bovine

HapMap Consortium, 2009). Bu platformlar genellikle çok sayıda tek nükleotid polimorfizminin (single nucleotide polymorphism; SNP) tek seferde belirlenmesine olanak tanımıştır. Sığırlarda genomik seleksiyon amacıyla geliştirilen ilk genotiplendirme platformu, 2005 yılında Affymetrix firması tarafından geliştirilen ve 10,140 tek nükleotid polimorfizmi belirtecini içeren MegAllele Genotyping Bovine 10,000-SNP array platformudur (Khatkar ve ark., 2007). Ancak bu platformda SNP belirteçlerinin genom boyunca iyi dağılmamış olması nedeniyle sütçü sığırlarda yaygın kullanım alanı bulamamıştır. Daha sonra 2007 yılında ise Illumina firması tarafından Bovine 3K Genotyping BeadChip ve BovineSNP50 BeadChip SNP array piyasaya sürülmüştür (Illumina 2007; Illumina 2016). BovineSNP50 BeadChip SNP array platformu günümüzde sütçü sığırlarda GWAS amacıyla en yaygın kullanılan SNP platformlarından biridir. Bununla birlikte çok daha yüksek yoğunluklu (777K) SNP array platformu da geliştirilmiştir (Illumina, 2010) ve SNP array platformlarının çeşitliliği yıllar geçtikçe artmaktadır. Bu bağlamda 2017 yılı itibarıyla sadece sütçü sığırlarda kullanılmak üzere 21 farklı SNP array platformunun geliştirildiği bildirilmektedir (Wiggans ve ark., 2017).

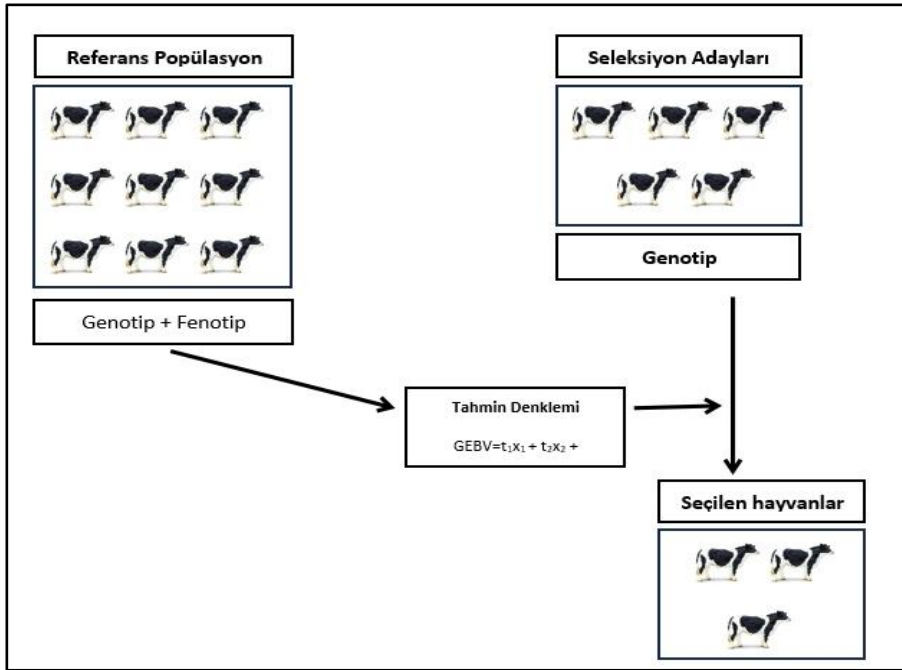
Bu genotiplendirme array platformları örneklerin genotiplendirme maliyetlerini önemli ölçüde düşürmüştür. Sığırlar için geliştirilen genotiplendirme maliyeti array yoğunluğuna göre değişmektedir. Ortalama 50K SNP içeren array maliyeti ilk üretildiği dönemde 125-135 dolar iken günümüzde 50 dolara kadar düşmüştür. Genotiplendirme maliyetinin düşmesi, her yıl çok daha fazla sayıda hayvanın genotiplendirilmesini mümkün hale getirmektedir. Bu bağlamda sadece Amerika bileşik devletlerinde yıllık 1 milyon üzerinde hayvanın genotiplendirildiği bildirilmektedir. Genomik seleksiyon ile birlikte de sütçü sığırlarda pek çok verim özelliğinin iyileştirilmesi noktasında önemli ilerleme sağlandığı bildirilmektedir (Wiggans ve Carrillo, 2022).

4. GENOMİK SELEKSİYONUN AŞAMALARI

Genomik seleksiyonun ilk aşaması, referans popülasyonun oluşturulmasıdır. Referans popülasyon, çalışma popülasyonu (training population) olarak da isimlendirilmektedir. Referans popülasyondaki hayvanların fenotipik bilgileri bulunan hayvanlardan oluşmaktadır. Bu hayvanlar genotiplendirildikten sonra ilişki analizi yapılmakta ve her bir SNP'nin ilgili verim özelliği üzerine etkisi hesaplanmaktadır. Daha sonra bir tahmin denklemi oluşturularak referans popülasyondaki hayvanlara tüm SNP'lerin bilgisine dayalı genomik damızlık değeri (genomic estimated breeding value; GEBV) hesabı yapılabilmektedir (Eggen, 2012). Progeni boğalarının kızlarından gelen yüksek miktarda fenotipik veri nedeniyle ilk aşamada daha çok progeni boğaları referans popülasyona dahil edilmiştir.

Ancak dişi hayvanlarda referans popülasyonda bulundurulmaktadır (Wiggans ve ark., 2012; Wiggans ve Carrillo, 2022)

İkinci aşamada ise hiçbir fenotipik verisi olmayan genç yaştaki hayvanlar genotiplendirilerek hayvanlara referans popülasyondaki SNP bilgilerine dayalı GEBV hesaplaması yapılabilmektedir. Bu durum genomik seleksiyonu asıl önemli kılan unsurların başında gelmektedir. Çünkü fenotipik veriye olan bağımlılığın azalması ve hayvanların genç yaşta seçilebiliyor olması genetik ilerleme hızının artırılması noktasında önemli bir potansiyele sahiptir ve sütçü sığır yetiştiriciliği alanına son 15 yılda önemli bir katkısı olmuştur. Seleksiyon adaylarının GEBV'leri hesaplandıktan sonra ise en iyi hayvanlar damızlığa ayrılmaktadır. Şekil 2' de genomik seleksiyonun temel aşamaları şematize edilmiştir (Eggen, 2012).



Şekil 2. Genomik seleksiyon uygulamasının şematik gösterimi

GEBV hesaplanmasında farklı istatistiksel yaklaşımlar ele alınmaktadır. Bu bağlamda genomik BLUP (GBLUP) ve Bayesian yaklaşımlarından (Bayes A, Bayes B vb.) yararlanılmaktadır (Hayes ve ark., 2009). Suni tohumlama boğalarının seçimi günümüzde genomik seleksiyon uygulamasıyla belirlenmektedir. Daha önce de belirtildiği üzere klasik progeni testi ile suni tohumlama boğalarının seçimi yaklaşık 63 ay gibi bir süre alırken genomik seleksiyon uygulaması ile yaklaşık 21 aylık süre içerisinde suni tohumlama boğaları belirlenebilmektedir. Bu durum sütçü sığırlarda verim özellikleri

yönünden ciddi bir ilerleme olanağı sunmuştur (Zhang ve ark., 2011; Schefers and Weigel, 2012; Wiggans ve Carrillo, 2022).

Ancak genomik seleksiyondaki önemli konulardan biri referans popülasyonun boyutu ve güncel tutulması gerekliliğidir. Gerekli referans popülasyon boyutu seleksiyon yapılacak verim özelliğinin kalıtım derecesi ile ters orantılıdır. Yani kalıtım derecesi düşük olan özelliklerde referans popülasyonda daha fazla hayvana ihtiyaç duyulurken referans kalıtım derecesi yüksek olan özelliklerde referans popülasyonda daha az sayıda hayvana ihtiyaç duyulmaktadır. Örneğin, %75 güvenilirlikle süt verim özelliği yönünden bir seleksiyon yapabilmek için referans popülasyon boyutunun 20 000 üzerinde olması gerekmektedir. Bununla birlikte her jenerasyon yeni genotiplendirilmiş hayvanların referans popülasyona dahil edilmesi gerekmektedir. Aksi durumda hesaplanan GEBV kesinliği her jenerasyon azalmaktadır (Hayes ve Goddard, 2010).

4.1. Genomik Olarak Değerlendirilen Verim Özellikleri

Sütçü sığırlarda başta Holstein olmak üzere, Jersey, Guernsey, İsviçre Esmeri ve Ayrshire ırklarında 50'den fazla verim özelliği genomik olarak değerlendirilmiştir (Wiggans ve ark., 2011; Wiggans ve ark., 2022). Bu bağlamda süt verimi, süt yağı miktarı, protein miktarı ve yüzdeleri genomik olarak değerlendirilen verim özellikleridir. Bunun dışında İsviçre esmeri ırkında sağım hızı özelliği yönünden de genomik değerlendirme yapılmıştır. Bunun dışında verim ömrü ile ilgili parametrelerde genomik olarak değerlendirilen özelliklerdendir. Bu bağlamda, sürü verim ömrü ve yaşama gücü pariteleri genomik olarak değerlendirilmiştir. Genomik değerlendirmeye tabi tutulan diğer verim özellikleri ise fertilité ile ilgili özelliklerdir. Dişilerde gebelik oranı, damızlıkta kullanım yaşı, gebelik süresi, ilk buzağılama yaşı ele alınan özellikler arasındadır (Wiggans ve Carrillo, 2022)

Bazı reproduktif parametrelerle ilişkili problemler sığırlarda ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bu nedenle, reproduktif pek çok parametre genomik seleksiyon programlarına dahil edilip değerlendirilmiştir. Doğum kolaylığı ve ölü doğum oranı değerlendirilen özelliklerdendir. Bununla birlikte, hastalık direnci ve metabolik hastalıklarda 2018 yılından sonra genomik seleksiyon programında dahil edilmiş ve abomasum deplasmanı, ketozis, mastitis, metrit ve hipokalsemi gibi pek çok hastalık yönünden genomik değerlendirme yapılmıştır. Bunun sonrasında ise 2020 yılında yemden yararlanma özelliği de genomik değerlendirmeye dahil edilmiştir. Görüldüğü gibi genomik seleksiyon noktasında çok fazla verim özelliği ele alınmıştır ve sürekli olarak farklı verim özellikleri değerlendirilmeye alınmaktadır (Wiggans ve Carrillo, 2022). Bu verim özelliklerinin pek çoğunun ekonomik kârlılığa direkt etkisinin olması nedeniyle sürekli olarak farklı özellikler genomik olarak değerlendirilmeye dahil edilmektedir.

4.2. Genomik Tahminin Güvenilirliğini Artırma Yöntemleri

Genomik değerlendirmede başarı, her jenerasyonda verim özellikleri ile ilişkili yeterli sayıda ve yüksek bağlantı dengesizliğine (Linkage Disequilibrium; LD) sahip DNA belirtecinin değerlendirilmeye alınmasıyla mümkün olmaktadır (Wiggans ve ark., 2017). Genomik değerlendirmede belirteç olarak SNP'ler kullanılmaktadır. Ancak, crossing-over nedeniyle, SNP'ler ve yüksek verim özelliği ile ilişkili genomik bölgeler arasındaki bağlantı her jenerasyon zayıflamaktadır. Bu nedenle farklı yöntemlerle genomik tahmin kesinliği artırılmaya çalışılmaktadır (Wiggans ve Carrillo, 2022).

Kesinliği sürdürülebilir hale getirmek ve artırmak için yapılan ilk şey SNP etkilerinin yeni verilerin dahil edilmesiyle tekrar hesaplanmasıdır. Bununla birlikte, tüm genom dizileme yönteminin gelişmesiyle çok sayıda hayvanın genom sekansı belirlenmiştir ki bu durum birbirleriyle yüksek LD içerisinde bulunan çok sayıda yeni SNP'nin de tespitine olanak tanımıştır (Wiggans ve Carrillo, 2022).

Genomik tahminin güvenilirliğini artırmadaki diğer yöntem ise referans popülasyonun boyutunun büyütülmesidir (Hayes ve ark., 2009; Hayes ve Goddard, 2010; Wiggans ve ark., 2017). Daha önceki başlıklarda da belirtildiği üzere genomik seleksiyonda referans popülasyona her jenerasyonda yeni hayvanlar eklenerek güncellenmesi bir gerekliliktir (Wiggans ve Carrillo, 2022). Bununla birlikte genomik seleksiyonu hayvancılık politikasına dahil etmiş ülkeler, sahip oldukları genomik bilgiyi birbirleri ile paylaşarak genomik tahmin kesinliğinin artırmakta ve ortaya çıkan ekonomik yükü azalmaktadır (Wiggans ve ark., 2017). Bu bağlamda Holstein ırkında genomik bilginin ilk paylaşımı Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Kanada arasında yapılmıştır. Daha sonra İngiltere, İtalya, İsveç ve Almanya gibi çok sayıda fazla ülke oluşturulan konsorsiyuma dahil olmuştur (Wiggans ve ark., 2017; Wiggans ve Carrillo, 2022).

Genomik tahmin kesinliğini artırmadaki diğer yol ise elde edilen verilerin güvenilirliğidir. Bu nedenle genomik seleksiyon programlarında veriler sürekli olarak güncellenmesinin yanısıra kontrol edilerek tahmin kesinliğinin sürdürülebilirliği amaçlanmaktadır. Bu bağlamda, farklı hayvanlara aynı ID verilmesi, güvenilir olmayan genotipik ve fenotipik kayıtlar yönünden düzenli aralıklarla takip yapılmakta ve SNP etki büyüklükleri güncel tutulmaya çalışılmaktadır (Wiggans ve ark., 2017; Wiggans ve Carrillo, 2022).

4.3. Genomik Seleksiyonun Gelişmekte Olan Ülkeler İçin Potansiyeli

Gelişmekte olan ülkelerde önemli hayvancılık potansiyeli olmasına rağmen, verim özelliklerinin iyileştirilmesi noktasında istenilen başarı sağlanamamaktadır. Bunun en temel sebepleri arasında gelişmekte olan ülkelerde verim kayıtlarının yetersiz ve güvenilirliğinin düşük olmasıdır. Genomik değerlendirmede SNP etkisinin tahmin edilmesinde fenotipik kayıtların güvenilirliği oldukça hayati olduğundan, uygulanacak genomik seleksiyon programının başarısında bu durum en büyük engellerden birini teşkil etmektedir (Eggen, 2012). İkinci olarak ise sahadan veri toplanmasının güç olmasıdır. Ayrıca yetiştiriciliğinin daha çok aile tipi işletmelerde yapılması da genomik seleksiyon uygulamasını zorlaştıran faktörlerdendir (Mrode ve ark., 2019).

Bununla birlikte gelişmekte olan ülkeler için genomik seleksiyon uygulaması önemli bir potansiyele sahiptir. Özellikle fenotipik bilgiye olan bağımlılığın azalacak olması genomik seleksiyonun en büyük avantajlarından biridir. Bu nedenle Türkiye'nin de aralarında pek çok çok gelişmekte olan ülkede genomik ıslah noktasında girişimler başlamıştır (Mrode ve ark., 2019; Demir ve ark., 2023; HAYGEM, 2023). Bu bağlamda en aktif ülkelerden Brezilya'dır. Brezilya'da genomik seleksiyonla ilgili bağımsız araştırmacılar tarafından yürütülen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda farklı verim özellikleri yönünden genomik seleksiyon uygulaması yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde ise çalışılan ırkın daha çok Nellore ırkı olduğu dikkat çekmektedir. Yürütülen çalışmaların yeni olması ve genotip ve fenotip kayıtlarının yetersiz olması nedeniyle ilk etapta çoğunlukla çok fazla sayıda SNP içeren yüksek yoğunluklu genotiplendirme array platformları tercih edilmektedir (Mrode ve ark., 2019). Bununla birlikte Türkiye yerli sığır ırklarında da tüm genom dizileme yaklaşımıyla çok sayıda yerli sığır ırkında seleksiyonda kullanılabilir belirticilerin ve aday genlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar yürütülmektedir (Demir ve ark., 2023).

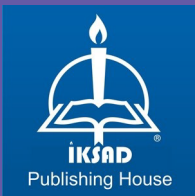
5. SONUÇ

Genomik seleksiyon uygulaması dünya çapında özellikle 2008 yılından sonra hız kazanan güncel bir seleksiyon yöntemidir. Özellikle sütçü sığırlarda yaygın olarak kullanılan bu yöntem verim özelliklerinin iyileştirilmesi, hayvansal üretimin ve ekonomik kazancın artırılması noktasında önemli katkılar sunmaktadır. Son 15 yılda yürütülen çalışmalar ve elde edilen kazanımlar dikkate alındığında genomik seleksiyon uygulamasının süt sığırı yetiştiriciliğinde bir dönüm noktası olduğu söylenebilir. Bununla birlikte genomik seleksiyon uygulaması, gelişmekte olan ülkeler için de önemli bir potansiyel barındırmaktadır. Özellikle yeni nesil dizileme teknolojisinin yaygınlaşması genomik seleksiyonun uygulamasına önemli katkılar sunacaktır. Sonuç olarak, bu ıslah yaklaşımının dünya çapında süt sığırı yetiştiriciliğine olan katkısının gelecek yıllarda artarak devam edeceği söylenebilir.

6. KAYNAKÇA

- Akçapınar, H., Özbeyaz, C. (2021). *Hayvan Yetiştiriciliği (Temel Bilgiler)*.2. Baskı, Ankara:Medisan Kitapevi. s: 27-103.
- Bovine HapMap Consort, (2009). Genome-wide survey of SNP variation uncovers the genetic structure of cattle breeds. *Science*, 324, 528–532
- Demir, E., Moravčíková, N., Kaya, S., Kasarda, R., Bilginer, Ü., Doğru, H., Balcioğlu MS & Karşlı, T. (2023). Genome-wide screening for selection signatures in native and cosmopolitan cattle breeds reared in Türkiye. *Animal Genetics*. <https://doi.org/10.1111/age.13361>.
- Eggen, A. (2012) The development and application of genomic selection as a new breeding paradigm, *Animal Frontiers*, 2, 10-15
- Hayes, B., Bowman, P., Chamberlain, A., Verbyla, K., Goddard, M., (2009). Accuracy of genomic breeding values in multi-breed dairy cattle populations. *Genetics Selection Evolution* 41, 51.
- Hayes, B. & Goddard, M.E. (2010). Genome-wide association and genomic selection in animal breeding. *Genome* 53, 876-883.
- HAYGEM (2023). www.tarimorman.gov.tr. Erişim Tarihi: 01.12.2023. <https://www.tarimorman.gov.tr/HAYGEM/Haber/193/Haygem-Ulkesel-Genomik-Seleksiyon-Projesini-Hayata-Geciriyor>
- Illumina (2010). BovineHD Genotyping BeadChip. Data Sheet, Illumina, San Diego, CA. <http://www.illumina.com>
- Illumina (2010). GoldenGate Bovine3K Genotyping BeadChip. Data Sheet, Illumina, San Diego, CA. <http://www.illumina.com>
- Illumina (2016). BovineSNP50 Genotyping BeadChip. Data Sheet, Illumina, San Diego, CA. <http://www.illumina.com>
- Khatkar, M.S., Zenter, K.R., Hobbs, M., Hawken, R.J., Cavanagh, J.A.L., Barris, W., McClintock, A.E., McClintock, S., Thomson, P.C., Tier, B., Nicholas, F.W., Raadsma, H.W. (2007). A primary assembly of a bovine haplotype block map based on a 15,036-single-nucleotide polymorphism panel genotyped in Holstein-Friesian cattle. *Genetics*, 176, 763–72.
- Koca, D., Turgut, A.O., Çetin, N., Üner, S., Gülendağ, E., & Karagülle, B. (2023). Chemical Composition and Physical Properties of Milk in Norduz Sheep. *Van Veterinary Journal*, 34(3), 271-274.
- König, S., Simianer, H., Willam, A. (2009). Economic evaluation of genomic breeding programs. *Journal of Dairy Science*, 92: 382–391.

- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J. Goddard, M.E. (2001). Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics*, 157, 1819-1829.
- Mrode, R., Ojango, J.M.K., Okeyo, A.M., & Mwacharo, J.M. (2019). Genomic selection and use of molecular tools in breeding programs for indigenous and crossbred cattle in developing countries: Current status and future prospects. *Frontiers in Genetics*, 9, (Article 694), 1-11.
- Schefers, J.M., Weigel, K.A. (2012). Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs, *Animal Frontiers*, 2, 1-9.
- Turgut, A.O., Gülendağ, E., Koca, D., & Üner, S. (2023). Milk Composition Traits of Hamdani Crossbreed Sheep Raised Under Extensive Management. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 7(2), 271-279.
- Wiggans, G.R., Cole, J.B., Hubbard, S.M., Sonstegard, T.S. (2016). Genomic Selection in DairyCattle: The USDA Experience. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5, 309-327.
- Wiggans, G.R., VanRaden, P.M., Cooper, T.A. (2011). The genomic evaluation system in the United States: past, present, future. *Journal of Dairy Sciebce*, 94, 3202–3211
- Wiggans, G. R., & Carrillo, J. A. (2022). Genomic selection in United States dairy cattle. *Frontiers in Genetics*, 13, 994466, 1-7.
- Williams, J.L. (2005). The use of markerassissted selection in animal breeding and biotechnology. *Revue Scientifique et Technique de*, 24 (1), 379-391.
- Zhang, Z., Zhang, Q, Ding, X.D. (2011). Advances in genomic selection in domestic animals. *Chinese Science Bulletin*, 56(25), 2655-2663



ISBN: 978-625-367-499-1