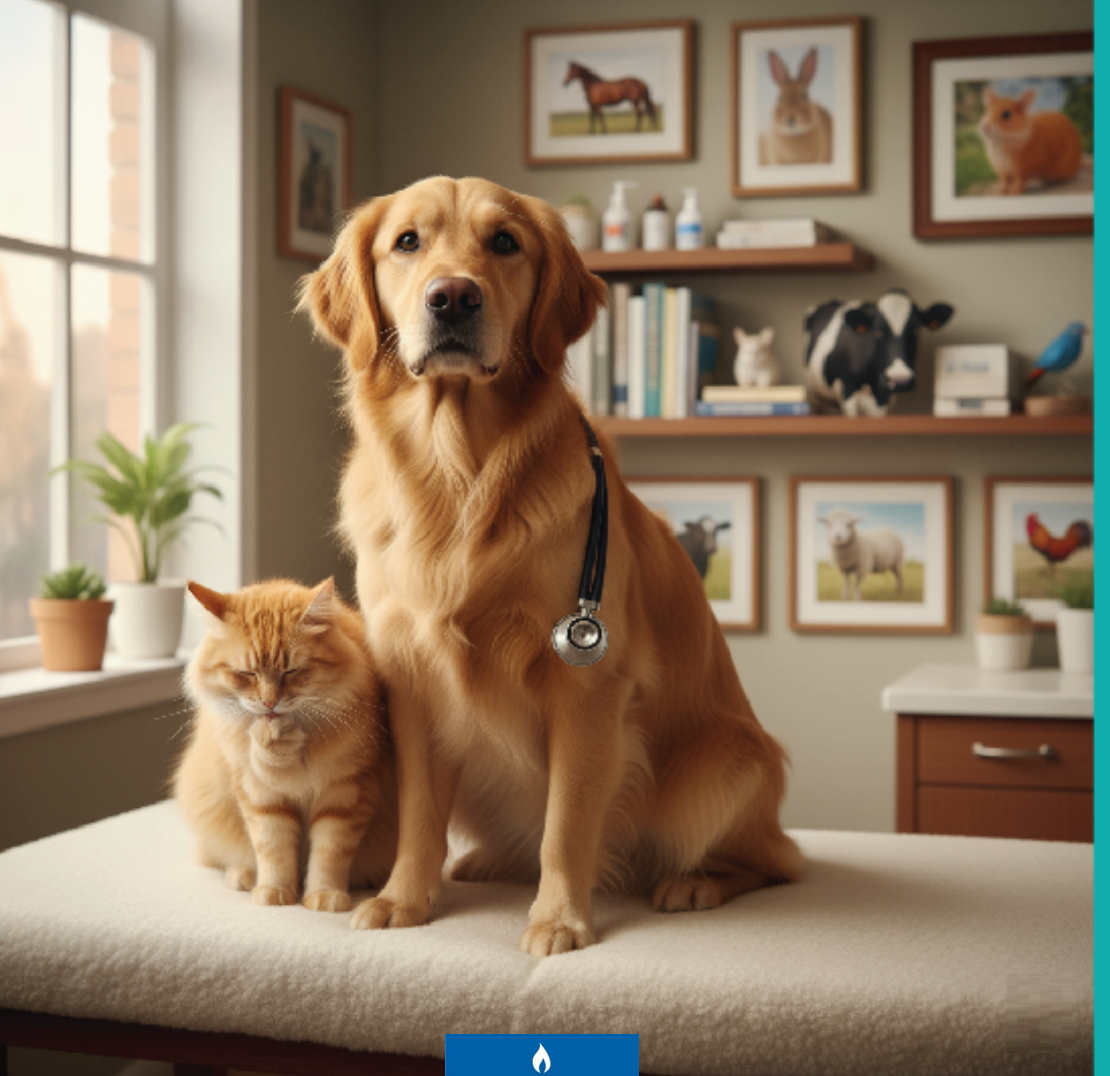


VETERİNER AKADEMİK VE TEKNİK ÇALIŞMALAR

EDİTÖR:
Doç. Dr. Hakan KEÇECİ



VETERİNER AKADEMİK VE TEKNİK ÇALIŞMALAR

EDİTÖR:

Doç. Dr. Hakan KEÇECİ

YAZARLAR:

Prof. Dr. Ekin Emre ERKİLİÇ

Prof. Dr. Mehmet ÇAY

Prof. Dr. Semra KAYA

Doç. Dr. Başak BOZTOK ÖZGERMEN

Doç. Dr. Gülten Emek TUNA

Doç. Dr. Meltem SAĞIROĞLU

Dr. Öğr. Üyesi Adem ŞAHAN

Dr. Öğr. Üyesi Bünyamin İREHAN

Dr. Öğr. Üyesi İsmail GÜNAL

Dr. Öğr. Üyesi Merve KARABULUT

Dr. Edanur GÜLER EKMEN

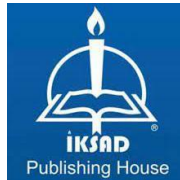
Dr. Ümit Koray CAN

Öğr. Gör. Dr. Taha GÜRSOY

Arş. Gör. Dr. Kübra GEÇMEZ CAHAN

Arş. Gör. Tuğrul KIRKULAK

Arş. Gör. Zehra COŞKUN BAHÇE



Copyright © 2025 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 – 2025©

ISBN: 978-625-378-352-5
Cover Design: İbrahim KAYA
October / 2025
Ankara / Türkiye
Size: 16x24cm

İÇİNDEKİLER

EDİTÖRDEN ÖNSÖZ

Doç. Dr. Hakan KEÇECİ1

BÖLÜM 1

GÜNCEL ÇALIŞMALAR IŞIĞINDA ZİNGERON

Dr. Edanur GÜLER EKMEN, Prof. Dr. Mehmet ÇAY 3

BÖLÜM 2

KUŞLARDA SİNDİRİM SİSTEMİNİN YAPISI, İŞLEYİŞİ VE FİZYOLOJİK UYUMLAR

Doç. Dr. Meltem SAĞIROĞLU29

BÖLÜM 3

VETERİNER ABDOMİNAL CERRAHİDE LAPAROSKOPİ

Dr. Öğr. Üyesi Merve KARABULUT67

BÖLÜM 4

BOĞA SPERMASINDA HÜCRESEL ANALİZLER

Arş. Gör. Zehra COŞKUN BAHÇE91

BÖLÜM 5

SPEKSİN: FİZYOLOJİK SÜREÇLERDE ÇOKLU ROLÜ OLAN BİR PEPTİT

Arş. Gör. Dr. Kübra GEÇMEZ CAHAN, Doç. Dr. Meltem SAĞIROĞLU ..107

BÖLÜM 6

VETERİNER CERRAHİDE İNDOSİYANİN YEŞİLİ YAKIN KIZILÖTESİ FLORESANSIN (ICG-NIRF) KULLANIMI

Dr. Ümit Koray CAN135

BÖLÜM 7

KÖPEKLERDE SICAK ÇARPMASI VE YÖNETİMİ

Dr. Öğr. Üyesi Adem ŞAHAN, Dr. Öğr. Üyesi İsmail GÜNAL149

BÖLÜM 8

MANDALARDA ÜREME PERFORMANSINI GELİŞTİRME YAKLAŞIMLARI

Öğr. Gör. Dr. Taha GÜRSOY173

BÖLÜM 9

KEDİ VE KÜÇÜK RUMİNANTLARDA GÖRÜLEN TOKSOPLAZMOZ ENFEKSİYONLARINDA TEŞHİS STRATEJİLERİ VE GÜNCEL GELİŞMELER

Dr. Öğr. Üyesi Bünyamin İREHAN195

BÖLÜM 10

KRONİK BÖBREK HASTALIKLI KEDİ VE KÖPEKLERDE KÖK HÜCRE UYGULAMALARI

Arş. Gör. Tuğrul KIRKULAK

Doç. Dr. Gülten Emek TUNA.....251

BÖLÜM 11

BUZAĞILARDA PERİNATAL ÖLÜM VE PERİNATAL ÖLÜMLERDEN KAÇINMA YOLLARI

Prof. Dr. Semra KAYA , Prof. Dr. Ekin Emre ERKILIÇ.....269

BÖLÜM 12

ATLARDA BÜYÜME PLAKLARININ KAPANMA DÖNEMLERİ

Doç. Dr. Başak BOZTOK ÖZGERMEN.....281

ÖNSÖZ

Toplumların gelişmesinde en temel unsurlardan biri bilginin paylaşılmasıdır. Veteriner hekimlik, canlı sağlığını koruma ve geliştirme misyonuyla sürekli yenilenen bilgi, araştırma ve uygulamaya dayalı bir disiplindir. Bu kitap, veteriner hekimliğin çeşitli alt dallarına yönelik güncel bilgilerin bir araya getirilmesi, farklı alanlarda çalışan akademisyenlerle araştırmacıların katkılarıyla bilimsel etkileşimin güçlendirilmesi amacıyla yayınlanmıştır.

Kitapta yer alan her bir bölüm, alanında uzman yazarlar tarafından kaleme alınmış hem teorik hem de saha uygulamalarına yönelik bilgi ve deneyimleri yansıtmaktadır. Klinik bilimlerden hayvan besleme ve yetiştirmeye, epidemiyolojiden zoonotik hastalıklara kadar geniş bir yelpazede konular ele alınmıştır. Hem akademisyenler hem de uygulayıcı veteriner hekimler için değerli bir başvuru kaynağı olacaktır.

Bu eserde emeği geçen tüm yazarlarımıza, derin bilgi ve deneyimlerini paylaşarak ortak bilimsel katkıları nedeniyle ayrı ayrı teşekkür ederim. Yine kitabın hazırlanma sürecinde destek veren teknik ekibe ve yayınevine içten şükranlarımı sunuyorum.

Sonuç olarak çalışmanın, veteriner hekimliğe, hayvan sağlık ve refahına katkı sağlaması; araştırmacılara, öğrencilerimize ve meslektaşlarımıza ilham vermesi dileğiyle...

Doç. Dr. Hakan KEÇECİ

BÖLÜM 1

GÜNCEL ÇALIŞMALAR IŞIĞINDA ZİNGERON

Dr. Edanur GÜLER EKMEN¹, Prof. Dr. Mehmet ÇAY²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17409977>

¹ Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE. e-mail: edanur.guler@firat.edu.tr, Orcid ID: 0000-0001-8473-7592

² Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, TÜRKİYE. e-mail: mcay@firat.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-3896-0042

GİRİŞ

Zingeron, zencefilde bulunan biyoaktif bileşenlerden biridir. Zencefil (*Zingiber officinale* Roscoe), Zingiberaceae familyasından olup kökeni Güneydoğu Asya'ya dayanan ve bugün dünya genelinde en fazla tüketilen ve yaygın şekilde kullanılan kök baharatlardan biridir (Alipour ve ark., 2022). Yiyeceklerimize özgün ve belirgin bir aroma ile tat veren keskin kokulu bir baharattır. Zencefilin boyu yaklaşık 100 cm'dir ve ince yaprakları vardır. Zencefilin, acı zencefil (*Zingir zerimbet*), beyaz zencefil (*Zingiber officinale*) ve kırmızı zencefil (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) gibi farklı türleri mevcuttur. Ayrıca keskin tat oleoresin bileşeninden kaynaklanır ve oleoresinler de %5-8 lipit veya %9 glikolipitlerden meydana gelir (Yahyazadeh ve ark., 2021).

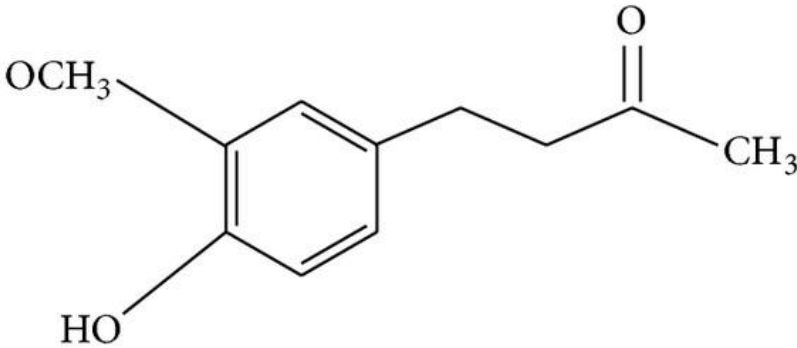
Zencefil, bu bitkinin yeraltındaki kök sapıdır. Bu çok yıllık bitki genellikle hem baharat hem de tatlandırıcı olarak kullanılır. Zencefil, yemeklere güzel bir koku katmasının yanı sıra tıbbi amaçlarla da kullanılmaktadır. Zencefilin farklı biyoaktif bileşenleri nedeniyle önemli farmakolojik faydaları bulunmaktadır. İçeriğinde çeşitli mineral elementler ve vitaminlerin yanı sıra proteolitik özellik gösteren zingibain enzimi gibi enzimatik bileşenler mevcuttur (Ahmad ve ark., 2015). Zencefil içerisinde, uçucu olan ve olmayan kimyasal sınıflar altında kapsamlı şekilde tanımlanmış 60'tan fazla biyolojik aktif molekül bulunduğu rapor edilmiştir. Uçucu bileşenlerin çoğunluğunu monoterpenoid ve seskiterpen hidrokarbonları oluşturmakta olup, bu bileşikler zencefile karakteristik koku ve lezzet özelliklerini kazandırmaktadır. Buna karşılık, uçucu olmayan bileşenler arasında gingeroller, shogaoller, paradoller ve zingeron gibi fenolik bileşikler yer almaktadır. Taze zencefilde zingeron bileşiği bulunmamaktadır; ancak termal işlem veya ısı uygulaması sırasında retroaldol reaksiyonu ile gingerol veya shogaoller zingeron bileşiklerine dönüşmektedir (Hemalatha ve Prince 2015; Kandemir ve ark., 2018).

1. Zingeron

Zingeron, zencefilde yaklaşık %9,25 oranında kayda değer bir konsantrasyonda bulunmaktadır. Zingerone, *Bulbophyllum patens* ve *B. baileyi* gibi *Bulbophyllum* türlerinin çiçek kısımlarında da bulunur. *B. patens*'te, zingeronun labellumda en yüksek olduğu, yani 930 ppm olduğu,

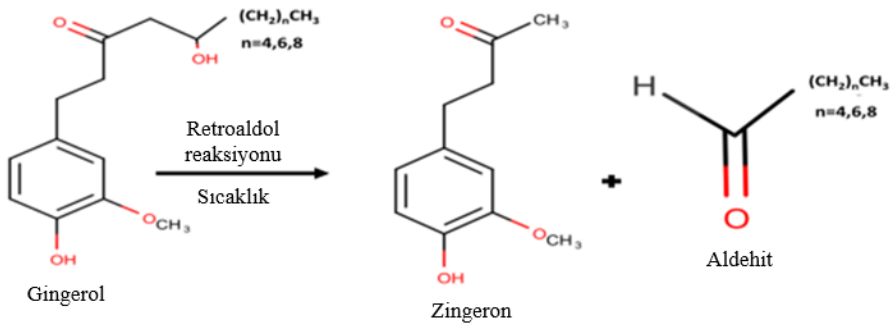
çanak yapraklar, taç yapraklar ve sütun gibi diğer kısımlarda ise sırasıyla 167 ppm, 95 ppm, 51 ppm olduğu bulunmuştur (Tan, 2009; Tan ve Nishida, 2007). Zingeron metoksifenol grubuna ve bağlantılı türevlerine ait bir bileşiktir. Molekül yapısında benzen halkasına bağlı bir metoksi fonksiyonel grubu ve temel bir fenolik çekirdek yer almaktadır. Zingeronun potent biyolojik ve farmakolojik etkiler sergilediği literatürde rapor edilmiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapılan analizler, 6-gingerol, 8-gingerol ve 10-gingerol konsantrasyonlarının taze zencefilde genellikle düşük seviyelerde olduğu, ancak kurutma ve kavurma süreçleri sırasında zingeron içeriğinde anlamlı bir artış meydana geldiği ortaya konulmuştur (Zhang, 2012).

Zingeronun 1945 senesinde sentetik üretimine yönelik süreci patentleyen ilk araştırmacı Cotton olmuştur (Cotton, 1945). Kimyasal olarak zingeron (4-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-bütanon) ($C_{11}H_{14}O_3$), fenolik alkanon sınıfına dahil olan vanilil asetondur (Elshopakey ve ark., 2022). Zingeron antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, antiapoptotik, anti-obeziter, antidiüretik ajan olarak çok çeşitli farmakolojik aktiviteler sergilemiştir (Akaras ve ark., 2023; Mani ve ark., 2017; Vinothkumar ve ark., 2014; Singh ve ark., 2008; Kumar ve ark., 2013). Ayrıca zingerone tedavisi kanser, tümör, iltihap, kalp hastalıkları, tromboz, obezite, diyabet ve diğer birçok hastalığı da azaltabilir (Kim ve ark., 2017; Mani ve ark., 2016; Bae ve ark., 2016; Ahmad ve ark., 2018; Lee ve ark., 2017).



Şekil 1. Zingeronun Kimyasal Yapısı (Ahmad ve ark., 2015).

Zingeron, zencefil oleorezininde bulunan önemli bir bileşendir ve ayrıştırılması oldukça zordur. Ancak, bu bileşiği zencefil oleorezininden elde etmek için çeşitli çıkarma teknikleri geliştirilmiştir. Bir çalışmada, 42 kHz frekansında ve 60 °C sıcaklıkta ultrasonik yöntem kullanılarak zencefil oleorezininin etanol ekstraksiyonunda başlıca bileşik olarak belirlenmiştir (Supardan ve ark., 2012). Başka bir araştırmada ise, süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemi zencefil oleorezininden zingeron elde etmek için 25 MPa basınç, 45 °C sıcaklık ve 150 dakika süreyle optimize edilmiştir (Xiong ve ark., 2011). Bu bileşik laboratuvar ortamında yapay olarak da sentezlenebilir (Smith, 1996; Pranowo ve Raharjo, 2019). Öncelikle, uygun koşullar altında hem vanilin hem de asetonun aldol kondensasyonu ile dehidrozingeron oluşturmaya izin verilir. Ardından dehidrozingeron hidrojenasyon reaksiyonu ile zingerona dönüştürülür.



Şekil 2. Gingerolün Zingerona Dönüşümü (Sahoo ve ark., 2022).

Zingeronun farmakokinetik profili, oral veya intraperitoneal yolla uygulandığında, molekülün yan zincirinde yaygın oksidatif metabolizmanın gerçekleştiğini göstermektedir. Zingeronun metabolik yıkımı sırasında glukuronidasyon ve sülfatlama reaksiyonları meydana gelmekte olup, bu süreçler sonrası oluşan glukuronid ve sülfat konjugatları, uygulamayı takiben 24 saat içinde idrar yoluyla eliminasyon sonucu atılmaktadır (Shamsabadi ve ark., 2023). Bu sebeple, zencefil sadece küresel ölçekte bir tatlandırıcı ajan olarak yaygın şekilde kullanılmakla kalmayıp, aynı zamanda çeşitli farmakolojik ve terapötik özelliklere de sahiptir. Zingeron aynı zamanda toksik olmayan bir bileşiktir. Yan etkisi yoktur ve doğal kaynaklardan elde edilir. Böylece insan ve hayvanlarda birçok patolojik durumun tedavisinde

geniş çapta uygulanabilir.

1.1 Zingeronun Etki Mekanizmaları

1.1.1 Antioksidan ve Antiinflamatuvar Etki Mekanizması

Zencefil, reaktif oksijen türleri (ROS), serbest radikaller, peroksitler ve diğer toksik oksidan ajanların detoksifikasyonunda etkili ve güçlü bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebilir. Zencefilde yer alan zingeron bileşiği de serbest radikal süpürücüsü olarak aktivasyon sergilemektedir. Başlıca reaktif oksijen türlerinin biyosentezinde görev alan ksantin oksidaz enziminin aktivitesini baskılar. Zingeronun antioksidan kapasitesini destekleyen önemli özellikler, radyoliz sonucu oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonundaki etkinliği, mitokondriyal yapıyı toksik etkilere karşı koruyabilmesi, hücresel ve dokusal hasara neden olabilen peroksinitrit radikalının süpürülmesindeki aktif rolünden ileri gelmektedir (Safhi, 2018). Yapısal olarak zingeron aromatik halkalarda hidroksil grupları ve C3 ve C4 karbon arasında çift bağlar içerir (Rao ve Rao, 2010). Bu da, zingeronun antioksidan özelliklerini destekleyebilir. Yapılan bir çalışmada zingeronun sisplatin kaynaklı ototoksisite üzerindeki otoprotektif etkileri araştırılmış olup zingeronun antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteleri ortaya konulmuştur (Lee ve ark., 2020).

Radyasyona maruz kalındığında, zingeron aracılığıyla kontrol edilen çeşitli ROS oluşur (Rao ve ark., 2011). Zingeronun, radyasyona maruz kalan hücrelerde temizleyici enzimlerin üretimini artırdığı bilinmektedir. Apoptoz, yani programlı hücre ölümü, zingeron uygulaması ile engellenebilir. Apoptozun kontrolünde Bcl-2 (B hücreli lenfoma 2) ve Bax (Bcl-2 ilişkili X protein) adında iki önemli protein karşılıklı etkileşim halindedir. Bcl-2, hücre ölümünü önleyen bir proteindir; Bax ise hücre ölümünü teşvik eden bir proteindir. Bax proteini, ROS üretimi artınca aktive olur ve apoptozu başlatır. Ancak, zingeron uygulandığında Bcl-2'nin aktivitesi artar ve bu sayede Bax'ın yol açtığı apoptoz engellenir (Rao ve Rao, 2010). Yapılan araştırmalarda zingeron uygulamasının siklooksijenazlar (COX) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi proinflamatuvar enzim aktivitelerini inhibe edebileceğini, nükleer faktör kappa B (NF-κB) yolunu inaktive edebileceğini ve apoptotik belirteç üretimini düzenleyebileceğini bildirilmiştir (Ahmad ve ark., 2018, Kandemir ve ark., 2019). Ayrıca, zingeron, dimetil hidrazin ile muamele

edilen sıçan modellerinde doku antioksidan kapasitesinin ve lipid peroksidasyon seviyelerinin eş zamanlı modülasyonu yoluyla tümör oluşum sıklığını anlamlı derecede azaltır (Vinothkumar ve ark., 2014).

Zingeronun, sıçan beyin dokusunda ferrik askorbat tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe ederek antioksidan özellik gösterdiği deneysel olarak doğrulanmıştır (Rajakumar ve Rao, 1994). Zingeron antioksidan özellikleri nedeniyle sıçanlarda izoproterenol kaynaklı miyokard enfarktüsüne karşı kardiyoprotektif etki sağlamaktadır (Hemalatha ve Prince, 2015). Kronik stresli sıçanlarda zingeron uygulaması ile lipid peroksidasyonunun azalması, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (CAT) artan aktivitesi ile gösterildiği gibi zingeron önemli bir antioksidan etki sergilemektedir (Upadhyaya ve ark., 2022). Karragenan kaynaklı inflamasyon modelinde zingeron takviyesi malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO), COX-2, prostaglandin E2 (PGE₂), tümör nekroz faktörü (TNF- α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) seviyelerini azaltarak antioksidan ve antiinflamatuvar aktiviteler yoluyla klinik inflamasyon kontrolü için bir alternatif sağlamaktadır (Mehrzadi ve ark., 2021). Sıçanlarda kadmiyum kaynaklı nefrotoksisitede zingeron kullanımının oksidan/antioksidan dengesi, inflamatuvar yanıtı ve apoptozu modüle ettiği ve ayrıca histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği bildirilmiştir (Dawood ve ark., 2022).

Nitrit ve peroksinitrit anyonları, oksidatif stres koşullarında oluşan reaktif azot türleri (RNS) arasında yer alır. Bu bileşikler, NO ile moleküler oksijen arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkar. Zingeronun 25 μ g/ml konsantrasyonunda uygulanması, oksijenle rekabet ederek NO ile etkileşime girer ve böylece reaktif azot türlerinin oluşumunu inhibe eder (Rao ve Rao, 2010). Sisplatin, kemoterapötik bir ajan olarak yaygın biçimde kullanılmakta olup, ciddi yan etkilere yol açabilmektedir. Sisplatin ile tedavi edilen canlı sistemlerde sıklıkla antioksidan savunma mekanizmalarının zayıfladığı ve lipid peroksidasyonu sonucunda MDA düzeylerinde artış gözlemlendiği nefrotoksisite gelişmektedir. 50 mg/kg dozunda uygulanan zingeron, CAT ve GSH-Px enzimlerinin aktivitesini yeniden artırmakta ve buna bağlı olarak MDA üretimini anlamlı düzeyde düşürmektedir (Alibakhshi ve ark., 2018). Streptozotosin ve yüksek yağ içeriğine sahip diyetin (STZ/HFD) birlikte uygulanması, Wistar sıçanlarında tip 2 diyabet gelişimini indüklemekte ve reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimine yol açmaktadır. Zingeron uygulaması,

endojen antioksidan savunma sistemlerinin (örneğin SOD, CAT, GSH-Px gibi) enzimatik aktivitelerini modüle ederek, artan ROS düzeylerini etkin bir şekilde baskılamaktadır (Rehman ve ark., 2019).

Oksidatif stres; kanserler, sinir hücrelerinde hasar, hemoraji ve septik şok gibi çeşitli inflamatuvar patolojilerin temel patofizyolojik mekanizmasını oluşturmaktadır (Jomova ve ark., 2025). Günümüze kadar inflamatuvar hastalıkların yönetiminde güvenilir ve etkili bir farmasötik ajan geliştirilememiştir. Zingeron tedavisinin, inflamasyon gibi patolojilerin terapötik müdahalesinde etkin bir ilaç adayı olma potansiyeli bulunmaktadır. Zingeron peroksizom proliferatör aktive reseptör (PPAR) ile NF- κ B sinyal yollarının aktivitesini inhibitör etkilerle modüle etmektedir (Chung ve ark., 2009).

Adjuvan kaynaklı romatoid artrit üzerine yapılan bir çalışmada zingeron takviyesi NF- κ B, dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β), TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyelerini önemli ölçüde düşürmüş, IL-10 seviyelerini belirgin şekilde artırmıştır (Bashir ve ark., 2021). Zingeron, adriamisin zehirlenmesi geçiren farelerde MDA, nitrik oksit, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin böbrek seviyelerini önemli ölçüde düşürerek ve ayrıca böbrek NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , IL-6 seviyelerini azaltarak inflamasyonu, apoptozu ve oksidatif hasarı hafifletmektedir (Elshopakey ve ark., 2022). Sıçanlarda trastuzumab aracılı kardiyotoksisitede antioksidan ve antiinflamatuvar etkisiyle zingeronun kardiyoprotektif doğası ortaya koyulmuştur (Khan ve ark., 2023). Metotreksatla tedavi edilen sıçanlarda zingeron, karaciğer ve böbrekte bozulan antioksidan parametrelerde iyileştirici etki göstererek inflamasyon parametrelerinin düzeyini azaltmaktadır. Ayrıca apoptozu önler ve artan kaspaz-3 ekspresyonunu azaltarak azalmış Bcl-2 düzeyini yükseltip bozulan doku mimarisi üzerinde koruyucu etki gösterir (Türk ve ark., 2022).

Sıçanlarda alkolsüz yağlı karaciğer hastalığında ise zingeron glutatyon (GSH), SOD seviyelerini, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2'nin (Nrf2) nükleer seviyelerini yükseltmiş, inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini ve nükleer faktör kappa beta p65'in (NF- κ B p65) nükleer seviyelerini de düşürmüştür. Böylece zingeronun hepatik oksidatif stresi, inflamasyonu ve apoptozu önlediği ortaya çıkmıştır (Mohammed, 2022). Yapılan başka bir çalışmada zingeronun inflamasyon ve apoptozisin düzenlenmesi yoluyla nörodejenerasyonu engelleyerek nöronların korunmasında önemli rol

oynadığı saptanmıştır (Rashid ve ark., 2021). Yüksek yağlı diyet (HFD) kaynaklı bağırsak hasarına karşı zingeronun koruyucu etkisini inceleyen bir başka çalışmada, NF-B p65 nükleer seviyelerini düşürürken, SOD, CAT, GSH ve Nrf2 nükleer seviyelerini artırmıştır. Zingeron eş zamanlı olarak, duodenum MDA, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β seviyelerini düşürmüştür. HFD ile beslenen sıçanlarda tedavi amacıyla uygulanan zingerone, antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği sayesinde duodenum epitel hasarını hafifletmiştir (BinMowyna, 2023). Sodyum arsenit tarafından sıçanlarda oluşturulan testis toksisitesinde verilen zingeron, oksidatif stres ve inflamasyonu inhibe ederek testislerdeki toksisiteyi hafifletmiş ve sperm kalitesini de artırmıştır (Tuncer ve ark., 2024). Yapılan başka bir çalışmada, zingeron NF- κ B'yi baskılayarak ve AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) aracılığıyla Nrf2/HO-1 sinyal yollarını aktive ederek astımda inflamatuvar sitokinlerin salınımını iyileştirmekte ve hava yollarını oksidatif stres ve inflamasyon kaynaklı hasardan korumaktadır (Zhu ve ark., 2021).

Sonuç olarak, zingeronun serbest radikal süpürme kapasitesi ve inflamatuvar medyatörlerin inhibisyonu sayesinde koruyucu bir bileşik olarak işlev gördüğü saptanmıştır. Ayrıca, bu bulgular gelecekteki temel araştırmalar ve farmasötik geliştirme için geniş fırsatlar sunmaktadır. Dolayısıyla, zingeronun kombine ve güçlü antiinflamatuvar etkisi ile antioksidan etkinliği, kanser, astım, kardiyovasküler hastalıklar, hepatorenal toksisiteler, artrit ve osteoporoz gibi çeşitli patolojik durumların önlenmesi ve tedavisinde potansiyel terapötik bir ajan olarak değerlendirilebilir.

1.1.2 Antidiyabetik Etki Mekanizması

Diyabetes mellitus (DM), hiperglisemi ve glikozüri gibi komplikasyonlarla karakterize insülin salgılanması veya kullanım bozukluğudur. Son yıllarda yapılan araştırmalar, zingeronun diyabet ve diyabetle ilişkili komplikasyonlar üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, zingeron ile tedavi edilen diyabetik sıçanlarda yükselmiş serum böbrek parametrelerinde, lipid profilinde ve karaciğer enzim aktivitelerinde önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, diyabetik sıçanların böbrek dokularında NF- κ B, COX-2 ve TNF- α 'nın histopatolojik incelemesi ve ekspresyonunun azalması diyabetik nefropatide yararlı etkiye sahiptir. Bu sonuçların, zingeronun antihiperglisemik,

antioksidan ve anti-inflamatuar potansiyelinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (Singh ve ark., 2020). Yapılan başka bir çalışmada zingeron tedavisi ROS seviyelerini önemli ölçüde ortadan kaldırmış, NF- κ B aktivasyonunu inhibe etmiş ve inflammatuar moleküllerin (TNF- α , IL-6, IL-1 β) seviyesini önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca yapılan zingeron tedavisi böbrek toksisite belirteçlerinden böbrek hasarı molekülü-1 (KIM-1), kan üre azotu (BUN), kreatinin ve laktat dehidrojenaz (LDH) seviyelerini önemli ölçüde azaltmış böbrek işlevini iyileştirmiş ve dönüştürücü büyüme faktörü beta-1'i (TGF- β) de baskılamıştır. Tüm bu bulgular, zingeron tedavisinin anti-hiperglisemik, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler göstererek böbrek fonksiyonlarını iyileştirdiğini ve DM tedavisinde etkili olduğunu göstermektedir (Rehman ve ark., 2019). Diyabetik sıçan modelinde yara iyileşmesinde zingeronun etkinliğini araştıran bir çalışmada zingeron oksidatif stresi ve iltihabı azaltmanın yanı sıra, doku rejenerasyonu, anjiyogenezi, kollajen oluşumu, doku olgunlaşması ve keratinizasyonu önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Mokhtare ve Sağlam, 2025). Zingeron ile tedavi edilen diyabetik ratlarda glikoz seviyelerinde önemli bir azalma ile birlikte tüm yükselen lipid seviyeleri de düşmüştür. Zingeron, lipid peroksidasyon (LPO) seviyelerini önemli ölçüde düşürmüş, pankreas doku homojenatındaki GSH içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. Zingeron takviyesi Langerhans adacıklarının β -hücrelerinin yapısal bütünlüğünü, sayısını ve boyutunu da geri kazandırmıştır (Anwer ve ark., 2021). Alloksan kaynaklı diyabete karşı zingeronun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada zingeron GSH, SOD, CAT, GSH-Px aktivitesini arttırarak ve peroksidatif hasarı azaltarak alloksan kaynaklı oksidatif stresi sınırlamıştır. Ayrıca zingeron NF κ B seviyesini baskılayarak interlökinler (IL1- β IL-2, IL-6) ve TNF- α gibi diğer flow sitometrik inflammatuar sitokinlerini de azaltmaktadır (Ahmad ve ark., 2018). Sonuçlar bir araya getirildiğinde zingeronun diyabet kaynaklı komplikasyonları etkili bir şekilde iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu da zingeronun diyabet tedavisinde klinik olarak kullanılması için güçlü bir teorik temel sağlamaktadır.

1.1.3 Antidiyareik Etki Mekanizması

Bağırsak enfeksiyonları, küresel ölçekte ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Hem insan hem de hayvan popülasyonlarını olumsuz yönde

etkilemektedir. Akut diyare, özellikle enfekte bireylerde görülen yoğun sıvı kaybı nedeniyle hem çocuklarda hem de yetişkinlerde başlıca mortalite nedenlerinden biri olarak öne çıkmaktadır. Diyare gelişiminde etkili olan mekanizmalar arasında osmotik dengenin bozulması, sekresyonel disfonksiyonlar, intestinal inflamasyon ve gastrointestinal motilitedeki düzensizlikler yer almaktadır. Hem çocuklarda hem de yetişkin bireylerde akut diyarenin yaygın olarak görülmeye devam etmesi, hijyen koşullarına uyulmayan beslenme pratikleri ile kontamine gıda ve su tüketimiyle ilişkilendirilmektedir. *Escherichia coli* bakterisinin, enterik enfeksiyonlar ve diyarenin başlıca etkenlerinden biri olduğu belirlenmiştir. Bu bakterinin, sindirim kanalında özellikle kolon motilitesini baskılayan enterotoksinler ürettiği bilinmektedir (Daswani ve ark., 2010).

Zingeronun, rat modellerinde aşırı gastrointestinal motiliteyi baskılayarak hipermotiliteye bağlı diyare üzerinde potansiyel terapötik faydalar sağlayabileceği öne sürülmektedir. Yapılan araştırmalar zingeronun, fare ileumunda *Escherichia coli*'nin farklı patotiplerine ait enterotoksinlerin neden olduğu sıvı sekresyonunu inhibe etme kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymuştur (Chen ve ark., 2007). Bu bileşiğin yalnızca in vitro koşullarda değil, aynı zamanda sıçan modellerinde in vivo olarak da kolonun motilitesini baskıladığı belirlenmiştir. Gastrointestinal motilitenin anormal derecede artması ve gastrointestinal sistemde aşırı sıvı sekresyonu diyarenin temel mekanizmaları içinde olduğundan, zencefilin antidiyareik etkisinin başlıca biyolojik bileşen olan zingerondan kaynaklandığını düşündürmektedir. Zingeron, doğrudan kolon düz kas hücreleri üzerinde etki göstererek kolonik motiliteyi baskılayıcı bir fonksiyon sergilemektedir (Iwami ve ark., 2011).

1.1.4 Lipolitik Etki Mekanizması

Obezite, yüksek oranda vücut yağı birikimi ile karakterize olup, diyabet, kalp yetmezliği ve malign neoplazmlar gibi birçok kronik hastalığın gelişiminde önemli rol oynayan olumsuz sağlık sonuçlarına yol açmaktadır (Mohajan ve Mohajan, 2023). Dengesiz beslenme alışkanlıkları ve mesleki stres, obezitenin ortaya çıkmasında etkili faktörler olarak kabul edilmekte olup, obezitenin semptomlarını kalıcı şekilde kontrol altına alabilecek etkin bir tedavi yaklaşımı henüz geliştirilmemiştir. Bilinen bazı lipolitik farmasötik ajanların yan etkileri bulunmaktadır. Araştırmalar, fitokimyasalların etkin,

toksisite riski düşük ve güvenilir potansiyel antiobeziter terapötik ajanlar olduğunu ortaya koymuştur (Poulios ve ark., 2024). Çalışmalar, zingeronun vücut yağ dokusunun metabolizmasını artırdığını ve yüksek yağlı diyetle beslenen hayvanlarda zingeron içeren besinlerin tüketiminin lipid seviyelerinde anlamlı bir azalma sağladığını ortaya koymuştur. Ayrıca, azalmış kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlığındaki düşüş, zingeronun ovariectomize edilmiş sıçanlarda etkili bir lipolitik aktivite sergilediğini göstermiştir. Bu etkinin mekanizması, hayvanların adipositlerinde norepinefrin aracılığıyla tetiklenen lipolitik süreçlere bağlanmaktadır (Han ve ark., 2008). Yapılan bir çalışma zingeronun düşük bir konsantrasyonda (100 µM) izoprenalin aracılığıyla sıçanların yağ dokusunda lipolizi uyurabildiğini ortaya koymuştur (Pulbutr ve ark., 2011). Bu durum, zingeronun düzenli diyetle alınmasının, vücut hücrelerinde lipolitik süreçleri aktive ederek yağ kütlelerinde azalmaya katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Mevcut çalışmalar, zingeronun potansiyel bir lipolitik ajan olarak terapötik kullanımını desteklemektedir. Ayrıca, zingeronun belirgin lipolitik etkinliği doğrultusunda, bu bileşiği içeren bitkisel bazlı bir formülasyonun patentlendiği bildirilmiştir (US8197859) (Takizawa ve ark., 2012). Zingeronun alkol kaynaklı karaciğer hasarına karşı etkinliğini bildiren bir çalışmada zingeron lipid profilini iyileştirmektedir (Mani ve ark., 2017). Dikkat çekici biçimde, lipolitik aktiviteye ilişkin bilimsel çalışmalar sınırlı sayıdadır ve bu konunun hücre ile moleküler düzeyde daha derinlemesine incelenmesi gerekmektedir. Zingeronun, obezite ile mücadelede etkili olarak çağdaş toplumlarda yaşam süresini uzatma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

1.1.5 Antikanser ve Antitümör Etki Mekanizması

Küresel düzeyde başlıca ölüm nedenlerinden biri olan kanser hem birey hem de toplum açısından ciddi bir sağlık yükü teşkil etmektedir. Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir biçimde bölünmesidir. Her yaş grubunda görülebilen kanser, vücudun çeşitli doku ve organlarında farklı zamanlarda kendini gösterebilir. Kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçlar vücudun yaşamsal organlarında önemli sistemik yan etkilere neden olmaktadır (Dietrich ve Clein, 2014). Ayrıca, tümörler hücre tiplerinin heterojenliğinin klonal seçimi yoluyla bu tür kanser karşıtı ilaçlara karşı direnç geliştirebilir. Meyveler,

sebzeler, baharatlar ile flavonoidler ve fenolik alkanonlar gibi doğal diyet bileşenleri ve saflaştırılmış doğal bileşikler, kanser gelişimini engelleme potansiyelleri nedeniyle hem araştırmacıların hem de toplumun yoğun ilgisini uyandırmıştır (Aggarwal ve Shishodia, 2006). Bitkiler toksik olmayan ve güçlü antikanser bileşikler için potansiyel bir kaynaktır ve araştırmalar çeşitli deneysel modellerde zencefil köksapının tümör inhibe edici aktivitesi olduğunu kanıtlamıştır (Bhanot ve ark., 2011; Butt ve ark., 2013; Pereira ve ark., 2011).

Zingeronun kolon kanserine karşı antikanser potansiyeli, lipid peroksidasyonunun baskılanması, enzimatik antioksidan ve enzimatik olmayan antioksidanların artan ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Zingeron takviyesi hayvanlarda tümör oluşumunda ve oksidatif strese önemli azalmaya yol açmaktadır (Vinothkumar ve ark., 2014). Zingeronun hepatosellüler karsinoma (HCC) ve onun metastazına karşı etkili olduğu ve HCC'nin metastazı için epitel mezenkimal geçişi (EMT) düzenleyen TGF- β 1 üzerinde etkisi bulunmuştur (Kim ve ark., 2017). Ayrıca, bu bileşiğin nanopartikülleri (10 mg/kg) tümör hücrelerinde hücre çoğalmasını azaltma ve bileşiğin farmakolojik özelliklerini geliştirmede etkin olduğu görülmüştür (Kung ve ark., 2019). Tümör gelişimi anjiyogenez tarafından kontrol edilir ve bu bileşiğin tümör anjiyogenezine karşı da etkili olduğu bulunmuştur. Anjiyogenez sırasında bazal membranın parçalanması için matris metalloproteinazlar (MMP'ler) gereklidir. Zingerone ile tedavi edilen tümör hücreleri, MMP-2 ve MMP-9 aktivitelerini azaltarak anjiyogenezi daha da azaltmıştır (Bae ve ark., 2016). Zingeron, bir meme kanseri fare modelinde T hücresi aracılı ve antikor tepkilerini geliştirmiş ve böylece kanseri önlemeye yardımcı olmuştur (Kazemi ve ark., 2021). Zingeron kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek komşu dokularda inflamasyonu ve yan etkiyi sınırlayan kontrollü bir hücre ölüm sürecini tetikleyebilir. Böylece etkin ve hedefe yönelik tedavide zingeronun iyi bir potansiyei vardır (Mahesha ve ark., 2025). Zingeronun kanserle mücadelede gösterdiği yüksek biyolojik aktivite, onu güçlü bir antikanser bileşik olarak değerlendirmeye ve bilimsel çevrelerin dikkatini çekmeye yetmiştir.

1.1.6 Antiemetik Etki Mekanizması

Kemoterapi uygulanan kanser hastalarında tedavi sürecini olumsuz etkileyen en yaygın yan etkiler arasında bulantı ve kusma bulunmaktadır. Zencefil, bulantı ve kusmaya karşı etkili bir antiemetik ajan olarak tedavi sürecinde önemli bir destek sağlar. Zencefil takviyesi, kemoterapiye bağlı gelişen mide bulantısının hafifletilmesinde anlamlı bir rol oynamaktadır (Pillai ve ark., 2011; Ryan ve ark., 2012). Zencefil, uzun yıllardır küresel çapta geleneksel tıpta kullanılan bir bitkisel ilaçtır. Çeşitli gastrointestinal hastalıkların tedavisinde yaygın şekilde tercih edilmiştir. Aynı zamanda etkili bir antispazmodik ajan olarak işlev görür. Zingeronun, merkezi ve periferik sinir sistemlerinin serotonin reseptörlerine karşı antagonistik bir işlevi olduğu bilinmektedir. Visseral afferent nöronlarda 5-HT₃ reseptörlerine karşı rekabetçi olmayan bir antagonist olarak etki eder (Jin ve ark., 2014). Bu sebeple zingeron, sitotoksik kemoterapiye bağlı gelişen kusma ile postoperatif bulantı ve kusmanın tedavisinde uygulanabilir (Sharma ve ark., 1997).

1.1.7 Radyasyon Kaynaklı Stresi Baskılama Etki Mekanizması

Radyoterapi, özellikle cerrahi seçeneklerin sınırlı olduğu durumlarda, kanser başta olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kritik bir rol oynamaktadır. Ancak, radyasyon uygulaması organlarda oksidatif stresin artmasına neden olup dokuların zarar görmesine yol açabilir ve mevcut radyoprotektif ajanlar optimal dozlarda dahi toksik etkiye sahip olabilir (Mahumud ve ark., 2024). Diyetteki fitokimyasallar, özellikle zencefil köksapı, toksik olmayan, güvenli ve güçlü aktivitesi nedeniyle son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Baliga ve ark., 2012). Zingeronun, E. coli'de ultraviyole (UV) radyasyon, süperoksit anyonları ve in vitro peroksinitrat radikalleri tarafından indüklenen mutasyonu inhibe ederek çeşitli biyolojik etkiler gösterdiği de kanıtlanmıştır (Motohashi ve ark., 1997). Zingeron radyasyon kaynaklı serbest radikalleri nötralize eder ve antioksidan potansiyeli gösterir (Rao ve ark. 2009). Zingeronun ayrıca radyasyon kaynaklı oksidatif stresi ve serbest radikal temizleme potansiyelini inhibe etmesi nedeniyle anti-apoptotik, antijenotoksik ve anti-inflamatuvar aktivite gösterdiği bulunmuştur (Rao ve ark., 2011). Kaspazlar ve Bax proteinleri radyasyon kaynaklı sitotoksitede kritik bir rol oynar ve zingeron kaspaz3 ve Bcl

proteinlerinin ifadesini önemli ölçüde düzenleyerek sitotoksitenin azalmasına neden olmaktadır (Nageshwar Rao ve Satish Rao, 2010).

Zingeronun radyasyona karşı koruyucu etkisi, güçlü antioksidan özelliğinden kaynaklanır. Bu madde, radyasyon sonucu oluşan reaktif oksijen türlerini (ROS) ve oksidatif stresi etkisiz hale getirerek hücreleri korur. Radyasyon, hücrelerde apoptoza (programlı hücre ölümü) yol açar ve bu süreçte ROS'lar Bax adlı proteinin aktivasyonunu tetikler (Buccellato ve ark., 2004). Bax proteini apoptozu başlatırken, Bcl-2 adlı başka bir protein hücreyi bu süreçten korur (Cory ve Adams, 2002). Zingeron, apoptotik süreci durdurmak için birkaç yoldan etki gösterir: Kaspaz enzimlerinin aktivasyonunu azaltır, Bcl-2 gibi hücre koruyucu proteinlerin seviyesini artırır ve Bax gibi apoptozu teşvik eden proteinlerin miktarını azaltır. Böylece, zingeron hücre ölümünü önlemeye yardımcı olur.

1.1.8 Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Etki Mekanizması

Zingeron biyolojik olarak aktif bir moleküldür ve farmakolojik aktivitesi hakkında birçok çalışma mevcuttur. Ancak, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesi ile ilgili bilgiler literatürde sınırlı sayıdadır. Zingeron gastrointestinal motilitenin inhibisyonu ile bağlantılı olan hipermotilite kaynaklı ishalde koruyucu etki göstermiştir (Iwami ve ark., 2011). Yapılan bir çalışma da zingeron takviyeli Pasifik beyaz karidesi (*Litopenaeus vannamei*) yavrularının bağışıklığının güçlendiğini ve mücadeleye karşı koruma sağladığını göstermiştir (Chang ve ark., 2012). Zingeron bakteriyel patojenler üzerinde doğrudan antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Çalışmalar, zingeronun sentetik yeni kinolin türevlerinin çeşitli gram pozitif ve gram negatif bakteriler için gelişmiş antimikrobiyal aktivite sergilediğini göstermiştir (Manjunatha ve ark., 2013). Zingeron MİK (minimum inhibitör konsantrasyon) altında biyofilm oluşumunu inhibe eder ve ayrıca gram negatif nozokomiyal (sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyonlar) patojen *Pseudomonas aeruginosa* tarafından biyofilm oluşumuna karşı siprofloksasinin biyofilm eradikasyon potansiyeline katkıda bulunmaktadır (Kumar ve ark., 2013). Biofilmler antibiyotiklere karşı karmaşık bir bariyer oluşturarak patojeni korur ve bu nedenle kronik enfeksiyonların çoğundan sorumludur (Kumar ve ark., 2009). Son yıllarda, bakterilerin biyofilm formundaki ilaç direnç mekanizmalarını hedefleyebilen etkili antibiyofilm bileşiklerinin keşfi büyük

bir öncelik kazanmıştır. Bu bağlamda, zingeronun *Pseudomonas aeruginosa* biyofilm kaynaklı enfeksiyonlara karşı potansiyel bir anti-enfektif ajan olarak işlev görebileceği ileri sürülmektedir. Zingeron, hastanelerde toksik olmayan dezenfektan solüsyonu olarak ve ayrıca *P. aeruginosa* nozokomiyal enfeksiyonlarının ortaya çıkmasını azaltabilecek diğer abiyotik yüzeyleri tedavi etmek için kullanılabilir (Kumar ve ark., 2013). Bu nedenle zingeronun, yalnızca patojenin antibiyotiklere duyarlılığını değiştirmekle kalmayıp aynı zamanda konakçıyı *Pseudomonas* enfeksiyonları sırasında oluşan inflamatuvar hasara karşı koruyacak güçlü bir antivirülan ilaç adayı olması muhtemeldir. Yapılan başka bir çalışmada zingeronun *Candida albicans*'a karşı güçlü antifungal özelliklerini vurgulayarak, planktonik büyümeyi engelleme, biyofilm oluşumunu bozma ve morfolojik geçişleri bozma yeteneği sergilediği belirtilmektedir (Chougule ve ark., 2025).

Sonuç olarak değişen yaşam biçimleri doğrultusunda, hastalıkların tedavisinde doğal ürünlerin kullanımına yönelik eğilim giderek artmaktadır. Küresel çapta bireyler, sentetik ürünlere kıyasla daha az yan etkiye sahip olmaları nedeniyle doğal bileşenleri tercih etmektedir. İnsanların sağlık ve beslenme konusundaki bilinç düzeyinin yükselmesi, farmasötik amaçlarla doğal ilaçların kullanımını yaygınlaştırmıştır. Zencefil, neredeyse ihmal edilebilir yan etkileriyle dikkat çeken güçlü bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Organizmadaki serbest radikallerin eliminasyonuna katkı sağlayarak oksidatif stresi azaltması, zingeronun birçok önemli hastalığa karşı koruyucu etkisinin temelini oluşturmaktadır. Ayrıca, zingeron immünostimülan özelliklere sahip olup, solunum patlaması, fagositik aktivite ve patojenlere karşı bağışıklık direncini artırıcı biyolojik fonksiyonlar sergilemektedir. Beslenmede mükemmel bir destek maddesi olarak kullanılabilen zingeron, vücudun büyüme ve bakım süreçlerine katkıda bulunmakta, ayrıca kilo alımı ve yem dönüşüm verimliliğinde artış sağlamaktadır. Güçlü anti-inflamatuvar etkileri sayesinde hepatoprotektif ajan olarak işlev görebilir; inflamasyon medyatörlerinin regülasyonu ile inflamasyonu ve toksisiteyi azaltarak, birçok inflamatuvar hastalığın tedavisinde yaygın biçimde kullanılabilir. Zingeronun çeşitli etkileri kapsamlı şekilde incelenmiş olmakla birlikte, bu doğal bileşiğin klinik uygulamaları üzerine daha ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanında, zingeronun bilinen metabolik fonksiyonları, sentetik ilaçların

olumsuz yan etkilerinden kaçınmak amacıyla terapötik kullanımı için yeni olanaklar sunabilir.

KAYNAKÇA

- Aggarwal, B. B., Shishodia, S. (2006). Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*, 71(10): 1397-1421.
- Ahmad, B., Rehman, M.U., Amin, I., Arif, A., Rasool, S., Bhat, S. A., Afzal, I., Hussain, I., Bilal, S., Mir, M.U.R. (2015). A review on pharmacological properties of zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) -2-butanone). *The Scientific World Journal*, 1: 816364.
- Ahmad, B., Rehman, M. U., Amin, I., Ahmad, S. B., Farooq, A., Muzamil, S., Hussain, I., Masoodi, M., Fatima, B. (2018). Zingerone (4-(4-hydroxy-3-methylphenyl) butan-2-one) protects against alloxan-induced diabetes via alleviation of oxidative stress and inflammation: probable role of NF-kB activation. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 26(8): 1137-1145.
- Akaras, N., Gur, C., Kucukler, S., Kandemir, F. M. (2023). Zingerone reduces sodium arsenite-induced nephrotoxicity by regulating oxidative stress, inflammation, apoptosis and histopathological changes. *Chemico-biological Interactions*, 374: 110410.
- Alibakhshi, T., Khodayar, M.J., Khorsandi. L., Rashno. M., Zeidooni. L. (2018). Protective effects of zingerone on oxidative stress and inflammation in cisplatin-induced rat nephrotoxicity. *Biomed Pharmacother*, 105: 225–32.
- Alipour, A., Baradaran Rahimi, V., Askari, V.R. (2022). Promising influences of gingerols against metabolic syndrome: A mechanistic review. *Biofactors*, 48(5): 993-1004.
- Anwer, T., Alkarbi, Z. A., Hassan Najmi, A., Alshahrani, S., Siddiqui, R., Khan, G., Firoz Alam, M. (2021). Modulatory effect of zingerone against STZ-nicotinamide induced type-2 diabetes mellitus in rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 127(4): 304-310.
- Bae, W.Y., Choi, J.S., Kim, J.E., Park, C., Jeong, J.W. (2016). Zingerone suppresses angiogenesis via inhibition of matrix metalloproteinases during tumor development. *Oncotarget*, 7: 47232–47241.
- Baliga, M.S., Haniadka, R., Pereira, M.M., Thilakchand, K.R., Rao, S., Arora, R. (2012). Radioprotective effects of Zingiber officinale Roscoe (Ginger): Past, present and future. *Food and Function*, 3(7): 714-723.

- Bashir, N., Ahmad, S. B., Rehman, M.U., Muzamil, S., Bhat, R. R., Mir, M.U.R., Shazly, G.A., Ibrahim, M.A., Elossaily, G.M., Sherif, A.Y., Kazi, M. (2021). Zingerone (4-(four-hydroxy-3-methylphenyl) butane-two-1) modulates adjuvant-induced rheumatoid arthritis by regulating inflammatory cytokines and antioxidants. *Redox Report*, 26(1): 62-70.
- Bhanot, A., Sharma, R., Noolvi, M.N. (2011). Natural sources as potential anti-cancer agents: A review. *International Journal of Phytomedicine*, 3(1): 9-26.
- BinMowyna, M.N. (2023). Zingerone attenuates intestinal injury and colitis caused by a high-fat diet through Nrf2 signaling regulation. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(10): 103775.
- Buccellato L.J., Tso M., Akinci O.I., Chandel N.S., and Budinger G.R.S. (2004). Reactive oxygen species are required for hyperoxia-induced Bax activation and cell death in alveolar epithelial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(8): 6753–6760.
- Butt, M.S., Naz, A., Sultan, M.T., Qayyum, M.M.N. (2013). Antioncogenic perspectives of spices/herbs: A comprehensive review. *EXCLI Journal*, 12: 1043-1065.
- Chang, Y.P., Liu, C.H., Wu, C.C., Chiang, C.M., Lian, J.L., Hsieh, S.L. (2012). Dietary administration of zingerone to enhance growth, nonspecific immune response, and resistance to *Vibrio alginolyticus* in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) juveniles. *Fish and Shellfish Immunology*, 32(2): 284290.
- Chen, J.C., Huang, L.J., Wu, S.L., Kuo, S.C., Ho, T.Y., & Hsiang, C. Y. (2007). Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21): 8390-8397.
- Chougule, S., Basrani, S., Gavandi, T., Patil, S., Yankanchi, S., Jadhav, A., Karuppayil, S.M. (2025). Zingerone effect against *Candida albicans* growth and biofilm production. *Journal of Medical Mycology*, 35(1): 101527.
- Chung, S.W., Kim, M.K., Chung, J.H., Kim, D.H., Choi, J.S., Anton, S., Seo, A.Y., Park, K.Y., Yokozawa, T., Rhee, S.H., Yu, B.P., Chung, H. Y. (2009). Peroxisome proliferator-activated receptor activation by a short-term feeding of zingerone in aged rats. *Journal of Medicinal*

- Food*, 12(2): 345-350.
- Cory, S., Adams J. M. (2002). The BCL2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9): 647–656.
- Cotton W. J. (1945). Production of zingerone. Google Patents.
- Daswani, P.G., Brijesh, S., Tatali, P., Antia, N.H., Birdi, T.J. (2010). Antidiarrhoeal activity of *Zingiber officinale* (Roscoe). *Current Science*, 222-229.
- Dawood, S. M., Mumtaz, F., Padiya, R. (2022). Zingerone alleviates cadmium-induced nephrotoxicity in rats via its antioxidant and anti-apoptotic properties. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 43: 1-10.
- Dietrich, J., Klein, J.P. (2014). Imaging of cancer therapy-induced central nervous system toxicity. *Neurologic Clinics*, 32(1): 147-157.
- Elshopakey, G.E., Almeer, R., Alfaraj, S., Albasher, G., Abdelgawad, M.E., Abdel Moneim, A.E., Essawy, E.A. (2022). Zingerone mitigates inflammation, apoptosis and oxidative injuries associated with renal impairment in adriamycin-intoxicated mice. *Toxin Reviews*, 41(3): 731-742.
- Han, L. K., Morimoto, C., Zheng, Y. N., Li, W., Asami, E., Okuda, H., & Saito, M. (2008). Effects of zingerone on fat storage in ovariectomized rats. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 128(8): 1195-1201.
- Hemalatha, K.L., Prince, P.S.M. (2015). Preventive effects of zingerone on altered lipid peroxides and nonenzymatic antioxidants in the circulation of isoproterenol-induced myocardial infarcted rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(2): 63-69.
- Hemalatha, K.L., Stanely Mainzen Prince, P. (2015). Antihyperlipidaemic, antihypertrophic, and reducing effects of zingerone on experimentally induced myocardial infarcted rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 29(4): 182-188.
- Iwami, M., Shiina, T., Hirayama, H., Shima, T., Takewaki, T., Shimizu, Y. (2011) Inhibitory effects of zingerone, a pungent component of *Zingiber officinale* Roscoe, on colonic motility in rats. *Journal of Natural Medicine*, 65: 89-94.
- Jin, Z., Lee, G., Kim, S., Park, C. S., Park, Y. S., Jin, Y. H. (2014). Ginger

- and its pungent constituents non-competitively inhibit serotonin currents on visceral afferent neurons. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 18(2): 149.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Valko, R., Liska, J., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2025). Flavonoids and their role in oxidative stress, inflammation, and human diseases. *Chemico-Biological Interactions*, 111489.
- Kandemir, F.M., Yildirim, S., Kucukler, S., Caglayan, C., Mahamadu, A., Dortbudak, M. B. (2018). Therapeutic efficacy of zingerone against vancomycin-induced oxidative stress, inflammation, apoptosis and aquaporin 1 permeability in rat kidney. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105: 981-991.
- Kandemir, F.M., Yildirim, S., Caglayan, C., Kucukler, S., Eser, G. (2019). Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 22562-22574.
- Kazemi, M., Jafarzadeh, A., Nemati, M., Taghipour, F., Oladpour, O., Rezayati, M. T., Khorramdelazad, H., Hassan, Z. M. (2021). Zingerone improves the immune responses in an animal model of breast cancer. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 18(2): 303-310.
- Khan, G., Alam, M. F., Alshahrani, S., Almoshari, Y., Jali, A. M., Alqahtani, S., Khalid, M., Ullah, S.N.M.N. Anwer, T. (2023). Trastuzumab-mediated cardiotoxicity and its preventive intervention by zingerone through antioxidant and inflammatory pathway in rats. *Journal of Personalized Medicine*, 13(5): 750.
- Kim, Y.J., Jeon, Y., Kim, T., Lim, W.C., Ham, J., Park, Y.N., Kim, T.J., Ko, H. (2017). Combined treatment with zingerone and its novel derivative synergistically inhibits TGF- β 1 induced epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27: 1081-88.
- Kumar, R., Chhibber, S., Harjai, K. (2009). Quorum sensing is necessary for the virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during urinary tract infection. *Kidney International*, 3(3): 286292.

- Kumar, L., Chhibber, S., Harjai, K. (2013). Zingerone inhibit biofilm formation and improve antibiofilm efficacy of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Fitoterapia*, 90: 73-78.
- Kung, M.L., Lin, P.Y., Huang, S.T., Tai, M.H., Hsieh, S.L., Wu, C.C., Yeh, B.W., Wu, W.J., Hsieh, S. (2019). Zingerone nanotetramer strengthened the polypharmacological efficacy of zingerone on human hepatoma cell lines. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11: 137-150.
- Lee, W., Ku, S.K., Kim, M.A., Bae, J.S. (2017). Anti-factor Xa activities of zingerone with anti-platelet aggregation activity. *Food and Chemical Toxicology*, 105: 186-193.
- Lee, C. H., Lee, D.H., Lee, S.M., Kim, S.Y. (2020). Otoprotective effects of zingerone on cisplatin-induced ototoxicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10): 3503.
- Mahesha, H., Prashanth, K.H., Bettadaiah, B.K. (2025). The bioconjugates of curcumin, zingerone and [6]-shogaol with low molecular weight chitosan: Synthesis, characterization and in vitro anticancer activity in HepG2 cells. *International Journal of Biological Macromolecules*, 296: 139785.
- Mahumud, R.A., Shahjalal, M., Dahal, P.K., Mosharaf, M.P., Hoque, M.E., Wawryk, O. (2024). Systemic therapy and radiotherapy related complications and subsequent hospitalisation rates: a systematic review. *BMC Cancer*, 24(1): 826.
- Mani, V., Arivalagan, S., Siddique, A.I., Namasivayam, N. (2016). Antioxidant and anti-inflammatory role of zingerone in ethanol-induced hepatotoxicity. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 421: 169-181.
- Mani, V., Arivalagan, S., Siddique, A. I., Namasivayam, N. (2017). Antihyperlipidemic and antiapoptotic potential of zingerone on alcohol induced hepatotoxicity in experimental rats. *Chemico-biological Interactions*, 272: 197-206.
- Manjunatha, J. R., Bettadaiah, B.K., Negi, P.S., Srinivas, P. (2013). Synthesis of quinoline derivatives of tetrahydrocurcumin and zingerone and evaluation of their antioxidant and antibacterial attributes. *Food Chemistry*, 136(2): 650658.
- Mehrzadi, S., Khalili, H., Fatemi, I., Malayeri, A., Siahpoosh, A., Goudarzi,

- M. (2021). Zingerone mitigates carrageenan-induced inflammation through antioxidant and anti-inflammatory activities. *Inflammation*, 44: 186-193.
- Mohajan, D., Mohajan, H.K. (2023). Obesity and its related diseases: a new escalating alarming in global health. *Journal of Innovations in Medical Research*, 2(3): 12-23.
- Mohammed, H.M. (2022). Zingerone ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in rats by activating AMPK. *Journal of Food Biochemistry*, 46(7): e14149.
- Mokhtare, B., Saglam, Y.S. (2025). Investigation of the Zingerone's effects on wound healing in induced diabetic rats model. *Archives of Dermatological Research*, 317(1): 484.
- Motohashi N., Ashihara Y., Yamagami C., and Saito Y. (1997). Antimutagenic effects of dehydrozingerone and its analogs on UV-induced mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 377(1): 17–25.
- Nageshwar Rao, B.; Satish Rao, B.S. (2010). Antagonistic effects of Zingerone, a phenolic alkanone against radiationinduced cytotoxicity, genotoxicity, apoptosis and oxidative stress in Chinese hamster lung fibroblast cells growing in vitro. *Mutagenesis*, 25(6): 577-587.
- Pereira, M.M., Haniadka, R., Chacko, P.P., Palatty, P.L., Baliga, M.S. (2011). *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) as anadjuvant in cancer treatment: A review. *Journal of BUON*, 16(3): 414-424.
- Pillai, A.K., Sharma, K.K., Gupta, Y.K., Bakhshi, S. (2011). Anti-emetic effect of ginger powder versus placebo as an add-on therapy in children and young adults receiving high emetogenic chemotherapy. *Pediatric Blood & Cancer*, 56(2): 234-238.
- Poulios, E., Koukounari, S., Psara, E., Vasios, G. K., Sakarikou, C., Giaginis, C. (2024). Anti-obesity properties of phytochemicals: Highlighting their molecular mechanisms against obesity. *Current Medicinal Chemistry*, 31(1): 25-61.
- Pranowo, D., Raharjo, T.J. (2019). Synthesis of zingerone using $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - NaBH_4 as a selective hydrogenation reaction agent. *In Materials Science Forum*, 948: 127-132.

- Pulbutr, P., Thunchomnang, K., Lawa, K., Mangkhalathon, A., Saenubol, P. (2011). Lipolytic effects of zingerone in adipocytes isolated from normal Dietfed rats and high fat Diet fed rats. *International Journal of Pharmacology*, 7(5): 629634.
- Rajakumar, D.V., Rao, M.N. (1994). Dehydrozingerone and its analogues as inhibitors of nonenzymatic lipid peroxidation. *Die Pharmazie*, 49(7): 516-519.
- Rao, B. N., Rao, B.S.S., Aithal, B.K., Kumar, M.R.S. (2009). Radiomodifying and anticlastogenic effect of Zingerone on Swiss albino mice exposed to whole body gamma radiation. *Mutation Research – Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 677 (12): 3341.
- Rao, B.N., Rao, B.S.S. (2010). Antagonistic effects of Zingerone, a phenolic alkanone against radiation-induced cytotoxicity, genotoxicity, apoptosis and oxidative stress in Chinese hamster lung fibroblast cells growing in vitro. *Mutagenesis*, 25: 577–587.
- Rao, B.N., Archana, P.R., Aithal, B.K., Rao, B.S.S. (2011). Protective effect of zingerone, a dietary compound against radiation induced genetic damage and apoptosis in human lymphocytes. *European Journal of Pharmacology*, 657: 59-66.
- Rashid, S., Wali, A. F., Rashid, S. M., Alsaffar, R. M., Ahmad, A., Jan, B. L., Paray, B.A., Alqahtani, S.M.A., Arafah, A., Rehman, M. U. (2021). Zingerone targets status epilepticus by blocking hippocampal neurodegeneration via regulation of redox imbalance, inflammation and apoptosis. *Pharmaceutics*, 14(2), 146.
- Rehman, M. U., Rashid, S. M., Rasool, S., Shakeel, S., Ahmad, B., Ahmad, S. B., Madkhali, H., Ganaie, M.A., Majid, S., Bhat, S. A. (2019). Zingerone (4-(4-hydroxy-3-methylphenyl) butan-2-one) ameliorates renal function via controlling oxidative burst and inflammation in experimental diabetic nephropathy. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 125(3), 201-209.
- Ryan, J. L., Heckler, C. E., Roscoe, J. A., Dakhil, S. R., Kirshner, J., Flynn, P. J., Hickok, J.T., Morrow, G. R. (2012). Ginger (*Zingiber officinale*) reduces acute chemotherapy-induced nausea: a URCC CCOP study of 576 patients. *Supportive Care in Cancer*, 20: 1479-1489.
- Safhi, M.M. (2018). Nephroprotective effect of Zingerone against CCl4-

- induced renal toxicity in Swiss albino mice: molecular mechanism. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018: 1-7.
- Sahoo, B. C., Sahoo, S., Nayak, S., Kar, B. (2022). Pharmacological activity and biochemical interaction of zingerone: a flavour additive in spice food. *Plant Sci Today*, 9(1), 81-88.
- Shamsabadi, S., Nazer, Y., Ghasemi, J., Mahzoon, E., Rahimi, V. B., Ajiboye, B. O., Askari, V. R. (2023). Promising influences of zingerone against natural and chemical toxins: a comprehensive and mechanistic review. *Toxicon*, 233: 107247.
- Sharma, S.S., Kochupillai, V., Gupta, S.K., Seth, S.D., Gupta, Y.K. (1997). Antiemetic efficacy of ginger (*Zingiber officinale*) against cisplatin-induced emesis in dogs. *Journal of Ethnopharmacology*, 57(2), 93-96.
- Singh, G., Kapoor, I.P.S., Singh, P., de Heluani, C.S., de Lampasona, M.P., Catalan, C.A. (2008). Chemistry, antioxidant and antimicrobial investigations on essential oil and oleoresins of *Zingiber officinale*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3295-3302.
- Singh, B., Kumar, A., Singh, H., Kaur, S., Kaur, S., Buttar, H. S., Arora, S., Singh, B. (2020). Zingerone produces antidiabetic effects and attenuates diabetic nephropathy by reducing oxidative stress and overexpression of NF- κ B, TNF- α , and COX-2 proteins in rats. *Journal of Functional Foods*, 74: 104199.
- Smith, L.R. (1996). Rheosmin ("raspberry ketone") and zingerone and their preparation by crossed aldol-catalytic hydrogenation sequences. *The Chemical Educator*, 1(3): 1-8.
- Supardan, M.D., Fuadi, A., Alam, P., N, Arpi, N. (2012). Solvent extraction of ginger oleoresin using ultrasound. *Makara Journal of Science*, 7: 163-67.
- Takizawa, M., Sato, M., Kusuoku, H., Sakasai, M. (2012). Lipolysis stimulator. Google Patents.
- Tan, K.H. (2009). Fruit fly pests as pollinators of wild orchids. *Orchid Digest*, 73(3): 180-87.
- Tan, K.H., Nishida, R. (2007). Zingerone in the floral synomone of *Bulbophyllum baileyi* Orchidaceae) attracts *Bactrocera* fruit flies during pollination. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(6): 334-341.
- Tuncer, S. Ç., Gur, C., Kucukler, S., Akarsu, S. A., & Kandemir, F. M.

- (2024). Effects of zingerone on rat induced testicular toxicity by sodium arsenite via oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, inflammation, apoptosis, and autophagy pathways. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 27(5): 603.
- Türk, E., Güvenç, M., Cellat, M., Uyar, A., Kuzu, M., Ağgül, A. G., Kırbaş, A. (2022). Zingerone protects liver and kidney tissues by preventing oxidative stress, inflammation, and apoptosis in methotrexate-treated rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(3): 1054-1065.
- Upadhyaya, K., Sharma, P. K., Akhtar, A., & Pilkhwal Sah, S. (2022). Protective effects of zingerone against depression-like behavior and biochemical changes in chronic stressed rats: antioxidant effects. *Journal of Medicinal Food*, 25(6): 576-587.
- Vinothkumar, R., Vinothkumar, R., Sudha, M., & Nalini, N. (2014). Chemopreventive effect of zingerone against colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rats. *European Journal of Cancer Prevention*, 23(5): 361-371.
- Xiong H, Liu S, Xiang W, Ma L. (2011). Optimization of the supercritical carbon dioxide fluid extraction process of zingerone in Zingiber officinale Rosc. *Medicinal Plant*, 2(1): 60-62.
- Yahyazadeh, R., Baradaran Rahimi, V., Yahyazadeh, A., Mohajeri, S. A., Askari, V. R. (2021). Promising effects of gingerol against toxins: A review article. *Biofactors*, 47(6), 885-913.
- Zhang, Y. X. (2012). Simultaneous determination of five gingerols in raw and processed ginger by HPLC. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 471-474.
- Zhu, Y., Wang, C., Luo, J., Hua, S., Li, D., Peng, L., Liu, H., Song, L. (2021). The protective role of Zingerone in a murine asthma model via activation of the AMPK/Nrf2/HO-1 pathway. *Food & Function*, 12(7): 3120-3131.

BÖLÜM 2

KUŞLARDA SİNDİRİM SİSTEMİNİN YAPISI, İŞLEYİŞİ VE FİZYOLOJİK UYUMLAR

Doç. Dr. Meltem SAĞIROĞLU¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17409997>

¹ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Elazığ/TÜRKİYE
Orcid no: 0000-0001-6547-6809 e-mail: mkizil@firat.edu.tr

GİRİŞ

Kuşların sindirim sistemi, besinlerin mekanik ve kimyasal olarak parçalanması, emilmesi ve atık maddelerin atılımı gibi temel fizyolojik işlevleri yerine getirmenin yanı sıra, yüksek metabolik gereksinimlerini karşılayacak şekilde özelleşmiş bir yapıya sahiptir. Sıcakkanlı ve yüksek metabolizma hızına sahip omurgalılar sınıfından olan kuşlar, enerjiyi hızlı bir biçimde elde etme ve kullanma zorunluluğundadır. Bu durum, sindirim sistemlerinin hem yapısal (morfolojik) hem de işlevsel (fizyolojik) açıdan yüksek verimlilikle çalışmasını gerekli kılar. Kuşların gastrointestinal sistemi, evrimsel süreçte beslenme alışkanlıkları ile doğal habitatlarındaki besinlerin bileşimi ve fiziksel özelliklerine uyumlu şekilde biçimlenmiştir. Bu bölümde, kuş sindirim sisteminin yapısal bileşenleri ve fizyolojik işleyişi detaylı biçimde ele alınacak, sistemin yüksek metabolik kapasite ile ilişkisi kapsamlı şekilde değerlendirilecektir.

1. Evrimsel ve Morfolojik Uyumlar

1.1. Kuşlarda Sindirim Sisteminin Evrimsel Uyumları

Dünya genelinde, memeli hayvan sayısının iki katından fazla olan yaklaşık 9.000 kuş türü, yeryüzündeki besin ağlarının hemen her düzeyinde ve neredeyse tüm ekolojik alanlarda yer almaktadır (King ve McLelland, 1984). Evcil ortamda karşılaşılan en yaygın kuş türleri genellikle tohumla beslenme eğiliminde olmakla birlikte, zaman zaman omnivor (hem bitkisel hem de hayvansal kaynaklı) beslenme davranışları da sergileyebilmektedirler. Bu çeşitlilik, kuşlarda gastrointestinal sistemin morfolojik yapısı, sindirim stratejileri ve metabolik kapasitelerinin, evrimsel süreç boyunca yaşadıkları çevrenin sunduğu besinlerin içerik ve fiziksel özelliklerine uyum sağlayacak biçimde şekillenmesine neden olmuştur (Ziswiler, 1985). Kuşlar arasında türler karşılaştırıldığında, sindirim sistemi, anatomik çeşitlilik açısından en fazla farklılık gösteren sistemlerden biri olarak öne çıkmaktadır. Bu çeşitliliğe rağmen, birbirinden filogenetik olarak uzak kuş türleri, benzer besin kaynaklarıyla beslendiklerinde, benzer besin içerikleri ve çevresel seçim baskıları nedeniyle morfolojik yakınsama (konverjans) gösterebilmektedir (Ziswiler, 1985). Bu durum, sindirim sisteminin yalnızca tür içi değil, aynı zamanda türler arası düzeyde de uyum sağlama yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir.

1.2. Evcil Kuş Türlerinde Sindirim Sistemi Özellikleri

Evcil ortamda beslenen kuş türleri, çoğunlukla granivor (tohumla beslenen) olmakla birlikte zaman zaman omnivor beslenme eğilimleri de gösterebilmektedir. Bu türlerin gastrointestinal sistemleri morfolojik açıdan, özel olarak etobur ya da otobur beslenme stratejilerine sahip kuşlardan ziyade, tavuk (*Gallus gallus domesticus*) ve hindi (*Meleagris gallopavo*) gibi evcil kümes hayvanlarının sindirim sistemlerine daha fazla benzerlik göstermektedir (Klasing, 1999). Bu benzerlik hem evrimsel kökenlerin ortaklığı hem de benzer besin profillerine sahip diyetlerin sindirimsel gereksinimlerinden kaynaklanmaktadır.

1.3. Besin Gereksinimleri ve Morfolojik Uyum

Kuşların gastrointestinal sistemi, besinlerin fiziksel ve kimyasal olarak parçalanmasına ve moleküler düzeydeki karmaşıklıklarının azaltılmasına olanak tanıyan özel bir ortam sunar. Bu süreç sonucunda ortaya çıkan sindirim ürünleri, organizmanın metabolik gereksinimlerine uygun şekilde emilerek kullanılabilir hâle getirilir. Kuşların besin ihtiyaçları oldukça geniş bir yelpazeye yayılmaktadır. Örneğin, genç bir civciv, günlük diyetinde %15'in üzerinde proteine ihtiyaç duyarken, yalnızca trilyonda üç (yaklaşık %0.0000003) oranında B₁₂ vitamini yeterli olabilmektedir (Klasing, 1998; Diamond, 1991). Bu denli farklı miktarlarda gereksinim duyulan besin öğelerinin etkili bir şekilde sindirimi ve emilimi, gastrointestinal sisteminin anatomik yapısı ve fizyolojik işlevleriyle doğrudan ilişkilidir. Ayrıca, kuşların sindirim sistemi, yaşam döngüsü boyunca değişen metabolik ihtiyaçlara ve diyetin fiziksel ya da kimyasal özelliklerindeki değişimlere uyum sağlayabilecek düzeyde yapısal esneklik (morfolojik plastisite) sergilemektedir (Klasing, 1998). Bu adaptif kapasite, kuşların çeşitli çevresel koşullarda ve farklı beslenme senaryolarında hayatta kalabilmelerini mümkün kılmaktadır.

2. Sindirim Sisteminin Anatomisi ve Fizyolojisi

2.1. Sindirim Sisteminin Genel Anatomik Yapısı

Kuşların sindirim kanalı, her iki ucu (gaga ve kloaka) dış çevreye açık, kesintisiz bir tüp şeklinde yapılandırılmıştır. Bu kanal sırasıyla ağız, özofagus (yemek borusu), kursak (ingluvies), bezli mide (proventriculus), kaslı mide (ventriculus veya taşlık), ince bağırsak, çift kör bağırsakları (sekum), rektum

ve kloaka olmak üzere çeşitli anatomik bölümlerden oluşur (Klasing, 1999). Özellikle gaga ve iki bölmeli mide yapısı, kuşları diğer geviş getirmeyen hayvanlardan ayıran karakteristik özelliklerdir (Józefiak ve ark., 2004). Besin, bu yapılar boyunca ilerlerken mekanik ve kimyasal sindirim basamaklarına tabi tutulur; bu süreçte öğütme, enzimatik hidroliz, emülsifikasyon ve sindirim ürünlerinin taşınması gibi temel işlemler gerçekleşir. Her bir anatomik bölge, sindirimin farklı evrelerinde belirli bir işlevi üstlenerek, besin öğelerinin verimli bir şekilde emilmesini ve metabolik gereksinimlerin karşılanmasını sağlar. Özellikle granivor kuşlarda, taşlık gibi yapılar mekanik sindirimde önemli bir rol oynarken; proventrikulus, enzim salgılarıyla kimyasal sindirimi başlatır. Bu özelleşmiş yapılar, kuşların farklı diyet türlerine yüksek düzeyde uyum sağlayabilmelerine olanak tanımaktadır. (Klasing, 1999).

2.2. Kuşların Sindirim Sistemi ve Mikroflorası

Evrin sürecinde tüm hayvan türleri, bulundukları çevreye ve mevcut enerji ile besin kaynaklarına uyum sağlamıştır. Bu evrimsel uyum, gelişen sindirim sistemlerinin yapısı ve işlevleri ile doğrudan ilişkilidir. Sindirim sistemi organizmanın enerji sağlayan bileşenlerinin sindirilip emilmesinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Sekum tüm evcil kuş türlerinde bulunur, ancak bazı yabani kuş türlerinde mevcut değildir. Bu organın şekli, büyüklüğü ve kapasitesi, kuşların evrimsel uyumlarına bağlı olarak türler arasında farklılık gösterir. Çeşitli orman tavuğu türlerinin sekumlarının vücut ağırlığının %24'üne kadar çıkabildiği bilinmektedir; buna karşılık, ak tavuklarında (ptarmigan) bu oran %6, tavuklarda ise %1 civarındadır. En gelişmiş sekumların, tohumla beslenen (granivor) ve diyetinde yüksek oranda bitkisel lif veya kitin bulunan türlerde bulunduğu sonucuna varılmıştır. Diyet ile sekumun büyüklüğü ya da gelişmişliği arasında açık bir ilişki varken, bu durum tüm kuşlar için mutlak bir kural değildir. Pek çok araştırmacı, kuşlardaki sekumların (ceca) işlevi üzerine çeşitli varsayımlarda bulunmuştur. Bazı karbonhidratların mikrobiyal olarak parçalanmasında sekumların rol oynadığına dair kanıtlar bulunmaktadır. Ayrıca, suyun emilimi, mikroorganizmalar tarafından vitamin sentezi, kolesterolün sindirimi ve emilimi ile azotlu bileşiklerin parçalanması gibi işlevlerde de rol oynadıkları gösterilmiştir (Józefiak ve ark., 2004).

Tavukların sindirim sisteminde en fazla bakteri sayısının sekumlarda bulunduğu bilinmektedir ve bu bakterilerin çoğu zorunlu anaeroblardır.

200'den fazla farklı bakteri izole edilmiştir. Bu bakteri popülasyonları değişkendir ve diyet, sağlık durumu ve yaş gibi birçok faktörden etkilenir. Sağlıklı tavuklarda yaşamın ilk günlerinde baskın sekum bakterileri *Enterobacteriaceae spp.*, *Enterococcus spp.* ve *Lactobacillus spp.* iken, 2. haftadan sonra *Bacteroides spp.* ve *Eubacterium spp.* türleri yerleşir. Kümes hayvanlarında sekum mikroflorasının gelişiminin gecikmesinin, anneden yeterince temas olmamasından kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Diğer çiftlik hayvanlarında ise, annelerin temizliği ve oral aerosoller (örneğin öksürük) genç hayvanların mikroorganizma ile kolonizasyonunda önemli yollar olarak kabul edilmektedir (Van der Wielen, 2001).

Yetişkin tavuk, ördek ve kazların sekumlarında, diğer sindirim sistemi segmentlerine kıyasla, mikroorganizma sayısı gram başına oldukça yüksektir. Bu mikroorganizmalar arasında *Coprococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* ve *Streptococcus spp.* gibi gram-pozitif anaerobik koklar bulunmaktadır (Józefiak ve ark., 2004).

2.3. Embriyonik Sindirim Sistemi, Büyüme Hızı ve Altricial Cıvcivlerde Sindirim

Embriyonik dönemde kuşların sindirim sistemi, vücudun diğer bölümlerine kıyasla allometrik olarak daha hızlı bir büyüme göstermektedir. Bu hızlı gelişim, altricial (bakıma muhtaç) türlerde özellikle belirgindir. Yumurtadan çıkışta sindirim sisteminin nispeten büyük ve işlevsel bir yapıya sahip olması, cıvcivin ebeveynlerinden aldığı yoğun besini etkili bir şekilde sindirmesine olanak tanır. Bu özellik, doğum sonrası hızlı büyümenin temelini oluşturur. Örneğin, muhabbet kuşu gibi altricial türlerde bağırsakların emici yüzey alanı, vücut ağırlığına oranla yumurtadan çıkış anında maksimum düzeydedir. Bu oran, bireyin büyüme hızı yavaşladıkça zamanla azalır. Öte yandan, sindirim sisteminin önemli bir parçası olan kaslı mide, yumurtadan çıkışta nispeten küçük ve zayıftır. Ancak cıvciv aktif olarak beslenmeye başladıktan sonra bu yapı hızla gelişir; aşınmaya karşı dayanıklılığı artar ve kas gücü güçlenir. Bu durum, altricial cıvcivlerin başlangıçta yalnızca yumuşak ve kolay sindirilebilir yiyecekleri tüketebilmesini zorunlu kılar. Ebeveyn kuşlar, genellikle yiyeceği ön sindirim kanallarında yumuşatarak ya da enzimatik işleminden geçirerek cıvcive verirler. Bu aktarım çoğunlukla geğirme yoluyla sağlanır. Yumurtadan çıkan kuşlar, tamamen steril bir sindirim sistemi ile

doğarlar. Altricial civcivlerin beslenmesi, onların mikrofloral gelişiminde kritik rol oynar. Ebeveyn kuşlar tarafından verilen gıda, onların sindirim kanallarındaki mikrobiyal popülasyonla kontamine olduğundan, yavru civcivin bağırsaklarında ilk mikrobiyal kolonizasyonun temelini oluşturur. Ayrıca, kloakal içme olarak adlandırılan spontan emme hareketleri, civcivin kloak yoluyla yuva ortamından mikroflora almasını ve bu mikroorganizmaların özellikle arka sindirim kanalında kolonize olmasını kolaylaştırır (Klasing, 1999).

Civciv tarafından alınan mikroorganizmaların bir kısmı, sindirim salgıları veya immün sistem elemanları (örneğin, immünoglobulin A - IgA) tarafından elimine edilirken, bazıları epitel dokusuna tutunamayıp dışkı ile atılır. Ancak uygun ortama ulaşan ve rekabetçi avantaj sağlayan mikroorganizmalar, çoğalarak normal florayı oluşturur. Bu sürecin başarıyla tamamlanması, civcivin sağlıklı bir sindirim sistemi gelişimi açısından kritiktir. İlk günlerde civcivin bağırsak mikrobiyotası, genellikle *Enterobacteriaceae spp.*, *Enterococcus spp.* ve *Lactobacillus spp.* türleri tarafından domine edilir. Yaşamın ikinci haftası itibarıyla ise *Bacteroides spp.* ve *Eubacterium spp.* gibi bakteriler kalıcı yerleşim gösterir (Van der Wielen ve ark., 2001). *Lactobacillus* türleri arasında ise en sık rastlananlar *L. acidophilus*, *L. salivarius* ve *L. fermentum* olup, bu türler yaşamın dördüncü gününden itibaren (10^8 – 10^{10} g⁻¹) yüksek popülasyonlara ulaşmaktadır. Bu *Lactobacillus* türleri başlangıçta sindirim kanalında bulunmaz, ancak birkaç gün içinde dominant hale gelir. Daha sonraki dönemlerde, özellikle spor oluşturmeyen anaerob bakteriler sindirim sisteminde izole edilebilir hale gelmektedir (Mead, 1989).

Kümes hayvanlarında kör bağırsak mikroflorasının gelişimi genellikle gecikmelidir. Bu durumun büyük ölçüde ana kuşla temas eksikliğinden kaynaklanabileceği öne sürülmektedir. Diğer bazı çiftlik hayvanlarında ise mikroflora bulaşması; tımar, öksürük gibi oral aerosol maruziyetleri gibi yollarla gerçekleşmektedir. Sonuç olarak, altricial civcivlerde sindirim sisteminin erken gelişimi ve mikrobiyal kolonizasyon süreci, hızlı büyümenin sağlanması açısından oldukça önemlidir. Bu süreçte ebeveynin rolü belirleyici olup, mikrobiyal aktarım yolları ve sindirim sisteminin fizyolojik adaptasyonları, türler arasında farklılık gösterebilmektedir. (Van der Wielen ve ark., 2001).

3. Sindirim Kanalı ve Bölümleri

3.1. Üst Sindirim Kanalı

3.1.1. Gaga, Dil ve Ağız Boşluğu

Kuşların gaga, dil ve ağız boşluğu yapıları; besinleri kavrama, test etme, mekanik olarak işleme, kayganlaştırma ve yemek borusuna iletme gibi birden fazla görevi yerine getirir. Bu anatomik yapılar, türün beslenme stratejileriyle doğrudan ilişkili olup, besin maddelerinin elde edilmesi ve işlenmesi sırasında karşılaşılan fiziksel gereksinimlere uyum sağlayacak biçimde evrimleşmiştir (Klasing, 1999).

Evcil kuşların büyük bir kısmı granivor (tohum ile beslenme) özellik gösterir. Bu durum, kısa, kalın ve güçlü gagalarda, ayrıca tohum kabuklarını manipüle etmeye uygun çevik dillerde açıkça gözlenir. Gaga; üst ve alt çene kemiklerini saran, *ramfoteka* olarak adlandırılan keratinize bir kılıftan oluşur. Bu yapı, sürekli olarak aşınır ve alttan gelen yeni keratin tabakasıyla yenilenir. Gaganın şekli; keratinin büyüme hızı, aşınma düzeyi ve yönüne bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bu nedenle, beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak bireyler arasında bile ince şekil farklılıkları görülebilir. Gaga kenarları özellikle tohum kabuklarını kesmeyi kolaylaştırmak üzere keskin yapıdadır. Gaga ve alt çene arasındaki bağlantının nispeten gevşek olması, kuşun gagasını genişçe açabilmesini sağlar. Bu açıklık, kuşun tüketebileceği en büyük besin parçasını belirleyen temel anatomik sınırlayıcıdır. Özellikle meyveyle beslenen türlerde açıklık oldukça büyüktür. Papağanlarda ise üst çenenin kafatasına, *nazo-frontal menteşe* aracılığıyla hareketli olarak bağlanmış olması, hem gaganın daha fazla açılmasına olanak tanır hem de tohum kırma sırasında oluşan darbelerin bir kısmını absorbe ederek yapısal dayanıklılığı artırır (Klasing, 1999).

3.1.2. Dil Yapısı ve İşlevi

Dil hareketleri, *hiyoid aparatı* adı verilen çok parçalı kemik yapılar ve bunlara bağlı kaslar tarafından sağlanır. Papağanlar, bu anlamda kuşlar arasında benzersizdir; zira hiyoid aparatından bağımsız olarak, dilin ön bölümünde ekstra kas yapıları bulunur. Bu adaptasyon, dille ilgili hareketlerde ek esneklik sağlar. Bazı papağan türlerinde (örneğin **lori** ve **lorikit**lerde), dil uzun, ince ve uç kısmı saç benzeri yapılarla sonlanır. Bu yapı, kapiler etki yoluyla özsu veya nektar toplamaya yönelik bir adaptasyondur. Diğer birçok papağanın dili ise kalın, kaslı ve esnek olup, tohumları kozalaklardan veya kabuklarından

ayırmak üzere "parmak gibi" kullanılabilir. Buna karşılık, serçegillerde yer alan ispinoz ve kanarya gibi türlerde dil genellikle kısa, dar ve daha az kashıdır.

3.1.3. Ağız Boşluğu ve Tat Duyusu

Ağız boşluğunun ön kısmının tavanı, sert bir damakla örtülüdür. Tohumla beslenen birçok türde (ispinoz, kanarya, muhabbet kuşu ve kakadularda) sert damakta, tohum kabuklarının kolayca soyulmasını sağlayan karakteristik iki çıkıntı bulunur. Bu türlerde, dil ve farinks çevresinde kümelenmiş, iyi gelişmiş, karmaşık tübüler yapıya sahip tükürük bezleri mevcuttur. Ancak genel olarak kuşlarda besinin ağızdan hızla geçmesi, çiğneme olmaması, yiyeceğe az tükürük katılması ve tat reseptörü sayısının azlığı gibi etkenler, insanlara kıyasla düşük tat alma keskinliğine yol açar. Örneğin, papağanlarda yaklaşık 350 tat reseptörü bulunurken, bu sayı insanlarda 9.000 civarındadır. Tat tomurcukları, çoğunlukla damak ve dilin arka kısmında, özellikle tükürük bezlerine yakın bölgelerde yer alır. Buna karşılık, kuşlar tat alma duyusundaki bu görece zayıflığı, gagada, dilde ve ağız boşluğunda yer alan zengin bir dokunma reseptör ağı ile telafi eder. Bu reseptörler, kuşların besin maddelerini ayırt etmesini sağlayan gelişmiş bir dokunsal duyunun temelini oluşturur (Klasing, 1999).

3.2. Özofagus ve Kursak

3.2.1. Özofagusun Yapısı ve Fonksiyonu

Özofagus (yemek borusu), kuşlarda boyun boyunca uzanarak torasik boşluğa girer ve sindirim sisteminin proventrikulus bölgesinde sonlanır. Muhabbet kuşu gibi türlerde özofagus, boynun ön kısmında, trakeanın (soluk borusu) dorsalinde (arka tarafında) yer almakta olup, ilerledikçe vücudun sağ tarafına doğru yönelir (Evans, 1996).

Özofagusun *tunica muscularis* olarak adlandırılan kas tabakası, içte dairesel ve dışta boyuna kaslardan oluşur. Bu kasların koordineli peristaltik kasılmaları, besin maddelerinin yemek borusu boyunca geriye doğru itilmesini sağlar. Özofagus duvarı, büyük besin parçalarının yutulmasına yardımcı olmak için, bir dizi boyuna katlanma sayesinde genişleyerek esnek bir yapı kazanmıştır. Bu akordeon benzeri yapı, mukus bezlerinin salgılarıyla kayganlaştırılmış olup, gıdanın kolay iletimine olanak tanır. Ayrıca epitel tabakası, bütün halde yutulan besinlerin oluşturabileceği mekanik aşınmalara

karşı direnç sağlamak amacıyla kalınlaşmış ve keratinize olmuştur (Evans, 1996).

3.2.2. Kursak ve Özellikleri

Birçok kuş türünde, özofagus torasik boşluğa girmeden hemen önce kursak adı verilen bir genişleme ile karakterizedir. Kursak, yutulan besinlerin sindirilmenden önce kısa süreli olarak depolayan kese biçiminde bir organdır ve sindirim sisteminin başlangıcında yer alır. Bu özelliği sayesinde kuşlar, kısa sürede büyük miktarda besin alarak sindirimi zamana yayabilir. Özellikle selülozca zengin ve sindirimi zor olan bitkisel materyallerin tüketilmesinde kursak önemli bir avantaj sunar. Muhabbet kuşunda, kursağın giriş yeri boynun sağ tarafında olup, organ yatay şekilde sol tarafa doğru uzanır. İç yüzeyi, genişlemeye izin veren *büyük mukozal kıvrımlar* içerir. Mukozadaki büyük kıvrımlar, içeriğin miktarına bağlı olarak önemli ölçüde genişleyip daralabilir. Torasik boşluğun hemen üstünde, kursak tekrar daralarak özofagusa bağlanır ve korakoid kemikleri arasında geçerek sirinks sağında ve kalbin dorsalinde konumlanır (Evans, 1996).

Kursak, kuşun hızlıca büyük miktarda yiyecek toplamasına ve ardından güvenli bir yerde yiyeceği sindirmek üzere uçmasına olanak sağlayan geçici bir depolama alanı sunar. Kursak, ayrıca akşamları "depo yapmayı" mümkün kılar; böylece yiyecek yavaşça salınarak gece boyunca besin ihtiyacını karşılar (Buyse ve ark., 1993). *Hoatzin (Opisthocomus hoazin)*, kursağı yalnızca geçici bir depo olarak değil, aynı zamanda ön bağırsak fermentasyonuna olanak tanıyan yapısal ve mikrobiyal özelliklerle kullanan tek kuş türüdür. Bu türde kursakta, otçul memelilerin ön midelerine benzer şekilde mikrobiyal fermentasyon gerçekleştirilir. Hoatzin kursağında yoğun ve karmaşık bir bakteri topluluğunun bulunduğunu göstermiştir. Bu topluluk, kuşun sindirim sisteminde selülozun mikrobiyal olarak parçalanmasını mümkün kılar (Godoy-Vitorino ve ark. 2008).

Küçük türlerde (örneğin, sinek kuşları) geniş kursağın akşam üzeri yoğun arama faaliyetleriyle dolması, gece boyunca yüksek metabolik hızlarını birkaç saat destekler. Daha büyük türlerde ise akşam beslenmesi sırasında depolanan yiyecek, gece enerji ihtiyacının büyük bir kısmını karşılar. Kursak ve yemek borusu, yavruların beslenmesinde de önemli bir rol oynar; yiyeceğin depolanmasına ve yumuşatılmasına izin verir, daha sonra bu yiyecek yavru

gagasına geri getirilebilir (geğirme yoluyla besleme). Yavrulara verilen bu geçirilmiş yiyeceğe anneden geçen besinsel ve bağışıklık katkısı çoğu tür için bilinmemekle birlikte, güvercinlerde önemlidir (Horseman ve Buntin, 1995).

3.3. Mide

Kuş midesi, bezli mide (proventrikulus) ve kaslı mide (taşlık, ventriculus, gizzard) olmak üzere iki ana bölümden oluşur. Bu iki yapı hem kimyasal hem de mekanik sindirimi ardışık olarak gerçekleştiren, fonksiyonel olarak bütünleşmiş yapılardır.

3.3.1. Proventrikulus (Bezel Mide)

Proventrikulus, yiyeceklerin enzimlerle karıştığı ve gıdanın taşlığa geçmeden önce ilk kimyasal sindirimin başladığı mide bölümüdür. Proventrikulusun epitel dokusunda iki temel tip bez bulunur: mukus salgılayan tübüler bezler ve hidroklorik asit (HCl) ile pepsin salgılayan gastrik bezler. Bu birleşik bez yapıları, proventrikulus duvarının büyük bir kısmını oluşturarak, burada başlayan kimyasal sindirimi destekler. Proventrikulus, aynı zamanda sindirim kanalının pH'ını düşürerek protein sindiriminin ilk aşamasını gerçekleştirir. Tohumla beslenen kuş türlerinde, proventrikulusun yapısal özellikleri belirgin farklılıklar gösterir. Bu türlerde, proventrikulus genellikle taşlığa kıyasla daha uzun, ancak çap olarak daha dar yapıdadır. Bu yapı, besinlerin kimyasal sindirime daha uzun süre maruz kalmasını sağlayarak, özellikle sert ve lifli tohum materyalinin sindirimi açısından avantaj sağlar (Ziswiler ve Farner, 1972).

Yiyeceğin proventrikulustan geçişi hızlıdır ve yiyecek parçaları asit ve pepsin ile kaplanır. Mide salgılarının kontrolü ve mide boşalması, vagus siniri girdisi ile gastrin, pankreatik polipeptid, kolesistokinin ve sekretin hormonlarının etkileri tarafından koordine edilir. Yiyecek, proventrikulustan hızlıca geçerek kaslı mideye girer; bu süreçte enzimatik sindirim çok az ilerler (Klasing, 1999).

Proventrikulus genellikle asidik bir ortam sunar ve bu durum, burada bulunan mikrobiyal toplulukların kompozisyonunu doğrudan etkiler. Asidik pH, özellikle asidofilik (asidik koşullarda yaşayabilen) mikroorganizmaların seçilimini teşvik eder. Bu asidik ortam, sindirim kanalına giren potansiyel patojen mikroorganizmalar üzerinde ilk güçlü seçim baskısını oluşturarak,

sindirim sisteminin mikrobiyal stabilitesi açısından kritik bir savunma mekanizması işlevi görür. Kuş türleri arasında mide asitliği önemli ölçüde farklılık gösterebilir. Özellikle leşle beslenen türlerde, mide asiditesinin oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir. Örneğin, akbaba gibi türlerde proventrikulusun pH seviyesi son derece düşüktür ve bu durum, çürümüş hayvan dokularında bulunan yüksek miktardaki patojenlere karşı etkili bir biyolojik bariyer sağlar (Beasley ve ark., 2015).

3.3.2. Kaslı Mide – Taşlık (Ventriculus, Gizzard)

Taşlık, kuşların sindirim sisteminde besinlerin mekanik olarak parçalanmasından sorumlu özelleşmiş bir organdır. Temel işlevi, yutulan besinleri kas kasılmaları yoluyla öğütmek, parçacık boyutunu küçültmek ve böylece yüzey alanını artırarak kimyasal sindirim için uygun hâle getirmektir. Aynı zamanda, proventrikulustan gelen pepsin ve hidroklorik asit gibi sindirim salgılarının etkisinin gerçekleştiği ana bölgedir. Yumuşak ve kolay sindirilen besinlerle beslenen türlerde (örneğin, loryler, minikler ve tokanlar) taşlık, proventrikulusa benzer kalınlık ve kas yapısında, nispeten yuvarlak bir organdır (Klasing, 1999).

Kaslı midedeki kasılmalar, yiyeceği ezmek ve oluşan parçaların kenarlarını birbirine sürtmek için kum (grit) ile birlikte çalışır. Çeşitli türlerde yapılan çalışmalar, proventrikulus, kaslı mide ve onikiparmak bağırsağında karmaşık bir kasılma döngüsü olduğunu göstermiştir; bu döngü yiyeceği bu üç organ arasında ileri geri hareket ettirir. Yiyecek kaslı midede öğütülür, ardından daha büyük yiyecek parçaları taze pepsin ve hidroklorik asit (HCl) eklenmek üzere proventrikulusa geri döner. Bu geri dönüş, proteinlerin hidrolizinin tamamlanması, büyük yağ globüllerinin parçalanmaya devam etmesi ve yiyeceğin homojen hale getirilmesi için ek zaman sağlar. Yüksek yağ içeren öğünler tüketildiğinde, yağlar sindirim kanalının ön kısmında tutulur ve protein ile karbonhidrat bileşenlerine göre daha yavaş sindirilir (Grond ve ark., 2018; Klasing, 1999).

Taşlık, iki çift düz kastan oluşur. Bu kaslar, belirgin bantlar halinde düzenlenmiş olup, her biri bir dairesel tendondan başlar ve orada sonlanır. Bu dört kasın asimetrik organizasyonu, kasılma sırasında hem karıştırma hem de öğütme işlevini mümkün kılar. Kas dokusunda bulunan yüksek miyogloblin konsantrasyonu, taşlığın karakteristik kırmızımsı rengini oluşturur. Ayrıca,

taşlığın iç yüzeyinde, protein açısından zengin bir salgı üreten çok sayıda derin tübüler bez yer alır. Bu bezlerden salgılanan yapı, zamanla sertleşerek çubuk benzeri çıkıntılar oluşturur. Bu çubuk benzeri yapılar, dökülen epitel hücrelerini yakalayarak taşlığın lümenini (iç boşluğunu) kaplayan ve *kutikül* olarak adlandırılan koruyucu bir kesecik oluşturur (Akester, 1986). Kutikül, taşlıkta mekanik öğütme işlevini yerine getiren başlıca yüzey olup, aynı zamanda proventrikulustan gelen HCl ve pepsin gibi sindirim salgılarının, taşlığın altında bulunan mukoza dokusunu sindirmesini engelleyerek fiziksel bir bariyer görevi görür. Yaklaşık 20 mikrometre çapındaki bu çubuklar, kutikülün aşındırıcı özelliğini artırarak, yiyeceklerin daha etkili şekilde öğütülmesine katkı sağlar. Ayrıca, taşlıkta bulunan küçük taş veya kum tanecikleri (grit) daha kaba bir aşındırma etkisi yaratmak için burada yerleşebilir. Grit, tohumların kabuğunu yutmadan önce çıkarmayan türler (örneğin güvercinler, sülünler ve bıldırcınlar vb.) için özellikle önemlidir. Kutikülün kalınlığı ve fiziksel özellikleri, tüketilen besin türü ile doğrudan ilişkilidir. Granivor kuşlarda bu yapı oldukça kalın ve sertken, frugivor (meyve ile beslenen) ya da nektarivor (nektar ile beslenen) türlerde daha ince ve yumuşaktır. Kutikül, taşlığın öğütücü kaslarının hemen altında en kalın ve dayanıklı hâlini alır. Bu tabaka, sürekli olarak aşınır ve yenilenir; dolayısıyla dinamik bir yapıdır. Kimi zaman kutikül, ince bağırsaktan taşlığa geri kaçan safra pigmentleri nedeniyle yeşil, kahverengi veya sarı renk alabilir. Taşlık ile ince bağırsak arasındaki geçiş, pilorik kıvrım aracılığıyla düzenlenir ve bu yapı besinlerin sindirim sistemi içinde uygun hız ve düzende ilerlemesini sağlar (Klasing, 1999).

Taşlığın büyüklüğü, kuşların beslenme alışkanlıklarına göre değişiklik gösterir ve birçok yabani türde bu büyüklük mevsimsel ritimler izler. Örneğin, zorunlu olmayan granivor-frugivor (tohum ve meyve ile beslenen) türlerde, kış aylarında tohum tüketimi arttığında taşlık, daha büyük, kaslı ve grit (küçük taş) bakımından zengin olur; ayrıca sert ve kalın bir kutikül tabakasına sahiptir. Buna karşılık, yaz aylarında beslenme ağırlıklı olarak yumuşak meyvelerden oluştuğunda, taşlık ağırlığı yaklaşık olarak yarı yarıya azalır, kutikül tabakası yumuşar ve grit miktarı düşer (Klasing, 1999).

Vahşi kuşlarda proventrikulus ve taşlık bölümlerinde bulunan mikrobiyal toplulukların kompozisyonu ve işlevlerine yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Kümes hayvanları üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar bile bu bağlamda yetersiz kalmaktadır. Neotropikal kuş türlerinin taşlık

mikrobiyotasının analizi, bu habitatta baskın olan mikrobiyal taksonların başlıca *proteobacteria*, *firmicutes*, *actinobacteria* ve *bacteroidetes* filumlarına ait olduğunu göstermektedir. Türler arası ve farklı beslenme stratejilerine bağlı olarak mikrobiyal alfa çeşitlilik ve topluluk yapısında anlamlı varyasyonlar gözlemlenmiştir. Fonksiyonel açıdan değerlendirildiğinde, taşlıktaki mikroorganizmaların potansiyel işlevleri arasında aminoasit ve vitamin metabolizması yollarında rol oynadıkları belirlenmiştir. Evcil tavukların sindirim kanalında gerçekleştirilen çalışmalar, taşlık mikrobiyotasının kursak mikrobiyotasıyla büyük oranda benzerlik taşıdığını ortaya koymuştur. Taşlık mikrobiyal topluluğunun yaklaşık %43'ünü *Lactobacillus* türleri oluşturmakta olup, bu bakterilerin asidik ortam koşullarına tolerans göstermesi ve kendi metabolik süreçleri sonucunda asit üretmeleri nedeniyle taşlıkta yaygın olarak bulunmaları beklenen bir durumdur (Beasley ve ark., 2015; Grond ve ark., 2018).

3.4. İnce Bağırsaklar

İnce bağırsak, enzimatik sindirim ve besinlerin emilimi için birincil yerdir. Kuş sindirim sisteminde taşlık ile sekum arasında yer alan ve işlevsel olarak *duodenum*, *jejunum* ve *ileum* olmak üzere üç ana bölüme ayrılan bir organdır. İnce bağırsağın temel görevleri, pankreas ve karaciğerden salgılanan sindirim enzimleri ile safra yardımıyla besinlerin kimyasal olarak işlenmesi ve ardından besin maddelerinin emiliminin sağlanmasıdır. Bu işlevler, memelilerde gözlemlenen ince bağırsak işlevleri ile büyük ölçüde paralellik göstermektedir. Kuşların ince bağırsağının sindirim kanalındaki konumu, canlı bireylerden bu bölgeden doğrudan örnek alınmasını zorlaştırmakta ve dolayısıyla bu bölgenin mikrobiyotasının incelenmesini sınırlamaktadır. Mevcut mikrobiyolojik çalışmalar çoğunlukla evcil kümes hayvanları üzerinde gerçekleştirilmiş olup, ince bağırsağın farklı segmentlerinin mikrobiyal topluluklarının birbirine oldukça benzer yapıda olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda, ince bağırsak mikrobiyotası büyük oranda *Lactobacilli* ve *Clostridia* gibi bakteri grupları tarafından domine edilmektedir. Bu mikrobiyal toplulukların varlığı, ince bağırsak ortamının fizyolojik özelliklerine uyum sağlamış olmalarından kaynaklanmaktadır. Özellikle *Lactobacillus* türleri, asidik ve oksijen açısından düşük ortamlara tolerans gösterirken, konakçı için faydalı metabolik işlevler üstlenirler. *Clostridia* ise kısa zincirli yağ asitleri

üretimi gibi çeşitli metabolik fonksiyonlar aracılığıyla sindirim sisteminin enerji dengesine katkıda bulunur. (Satoh ve ark., 1994; Amit-Romach ve ark., 2004).

3.4.1. İnce Bağırsağın Yapısı ve İşlevi

İnce bağırsakların yapısal ve fonksiyonel özellikleri, ön sindirim organlarına kıyasla daha az değişkenlik göstermektedir. Bu durumun temel nedeni, besinlerin farklı fiziksel yapılarının, ince bağırsak lumeninde nispeten homojen ve sıvı kıvamda bir *kime* (yarı sindirilmiş besin karışımı) dönüştürülmesidir. Böylece, ince bağırsak iç yüzeyinde gerçekleşen emilim ve sindirim süreçleri, farklı besin türleri için daha standart koşullarda gerçekleşir. Yiyekte bulunan proteinlerin, nişastaların ve nükleik asitlerin çoğu, pankreatik enzimler tarafından ince bağırsağın lümeninde hidrolize edilerek daha küçük oligomerler oluşturulur. Bu oligomerler, enterositlerin fırça kenarında daha küçük moleküllere (örneğin monosakkaritler, serbest amino asitler ve nükleotidler) ayrıştırılır ve emilir. İnce bağırsakta laktoz parçalayan laktaz enziminin varlığı test edilen kuşlarda gösterilmemiştir ve önemli miktarda laktoz içeren gıdaların verilmesi genellikle önerilmez (Sell ve ark., 1991).

Kuşlarda ince bağırsağın başlangıcı olan duodenum (onikiparmak bağırsağı), pankreası çevreleyen bir kıvrım şeklindedir ve hem pankreatik hem de hepatik (karaciğer) kanalların açıldığı anatomik bölgeyi oluşturur. Bu yapı, pankreas ve karaciğerden gelen sindirim enzimleri ve safra salgılarının ince bağırsağa etkin bir şekilde iletilmesini sağlar. Jejunum ve ileum ise kuşlarda birbirinden net bir şekilde ayrılmamakla birlikte, her iki bölüm de besin emilimi ve sindirim süreçlerinde görev alır. İnce bağırsak mukozasında, yüzey alanını artıran villus (parmak benzeri çıkıntılar) ve bunların arasındaki intestinal kriptler (bağırsak bezleri) bulunur. Villuslar, besin maddelerinin emiliminde kritik rol oynarken, intestinal kriptler yeni epitel hücrelerinin üretildiği ve bağırsağın yenilenmesini sağlayan yapısal birimlerdir (Amit-Romach ve ark., 2004; Klasing, 1999).

3.4.2. Villuslar ve Epitel Yapısı

İnce bağırsak mukozasında yer alan villusların apikal yüzeyinde, milimetrekaire başına yaklaşık 10^5 mikrovillus bulunmaktadır. Bu

mikrovilluslar, bağırsak epitelinin emilim yüzey alanını yaklaşık 15 kat artırarak, besin maddelerinin etkin bir şekilde emilimini mümkün kılar. Villuslar aynı zamanda zengin bir kılcıal damar ağı içerir; bu damarlar, emilen besin maddelerinin taşınmasında portal ven sistemine doğrudan aracılık eder. Bağırsak epitelini kaplayan *kadeh hücreleri* (goblet), sindirim enzimlerine ve sindirilmekte olan besinlerin (kime) aşındırıcı etkisine karşı epitel koruyan bol miktarda *mukus* salgılar. Bu mukus, özellikle taşlıktan çıkan asidik içeriğin zarar verebileceği duodenumun ön kısmında daha kalın bir tabaka halinde bulunur. Mukus, hem mekanik aşınmaya karşı bir bariyer oluşturur hem de epitel hücrelerini asidik ortamın zararlarından korur (Klasing, 1999).

İnce bağırsak, içte dairesel (sirküler) kas tabakası ve dışta boyuna (longitudinal) kas tabakası olmak üzere iç içe geçmiş iki düz kas tabakasıyla çevrilidir. Bu kaslar, peristaltik hareketler ve segmentasyon gibi motor fonksiyonlarla sindirim içeriğinin mekanik olarak karıştırılması ve ilerletilmesini sağlar (Klasing, 1999).

3.5. Kuşların Arka Bağırsağı (Hindgut)

3.5.1. Genel Fizyolojisi ve Düzenleyici Mekanizmalar

Kuşların hindgut'u, *coprodeum*, *kolon* ve *sekumlar* olmak üzere üç ana anatomik bölgeden oluşmaktadır. Bu yapı, aktif sodyum geri emilimi ve çözeltiye bağlı su emilimi gibi önemli işlevleri yerine getirerek, kloaka geri dönen idrarın hem bileşimini hem de hacmini değiştirme kapasitesine sahiptir. Bu fizyolojik süreç sayesinde, kuşlar hiperozmotik (yoğun) idrardan dahi suyun belirli bir kısmını geri emebilmektedir. Hemen hemen tüm kuş türlerinde, hindgut epitel dokusu Na^+ (sodyum), Cl^- (klor) ve suyu geri emme kapasitesine sahiptir ve bu emilim mekanizmaları, memelilerde gözlemlenen süreçlerle benzerlik göstermektedir (Goldstein & Skadhauge, 2000). Kalın bağırsakta su ve elektrolit dengesinin sıkı bir şekilde düzenlenmesi, ince bağırsakta görülen paraselüler (hücreler arası) emilimle çelişmemektedir; çünkü bağırsak boyunca epitel geçirgenliği giderek azalmaktadır. Örneğin, memelilerde distal kolon ve kuşlarda coprodeum, en düşük geçirgenliğe sahip bağırsak segmentleridir (Goldstein & Skadhauge, 2000). Ördek türlerinde arka bağırsağın sodyum düzenlemesindeki rolü, büyük olasılıkla diyete ve yaşanan ortama bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bennett ve ark., 2003).

3.5.2. Kolon (Kalın Bağırsak)

Kuşların kalın bağırsağı kısadır ve kolon, sindirim sisteminde sekumların bağlandığı nokta ile kloaka arasında yer alır. Kuşlarda kalın bağırsağın temel işlevi, su ve elektrolitlerin geri emilimini sağlamaktır. Kuşlarda fermentasyon esas olarak sekumlarda ve hoatzin gibi bazı türlerde kursakta gerçekleşir (Lei ve ark., 2012). Kuşlarda kalın bağırsak yapılarının farklı tipte olduğu (*I. İnce bağırsak tipi* uzun ve histolojik olarak bağırsak yapısına benzer, belirgin villuslar içerir. *II. Bezli tip* de uzundur ancak çok sayıda aktif salgı yapan kripti barındırır. *III. Lenfoid tip*, çok sayıda lenfosit içerir. *IV. Kalıntı tip* küçüktür ve muhtemelen önemli bir mikrobiyal ortam sağlamaz) ve genellikle bu yapıların gelişim düzeyinin kuşlara özgü olduğu bildirilmiştir. (McWhorter ve ark., 2009).

Mikroplar açısından baskın organizmalar zorunlu anaerobik bakteriler olup, kalın bağırsağın lümeninde yaklaşık 10^{10} – 10^{11} g⁻¹ (ıslak kütle) yoğunluktadırlar (Mead, 1999). Evcil Japon bıldırcınlarında yapılan bir çalışmada, kolon mikrobiyotası ağırlıklı olarak *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Ruminococcus* ve *Clostridium* cinsleri tarafından domine edilmiştir; ancak dizilenen genetik materyalin büyük bir kısmı sınıflandırılmamıştır. Genel olarak, dışkıdaki bakterilerin kolon mikrobiyotasını yansıttığı varsayılır. Fakat bıldırcınlarda dışkı mikrobiyotası hem kolondan hem de sekumlardan gelen mikroorganizmaları içermektedir; bu da farklı bağırsak bölümlerinden gelen mikrobiyal toplulukların karıştığını göstermektedir (Wilkinson ve ark., 2016).

Kalın bağırsağın görevi, yüzey alanı/hacim oranı yüksek (yani hızlı fermentasyona uygun) sindirim artıkları, besin substratları, atılan bağırsak epiteli ve salgıları ile idrarı tutmak; daha kaba, sindirilemeyen maddeleri ise hızlı dışkılamaya bırakmaktır. Bazı kuşlarda, sıvı (idrara) kloakadan kolon boyunca (genellikle kısa olan) ters peristaltik hareketlerle kalın bağırsağa geri pompalanır. Bu işlem kolondaki küçük parçacıkları yıkar ve kalın bağırsağa taşır. Daha büyük parçacıklar dışkı ile atılmak üzere geride bırakılır (McWhorter ve ark., 2009). Düşük proteinli diyetle beslenen tavuklarda ters yönde idrar akışının (retrograd) yüksek proteinli veya normal diyetle beslenenlere göre arttığı ve bu durumun azot geri dönüşümüne ve tavuğun azot ekonomisinde iyileşmeye yol açabileceğine neden olacağı öne sürülmüştür. Bu durum ayrıca kalın bağırsaktan amino asitlerin geri kazanılmasını sağlayan bir

mekanizmanın varlığını da ortaya koymaktadır (Waldenstedt ve Bjornhag, 1995).

3.5.3. Kör Bağırsaklar (Sekumlar)

Çoğu kuş türünde sindirim sisteminin önemli bir bileşeni olan sekumlar, ince bağırsak ile kalın bağırsakların birleşim noktasında konumlanan, uzun ve kör uçlu çift keseciklerdir. Sekumların yapısal özellikleri, türler arasında ve aynı tür içindeki bireyler arasında önemli ölçüde değişiklik gösterebilir. Özellikle otçul (herbivor) kuş türlerinde, sekumlar genellikle daha uzun ve geniş yapıda olup, diyetin lif içeriği ve fermente edilebilir maddelerinin miktarına bağlı olarak morfolojik farklılıklar sergileyebilir. Mevsimsel beslenme değişiklikleri de sekum yapısında belirgin adaptasyonlara yol açmaktadır. Örneğin, söğüt orman tavuğu (*Lagopus lagopus*) ve etlik piliçlerde yapılan çalışmalarda, diyetin lif ve fermentasyon potansiyelindeki değişikliklerin sekum morfolojisini etkilediği gözlemlenmiştir. Bu tür çalışmalar, sekumların sindirim süreçlerinde mikrobiyal fermentasyon için önemli bir ortam sağladığını ve besinlerin parçalanması ile enerji verimliliğinde rol oynadığını ortaya koymaktadır. Sekumlar, özellikle selüloz ve diğer kompleks polisakkaritlerin mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu için özelleşmiş mikrobiyal topluluklara ev sahipliği yapar. Sekum çoğu otçul kuş türünde fermentasyonun gerçekleştiği ana bölgedir. Bu işlem sonucunda kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), vitaminler ve amino asitler gibi temel besinler ortaya çıkar. Bu fermentasyon süreci, kuşların özellikle yüksek lifli diyetlerden enerji kazanmasını kolaylaştırır. Ayrıca sekumlarda üretilen SCFA bağırsak sağlığı ve sistemik enerji metabolizmasında önemli fonksiyonlara sahiptir (Józefiak ve ark., 2006; Rehman ve ark., 2007).

Evcil tavuklarda, sekumların toplam yüzey alanı, coprodeum ve kolona eşittir. Ancak birim vücut kütlesi başına sodyum ve su taşıma oranları, yaklaşık üç kat daha fazladır. Bu da sekumun sindirim kütlesi ve reflü idrardan NaCl ve su taşıma kapasitesinin, kolon ve coprodeumunkinden büyük olabileceğini düşündürür. Ancak sekumları bağlanan (ligasyon yapılan) kuşlarda, su içme imkanı varken bu işlemin osmoregülasyona çok az etki ettiği için pratikte bu farkın her zaman belirgin olmadığı da ifade edilmektedir (McWhorter ve ark., 2009). Bu durumun muhtemelen, başka organların bu açığı telafi etmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Williams ve Braun, 1996). Yani, sekumların

osmoregülasyondaki rolünün, ancak gıda, su ve tuz eksikliği gibi streslerin birlikte yaşandığı durumlarda kritik hale gelebileceği belirtilmektedir (McWhorter ve ark., 2009).

3.5.4. Sekum Mikrobiyotası ve İşlevleri

Kuşların kör bağırsakları, sindirim sisteminin önemli ancak uzun süre ihmal edilmiş bölümlerindendir. Sekumun işlevi üzerine yapılan araştırmalar, bu yapıların bazı karbonhidratların mikrobiyal fermentasyonunda, su ve elektrolit emiliminde, azotlu bileşiklerin geri kazanımında, kolesterol metabolizmasında ve çeşitli vitaminlerin mikroorganizmalar aracılığıyla sentezinde rol oynadığını ortaya koymuştur (Jamroz ve ark., 2002; Józefiak ve ark., 2004). Kör bağırsaklar, kuşların gastrointestinal sistemindeki başlıca fermentasyon odacıkları olarak kabul edilir. Kuşlardaki kör bağırsak mikroflorasının karakterizasyonu 1970'lerin başında başlamıştır. Ancak rumende yaşayan farklı mikroorganizmalar hakkında bilinenlerle karşılaştırıldığında, kuşların sindirim sistemi ve özellikle kör bağırsaklarında bulunan spesifik mikroorganizmaların fizyolojisi hakkında çok daha az bilgi vardır. Bunun sebeplerinden biri, geviş getiren hayvanların aksine, bu mikroorganizmaların kuşların yemlerin sindiriminde veya sağlıklarında önemli bir rol oynamadığı algısı olabilir. Ayrıca, sekum bakterilerin yalnızca %10–60'ının klasik anaerobik kültür teknikleriyle laboratuvar ortamında izole edilebilmesi, mikrobiyal çeşitliliğin tam olarak anlaşılmasını engellemektedir (Zhu ve ark., 2002).

Diyet değişimlerinin ardından sekum mikrobiyotası ve bu bölgedeki uçucu yağ asitleri (UYA) profillerinin izlenmesi, sekumların besin bileşiklerinin mikrobiyal fermentasyonunda merkezi bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Sekumlar sadece fermentasyon için ortam sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda elektrolitlerin ve suyun geri emilimi gibi önemli fizyolojik işlevlere de sahiptir. Bu organlar düzenli olarak içeriklerini boşaltsalar da bu süreç normal dışkılamaya kıyasla daha yavaş gerçekleşir. Kuş türüne bağlı olarak, sekum içerisindeki materyalin tutulma süresi dışkıdakinden 3–4 kat daha uzun olabilir. Sekum mikrobiyal topluluklarının, kuşların sindirim kanalındaki diğer bölümlerden belirgin şekilde farklı kompozisyona sahip olduğu ve konak organizmanın beslenme durumuna bağlı olarak dinamik değişimler gösterebileceği bildirilmektedir (Grond ve ark., 2018).

Genel olarak, kuş türlerinin sekum mikrobiyotasında yaygın olarak bulunan bakteri sınıfları *Clostridia* ve *Bacteroidia*'dır; bunları *Actinobacteria* takip eder. Ancak, devekuşları gibi ilkel ve uçamayan kuşlarda *Actinobacteria* varlığı tespit edilmemiştir (Matsui ve ark., 2010). *Clostridia* sınıfı içerisinde birçok tanınmış patojen bulunmakla birlikte, bu grubun büyük çoğunluğu simbiyotik, yani konakla uyumlu yaşam süren kommensal bakterilerdir. Memelilerde olduğu gibi, bu bakteriler fermentasyon süreçlerinin yürütülmesinde ve bağırsak mikrobiyal dengesinin korunmasında kritik öneme sahiptir. Bu veriler, sekumların kuşlarda sindirim fizyolojisinde sadece mekanik ve kimyasal işlemler için değil, aynı zamanda mikrobiyal ekosistemin sürdürülebilirliği ve besin metabolizmasında da çok işlevli roller üstlendiğini göstermektedir. Sekum mikrobiyotasının, türler ve beslenme alışkanlıklarına göre çeşitlilik gösterdiği gibi, çevresel koşullar ve besin içeriklerine adapte olabilen esnek bir yapıya da sahip olabileceği belirtilmektedir (Lopetuso ve ark., 2013).

Kör bağırsaklar, tavuk sindirim sisteminde en yoğun bakteri popülasyonunu içeren bölgedir. Bu bakterilerin büyük çoğunluğu zorunlu anaeroblardır. Şimdiye kadar bu bölgede izole edilen 200'den fazla farklı bakteri türü, baskın, alt-baskın ve geçici olmak üzere üç temel popülasyon grubuna ayrılmaktadır. Bu mikrobiyal topluluklar, diyet, yaş, çevresel koşullar ve sağlık durumu gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Barnes, 1979).

3.5.5. Sekumların Varlığı ile Beslenme Alışkanlıkları Arasındaki İlişki

Sekumların varlığı, kuş türlerinin beslenme alışkanlıklarıyla yakından bağlantılıdır. Protein veya şeker açısından zengin diyetlere sahip olan etobur, balıkçıl, nektar tüketen ve meyveyle beslenen kuş türlerinde sekumların genellikle bulunmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, lif sindiriminin yalnızca sekumlarda gerçekleşmediğini ve sindirim sisteminin diğer bölgelerinde de önemli fermentatif süreçlerin var olduğunu göstermektedir. Sekumların yokluğunda, sekum mikrobiyotası tarafından üstlenilen fermentatif ve metabolik fonksiyonların, sindirim kanalının farklı segmentlerinde alternatif mikrobiyal topluluklar aracılığıyla telafi edildiği düşünülmektedir. Bu durum, mikrobiyal kompozisyon ve fonksiyonel potansiyel açısından türler arasında

farklılıklara yol açmakta ve kuşların beslenme stratejilerine adaptasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu çerçevede, sekumların yokluğu, kuşların sindirim sistemindeki mikrobiyal ekosistemin bölgesel ve fonksiyonel olarak yeniden yapılandırılmasının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Böylece, kuşların beslenme türleri ve sindirim sistemi morfolojisindeki farklılıklar, mikrobiyal toplulukların yapısını ve işlevselliğini şekillendirerek besin maddelerinin etkin metabolizasyonunu desteklemektedir (Clench ve Mathias, 1995). Papağanlar ve serçeğiller gibi bazı kuş takımlarında sekumlar körelmiş yapılar şeklindedir; bu nedenle makroskopik olarak çıplak gözle tespit edilmeleri zordur. Ancak histolojik olarak, ince bağırsak ile rektumun birleştiği bölgede, bağırsak duvarı içinde yer alan *lenfoid doku nodülü* şeklinde gözlemlenebilirler. Buna karşılık, Ördekler, tavuklar ve devekuşları (ratitler) gibi birçok tanınmış kuş türünde ise sekumlar oldukça belirgin ve büyük yapıdadır. Bu büyük sekumlar, materyalin sindiriminde önemli rol oynarken aynı zamanda vücut sıvılarının dengelenmesinde de işlev görürler (Clench ve Mathias, 1995; Klasing, 1999).

3.5.6. Kuşların Kalın Bağırsağının Beslenmedeki Rolü

İnce bağırsakta sindirilemeyen besinler kalın bağırsakta geri kazanılabilir. Eğer kalın bağırsak esas olarak bu “temizlik” işlevini görüyorsa, o zaman bu organın eşdeğer kütledeki ince bağırsağa kıyasla ne gibi ekstra bir faydası olduğu sorulmalıdır. İlk olarak, omurgalılarda endojen sellüloz enzimi yoktur, ancak mikrobiyal fermentasyon sayesinde, sindirilemeyen hücre duvarı maddelerinden elde edilen enerji, SCFA şeklinde kalın bağırsakta üretilir. Bu SCFA’lar bağırsak mukozasından emilir ve ev sahibi tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır. İkinci olarak, mikrobiyal topluluk; vitaminler ve temel amino asitler gibi önemli besinleri sentezler. Bu besinler ya mukozadan emilir ya da dışkı yeme (kaprofaji) ya da özel olarak koksalsı dışkı yeme (sekonder dışkı yeme, tavşanlarda görüldüğü gibi) yoluyla tekrar alınır. Böylece, kalın bağırsaktaki mikrobiyal topluluk, ev sahibinin enerji veya temel besinler için yiyecek arama ihtiyacını azaltabilir. Memelilerde kalın bağırsakta hücre duvarı fermentasyonu, enerji ihtiyacının bakımını sağlayacak kadar katkıda bulunabilir. Kuşlarda kaprofajinin amino asit ve vitamin gereksinimleri üzerindeki niceliksel önemi ise henüz yeterince araştırılmamıştır. Ayrıca, kuşların mikrobiyal olarak sentezlenen temel besinleri geri kazanmak için

alternatif yollar kullanıp kullanmadığı da dikkate alınmalıdır (McWhorter ve ark., 2009).

Kuş otçullarında kalın bağırsağın memelilerdeki gibi işleyip işlemediği sistematik çalışmalarda henüz açıklığa kavuşmamıştır. Hindi (*Meleagris gallopavo*), Gambel sülünü (*Callipepla gambellii*) ve devekuşu (*Struthio camelus*) gibi türlerde dışkı yeme davranışının gözlemlendiği bildirilmektedir (Mack ve Druliner, 2003). Klasing (1998) ise, Galliformes türlerinin ve devekuşlarının bazılarında “koksall dışkı”yı tercih ederek yeme (koksatrofi) davranışının yaygın olduğunu belirtmektedir. Özellikle kümes hayvanlarında kaprofajinin vitamin gereksinimlerini karşılamak açısından önemli olduğu kabul edilmektedir. Kümes hayvanlarında kaprofaji engellendiğinde birçok vitamin eksikliğinin kolayca ortaya çıkabileceği, ancak dışkıya erişimleri olduğunda bunun nadiren görüldüğü belirtilmektedir (Monroe ve ark., 2003).

3.6. Kloaka ve Rektum

3.6.1. Kloaka

Kloaka, sindirim sistemi ile üriner ve üreme sistemlerinin birleşerek açıldığı son odacık olup, rektuma kıyasla çok daha geniş çaplıdır. Kloaka, sindirim işlevi olmayan, ancak sindirim, üreme ve boşaltım sistemlerinin ortak çıkış noktası olan bir boşluktur. Kloaka, yarı-aerobik (yarı oksijenli) ortamı ve çoklu organ sistemlerinden gelen atıkların geçişi nedeniyle, kendine özgü bir mikrobiyotaya sahiptir. Kloaka dışkı kaynaklı bakterilere, cinsel yolla bulaşan bakterilere ve yumurta kabuğu, yuva materyali veya çevresel bileşenler (su, toprak gibi) ile ilişkili çevresel bakterilere maruz kalabilir (Grond ve ark., 2018).

3.6.2. Rektum

Rektum, ileoçekal birleşim ile kloaka arasında uzanır. Rektum, memelilerin kalın bağırsağına kıyasla (devekuşu hariç) oldukça kısa ve küçük çaplıdır. Histolojik olarak rektum, ince bağırsakla benzer yapıya sahiptir; ancak villuslar (bağırsak çıkıntıları) daha kısadır ve lenfoid foliküller açısından daha zengindir. Rektum, kloakanın *koprodeum* adlı bölümüne ventral orta hattan girer. Koprodeum, idrar ve dışkının depolandığı bir bölme görevi görür. Koprodeum ile *ürodenum* arasında bir mukoza kıvrımı bulunur. Ürodenum, üreterlerin ve dişilerde oviduktun (yumurta kanalı), erkeklerde ise vas deferens

kanallarının açıldığı bölümdür. Dışkılama sırasında, bu mukoza kıvrımı ventten dışarı doğru çevrilerek dışkının ürodenum ve proktodeumdan geçmeden atılmasına olanak tanır; böylece dışilerde yumurtlama, erkeklerde ise ejakülasyon sırasında kapanarak, dışkının yumurta ya da semeni kirletmesini engeller. *Proktodeum*, kloakanın arka bölümünü oluşturur ve burada *Fabricius kesesinin* açıklığı bulunur. *Vent*, kloakanın dışı açıldığı yer olup, dorsal ve ventralde dudak benzeri yapılar içeren enine bir yarık şeklindedir. Proktodeum ve vent, dışkılama zamanını kontrol etmeyi sağlayan istemli kaslardan oluşan bir sfinkter ile çevrilidir. Dışkılama sırasında bu dudaklar kısmen dışı çevrilir ve dışkı ile idrarın geçişi için dairesel bir açıklık oluşur (Klasing, 1999).

Memelilerde dışkı mikrobiyotasının zaman içinde oldukça stabil olduğu gösterilmiştir (Claesson ve ark., 2011; Becker ve ark., 2015). Ancak kuşlarda —özellikle vahşi kuşlarda— durum daha değişken olabilir. Bu durum, dışkı mikrobiyotasının zaman içinde sindirim kanalının farklı bölümlerinden gelen mikrobiyal katkılara göre dalgalanabileceğini göstermektedir. Örneğin, bazı zamanlarda sekum kaynaklı bakteriler baskın olabilirken, başka zamanlarda kolondan gelen bakteriler daha ağırlıklı olabilir (Klasing, 1999).

Rektumda, elektrolitler, su ve bazı besinler (basit şekerler, amino asitler) sindirim artıklarından emilir. *Passeriformes*, *Piciformes* ve *Psittaciformes* ailelerine ait eşlikçi kuşlar, diyet lifinin mikrobiyal olarak parçalanması için geniş alanlara sahip değildir; bu nedenle bitki hücre duvarı bileşenleri sindirilmmez. Sindirilmeyen bu yiyecek bileşenleri, bakteriler, idrar ve endojen kayıplarla birlikte rektum ve kloakada toplanır ve burada kısa süreliğine depolanabilir. Dışkılama sırasında, ön rektumda başlayan yoğun bir peristaltik kasılma, dışkı maddesini birkaç saniye içinde rektum ve kloaka boyunca iter. Ürik asit, genellikle dışkının yüzeyinde beyaz kristaller halinde gözlemlenir. (Klasing, 1999).

4.Yardımcı Organlar

Karaciğer, safra kesesi ve pankreas sindirim sisteminin önemli yardımcı organlarıdır. Karaciğer, neredeyse eşit büyüklükte iki lobdan oluşur. Sindirimdeki temel görevi, safra asitleri ve safra tuzlarını üretmektir. Safra asitleri ve tuzları, fosfolipitler ve kolesterol ile birlikte safra kanaliküllerine salgılanır ve daha sonra safra kanalları tarafından toplanır.

Safra kesesi, bazı kuş türlerinde bulunurken, diğerlerinde (örneğin birçok papağan, özellikle muhabbet kuşları) yoktur.

Pankreas, duodenum kıvrımı içerisinde yer alır. Pankreasta bulunan tübülo-asiner bezlerde üretilen sindirim enzimleri, kanallar aracılığıyla toplanır. Muhabbet kuşlarında, her biri ayrı bir kanalla boşaltılan üç pankreas lobu bulunur. Bu kanallardan ikisi, safra kanalının yanında duodenumun distal kıvrımının iç yüzeyine, diğeri ise karşı tarafına açılır. Kuş pankreası tarafından üretilen sindirim sıvısı, memelilerdekine benzer (*amilaz, lipaz, tripsin, kimotripsin, karboksipeptidaz A, B ve C, deoksiribonükleazlar, ribonükleazlar ve elastaz*) enzimler içerir. Ayrıca pankreas, bağırsak pH'ını dengelemek amacıyla bikarbonat da üretir (Klasing, 1999).

5. Sindirim Sürecinin Fizyolojisi

Besinlerde bulunan besin öğelerinin emilebilmesi, gastrointestinal kanalın lümeninde gerçekleşen mekanik ve enzimatik sindirimi, ardından da bağırsak epitelinden emilimi gerektirir. Sindirim içeriği genellikle ağızdan vent'e doğru hareket eder; ancak incelenmiş birçok kuş türünde bu arka yönlü akış, zaman zaman ters yönlü geri akışlarla kesintiye uğrar. Sindirim içeriğinde geri akış proventrikulus ile taşlık arasında, ince bağırsak ile taşlık arasında, rektum ile ince bağırsak arasında, kloaka ile rektum arasındaki bölgeler arasında meydana gelebilir. Proventrikulus ile taşlık arasındaki geri akışın, enzimatik ve mekanik sindirimin daha etkili çalışabilmesi için gerekli olduğu düşünülmektedir. Kloakadan rektuma olan geri akış ise, idrarda bulunan protein, tuz ve suyun yeniden emilebilmesi ihtiyacından dolayı gereklidir (Duke, 1989; Klasing, 1998).

5.1. Yiyeceğin Kavranması ve Yutulması

Gaga, yiyecek maddelerinin kavranmasında kullanılır ve genellikle dille birlikte yiyeceğin sınıflandırılması, kabuğunun soyulması, parçalanması veya ezilmesi gibi işlemlerde de görev alır. Tükürük salgısı, yiyecek tüketiminin beklentisiyle ve ağız boşluğunun fiziksel olarak gerilmesiyle tetiklenir. Yemek borusunda salgılanan tükürük ve mukus, yutulma sırasında yiyeceğin kayganlaşmasını sağlar. Yiyecek alındıktan sonra yutma işlemi genellikle hızlı bir şekilde gerçekleşir. Yiyeceğin dil tarafından dokunsal olarak uyarılması, bir dizi hızlı arka dil hareketine neden olur ve bu hareketler yiyeceği yutağa doğru

iter. Yemek borusu öne doğru hareket ederek yiyeceği alır ve yiyecek kitlesinin (bolus) arkasındaki kasların kasılması ve önündeki kasların gevşemesi ile onu aşağı doğru iletir. Bu peristaltik hareket, yiyecek kitlesini proventrikulusa veya eğer proventrikulus doluysa kursağa taşır. Ağızda enzim seviyesinin düşük, mekanik etkinin minimal olması ve yutulmadan önce geçen sürenin kısa olması nedeniyle, yiyeceğin ağızda parçalanması çok az olur (Duke, 1989; Klasing, 1998).

5.2. Su Tüketimi

Su tüketimi de, yiyecek yutulmasında olduğu gibi, dil, gırtlak çıkıntısı (laringeal tümsek) ve yemek borusunun koordinasyonunu gerektirir ve başın yukarı kaldırılması bu sürece yardımcı olabilir. Birçok papağan türü (psittacine) dillerini yalayıcı hareketlerle kullanarak suyu yemek borusuna doğru geri iter. Bu işlem, tohum açılana ve kabuk dil tarafından çıkarılıp atılana kadar tekrarlanır. Monokotiledon tohumlarıyla sık beslenen kuşlar (tarakgaga, kardinal, tanager, dokumacı ve çeşitli diğer Emberizidae, Estrildidae ve Ploceidae ailelerinden kuşlar) tohumları sert damağın büyük, destekleyici çıkıntısına yerleştirir ve alt çenenin yukarı doğru itme hareketiyle onları ezerler. Buna karşılık, yuvarlak tohumlar damağın yan oluklarına yerleştirilir ve alt çene tarafından ezilir. Her iki durumda da dil, ezilen tohumdan kabuğun ayrılmasını sağlar. Büyük papağanlar (makavlar, kakadu gibi) gibi çok sert tohumlarla beslenen kuşlar, gelişmiş çene kasları sayesinde muazzam bir baskı uygulayabilirler. Bir türün tohum tercihleri vücut büyüklüğü ile değil gaga şekli (morfolojisi), ağız açıklığı ve çene kaslarının gücü ile belirlenir. Ayrıca, tohum sertliği, tohum büyüklüğünden daha önemli bir faktör olarak tohum kullanımını sınırlar (Klasing, 1999).

5.3. Yiyecek Depolama

Yemeğin başında, yiyecek kütlesi doğrudan proventrikulusa geçer. Yemek devam ettikçe, proventrikulus ve kaslı mide dolup kapasiteye ulaşır ve sonraki yiyecek kütleleri varsa kursağa yönlendirilir veya esnek olan yemek borusunda kalır. Kursağın içinde, yiyecekler yutulma sırasında yiyeceğe karışan tükürük, kursağa salgılanan mukus ve yemekten sonra tüketilen su sayesinde nemlenir ve yumuşar. Kursakta bulunan yiyecekteki veya amilaz enzimiyle açığa çıkan glikoz emilebilir. Kursakta, yiyecekte bulunan enzimler

veya kursağın sıcak ve nemli ortamında mikroorganizmaların etkisiyle daha önemli bir sindirim de gerçekleşebilir. Kursak veya özofagusun boşalması, sindirim kanalındaki yiyecek geçiş hızını düzenlemede önemli bir rol oynar (Klasing, 1999).

5.4. Sindirim Kapasitesinin Gelişimi (Ontogeni)

Tüm çiçek tozu ile beslenen (florivor) ve omnivor kuşlar, gelişimleri sırasında diyetlerinde dramatik değişiklikler yaşarlar. Embriyo, esas olarak lipid ve protein (yumurta sarısı ve akı) içeren bir diyetle gelişir, ancak neredeyse hiç karbonhidrat tüketmez. Yumurtadan çıktıktan sonra, tohumla beslenen (granivor) kuşlara yüksek karbonhidrat ve düşük protein ile yağ içeren bir diyet verilir. Bu ani değişikliğe uyum sağlamak için uygun sindirim ve enzimatik adaptasyonları hızla geliştirmeleri gerekir (Hillgartner ve ark., 1995).

Sindirim sistemlerinin tamamen işlevsel bir organ sistemine dönüşmesi sürecinde, *precocial* (gelişimi ileri düzeyde, hemen hareket eden) ve *altricial* (doğduğunda bakıma muhtaç, gelişimi daha yavaş) kuşlar arasında önemli zamansal farklar vardır (Starck, 1996).

6. Besin Sindirimi ve Emilimi

6.1. Farklı Kuş Türlerinde Karbonhidratların Sindirimi ve Fermantasyonu

Kuşların sindirim kanalında fermente olabilecek karbonhidratların çoğu diyet lifi olarak sınıflandırılır. Bu karbonhidratlar, çeşitli polimerlerin karmaşık bir karışımından oluşur ve bunlar birçok diğer, karbonhidrat olmayan bileşenle ilişkilidir. Diyet lifleri çoğunlukla bitki hücre duvarlarında bulunur ve çözünmeyen nişasta polisakaritleri ile birlikte lignin, protein, yağ asitleri ve mumlar gibi karbonhidrat dışı maddeleri içerir. Diyet lifi, bu bileşenlere sıkı sıkıya bağlıdır (Bach Knudsen, 2001). Bitkilerdeki çözünmeyen nişasta polisakaritleri fizikokimyasal özelliklerinin insan beslenmesinde önemli olduğu kabul edilmiştir. Diyet liflerinin kolon sağlığını iyileştirdiği, kolesterolü düşürdüğü, glukoz metabolizmasını artırdığı, insülin yanıtını iyileştirdiği, kan lipidlerini azalttığı ve bazı kanser türlerini azaltabileceği öne sürülmüştür. Ancak, diyet liflerinin kanatlı hayvan beslenmesindeki rolü henüz tam olarak net değildir (Prosky, 2000).

Kanatlılara nişasta polisakaritlerinin verilmesiyle ilgili temel problemler, viskozite ve su tutma kapasitesidir. Araştırmalar, viskozitenin çözünür pektinler ve β -glukanlar nedeniyle ortaya çıktığını göstermiştir; bu maddeler, az miktarda bile olsa bağırsak viskozitesini önemli ölçüde artırmaktadır (Bedford ve Morgan, 1996). Ayrıca, viskozite ince bağırsakta substratlar ile lipazlar veya safra tuzları arasındaki etkileşimi engelleyebilir ve hidrolitik ürünlerin epitel yüzeye taşınmasını bozabilir. Arpa ve yulafta bulunan β -glukanların sindirim enzimleriyle karmaşık bağlar oluşturduğu ve bu enzimlerin aktivitelerini azalttığı öne sürülmüştür (Ikeda ve Kusano, 1983). Bazı nişasta polisakaritleri kanatlıların nişasta, protein ve lipid sindirimini azaltmaktadır. Bunun, esas olarak, gastrointestinal kimus içerisindeki lipaz, yağlar ve safra tuzu misellerinin difüzyonunu ve taşınmasını engelleyen viskoz şekerlerle ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Smith ve Annison, 1996). Bu nedenle, bazı nişasta polisakaritlerinin kuş metabolizmasında anti-besleyici bir rolü olduğu ancak fermentasyonun son ürünleriyle ilişkilendirilebilecek bazı faydalı özelliklerin de mümkün olabileceği belirtilmektedir (J'ozefiak ve ark., 2004).

6.2. Kuşların Sekumlarındaki Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Sekum fermentasyonu sırasında üretilen kısa zincirli organik asitler, insan kalın bağırsağında veya işkembe ortamında üretilenlere benzer. Bu kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) arasında *bütirat*, *asetat*, *laktat*, *propiyonat*, *valerat* ve *izovalerat* bulunur (Jamroz ve ark., 1998). SCFA üretimi, diyetin bileşimi ile ilişkilidir. Eksojen enzimler gibi diğer diyet bileşenleri SCFA konsantrasyonlarını etkileyebilir (Jamroz ve ark., 1994). Tsukahara ve Ushida (2000), tavuklara bitki proteinine dayalı bir diyet verildiğinde, hayvansal protein temelli diyete kıyasla daha yüksek SCFA üretimi olduğunu rapor etmiştir. Bu fark muhtemelen bitki bazlı diyetle daha yüksek konsantrasyonda diyet lifleri bileşenlerinin bulunması ve belki de konak mikroflora aktivitesi ve yoğunluğunun daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. SCFA konsantrasyonlarının, kuşların sindirim sistemindeki evrimsel adaptasyonlara bağlı olarak farklı türler arasında değişiklik gösterebildiği bilinmektedir. Ayrıca, tavukların büyüme süreci boyunca sekum SCFA konsantrasyonlarında değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Bu durum, Van der Wielen ve ark. (2000) tarafından yapılan gözlemlerle de desteklenmiştir; bu araştırmacılar, 3 günlük

civcivlerde asetatin bulunduğunu, ancak bütirat ve propiyonatın ilk kez 12 günlükken tespit edildiğini bildirmiştir.

Geviş getiren hayvanlarda, fermentasyonun son ürünleri toplam enerji ihtiyacının %80'inden fazlasını karşılar ve konağın glukoz kullanımı oldukça azdır. Buna karşın, glukoz kuşlar için önemli bir enerji kaynağıdır ve özellikle beyin hücreleri için vazgeçilmezdir. Kanatlıların kanındaki glukoz düzeyi, memelilere kıyasla 2 ila 10 kat daha yüksektir (Larbier ve Leclercq, 1992). Bunun yanı sıra SCFA'ların glukozu ek olarak kanatlılar tarafından enerji kaynağı olarak kullanılabileceği de belirtilmiştir (Kirchgesner ve ark. 1999). Fermentasyondan sonra, SCFA'ların protonlanmış (yani hidrojen iyonu kazanmış) formları sekum epitel zarları boyunca taşınır. Bu SCFA'lardan elde edilen enerji miktarının, kanatlıların tüm enerji ihtiyacını karşılamak için çok düşük olduğu belirtilmiştir. Ancak deve kuşu gibi uçamayan bazı kuş türlerinin, enerji ihtiyaçlarının %75'ine kadarını sekum fermentasyonun sürecinden elde ederek sağlanan enerjiyi daha iyi kullanabilecekleri öne sürülmüştür. (J'ozefiak ve ark., 2004). Ne yazık ki, yumurtacı tavuklar, hindiler, gine tavuğu ve diğer kuş türleri hakkında herhangi bir veri bulunmamaktadır; oysa bu türlerin hepsinin alt sindirim kanalındaki fermentasyon yeteneklerinin farklılık gösterdiği bilinmektedir (Vispo ve Karasov, 1997).

Karbonhidrat fermentasyonunun sekumda potansiyel enerji faydalarının tartışılması dikkatle ele alınmalıdır, çünkü kuşların sindirim kanalından SCFA emilimine dair çok az bilgi bulunmaktadır. Enerji sağlayıcı etkilerinin yanı sıra, kuş türlerinin sekumlarında bulunan SCFA'lar başka faydalar da sağlayabilir. Van der Wielen ve ark. (2000), tavuk sekumlarında yüksek fermentasyon aktivitesinin daha düşük bir pH ile ilişkili olduğunu ve bu durumun, bazı patojenik bakterilerin hücre zarındaki proton itici gücü dağıtarak büyümelerini engelleyebileceğini belirtmiştir (Russell, 1992). SCFA'ların bazı enterik bakteriler ve *S. typhimurium* üzerinde bakteriyostatik (üremeyi durdurucu) etki gösterirken, *Lactobacillus* gibi yararlı bakterileri engellemediği bildirilmiştir (Van der Wielen ve ark., 2000). Marounnek ve ark. (1999), propiyonatın patojenik bakterileri engellemede daha etkili olduğunu bildirirken, Van der Wielen ve ark. (2000) asetatin daha etkili olduğunu gözlemlemiştir.

6.3. Suda Çözünebilen Bileşiklerin Emilimi

Gıdaların kimyasal olarak parçalanması sonucu emilen ürünler arasında birçok suda çözünebilen besin maddesi bulunur. Bunlar arasında: proteinlerden türeyen monosakkaritler, peptitler ve amino asitler, mikrobiyal fermentasyondan oluşan non-protonize SCFA'lar, B vitaminleri gibi çeşitli suda çözünebilen vitaminler ve bazı mineraller yer alır. Bu suda çözünebilen moleküllerin bağırsak enterositlerinin (bağırsak epitel hücreleri) fosfolipid çift katmanlı zarını difüzyonla geçme yetenekleri, onların lipid-su dağılım katsayısıyla ilişkilidir. Yani, hücre zarının yapısı bu moleküller için emilim sınırlayıcı bir bariyer oluşturur. Bu nedenle, suda çözünebilen bu bileşiklerin *transsellüler emilimi (hücrenin içinden geçerek)*, bağırsak lümeninden enterosite alınmalarını sağlayan zarla ilişkili taşıyıcı proteinler aracılığıyla gerçekleşir. Bu taşıyıcılar: apikal membranda (lümen tarafı) bu bileşikleri hücreye alır, bazolateral membranda (kan tarafı) ise hücreden kana taşır (McWhorter ve ark., 2009).

Buna karşılık, *paraselüler emilim* ise hücreler arasındaki *sıkı bağlantılar (tight junctions)* aracılığıyla gerçekleşir. Bu emilim şekli: *difüzyon* yoluyla ya da *solvent sürüklenmesi* adı verilen bir mekanizmayla olabilir. Paraselüler (taşıyıcı olmayan) besin emilimi, şeker ve amino asitlerin taşıyıcı aracılı emilimine alternatif bir yol sağlar ve böylece ince bağırsağın toplam emilim kapasitesini artırır. Kuşlarda bu yolun memelilere kıyasla daha fazla olması, genellikle daha kısa bağırsakları telafi eder. Ancak aynı zamanda, suda çözünebilen toksinlere karşı duyarlılığı artırabilir ve bu da kuşların beslenme davranışlarını ve diyet çeşitliliğini etkileyebilir. Paraselüler bariyerin geçirgenlik özelliklerini tanımlayan temel fiziksel yapı sıkı bağlantılardır. Bu sıkı bağlantılar, komşu hücrelerin zarlarındaki protein iplikçiklerinin (fibrillerin veya “şeritlerin”) hücreler arası boşlukta birleştiği yerlerde sürekli, çevresel temas noktaları oluşturur. Bu yapıda, bitişik hücre zarlarındaki *claudin* proteinlerinden oluşan *çifli şeritler* arasında sulu gözeneklerin var olduğu düşünülmektedir. İşte bu gözenekler, suda çözünebilen bileşiklerin geçtiği varsayılan yoldur (Tsukita ve Furuse, 2000).

6.4. Suda Çözünebilen Vitaminlerin Emilimi

Bu vitaminler bağırsak epitelinden kısmen taşıyıcı proteinler aracılığıyla emilir. Memeliler üzerinde yapılan çalışmalar, kalın bağırsak lümeninde birçok

vitaminin ölçülebilir seviyelerde bulunduğunu ve bu bölgelerde vitamin taşıyıcılarına dair kanıtların arttığını göstermektedir. Benzer taşıyıcıların kuşlarda da var olabileceği varsayılabilir; ancak henüz bu konuda yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır (Said, 2004).

Dışkılarına erişimi engellenen tavuklarda yapılan eski folik asit çalışmaları, mikroplar tarafından üretilen vitaminlerin arka bağırsakta emilebildiğini düşündürmektedir: normal mikrobiyotaya sahip tavuklar, düşük folik asitli diyetlerle beslenseler bile, "mikropsuz" (germ-free) tavuklara kıyasla daha yüksek hemoglobin ve doku folik asit seviyeleri göstermiştir. Yine de kuşların vitamin ihtiyaçları genel düzeyde iyi bilinmesine rağmen, arka bağırsakta vitamin emilim kapasitesi, bu kapasitenin ince bağırsaktaki ile karşılaştırılması, günlük gereksinimlerle olan ilişkisi gibi konular halen yeteri kadar değerlendirilememiştir. Vahşi kuşların vitamin gereksinimleri ise çok daha az bilinmektedir (McWhorter ve ark., 2009).

6.5. Esansiyel Amino Asitlerin Emilimi

Esansiyel amino asitlerin emilimi için cevap daha karmaşıktır. İlk olarak, mikrobiyal proteinlerin (omurgalı konakçılar için zengin amino asit kaynağı) arka bağırsakta küçük peptit ve serbest amino asitlere parçalanarak emilim mekanizmasına bakılması gerekmektedir. Arka bağırsakta protein sindirimi olduğuna dair bazı kanıtlar olsa da protein çoğunlukla mikrobiyal olarak amonyağa parçalanıyorsa (genellikle böyle düşünülür), bu, esansiyel amino asit gereksinimlerinin karşılanması açısından çok az fayda sağlamaktadır. Eğer mikrobiyal azotun kaynağı konağın kendi üre, ürik asit ya da yüksek proteinli ürüt kürecikleri ise bu tür mikrobiyal döngünün konakçı açısından net azot faydası yaratıp yaratmadığı sorgulanmalıdır (Braun, 2003).

Benzer şekilde, mikroplar tarafından sentezlenen esansiyel olmayan amino asitler konağa emdirilse bile, fayda açık değildir. Zira konağın kanındaki atık amonyaktan zaten bu amino asitler mikroplara ihtiyaç duyulmadan sentezlenebilir. Kuşlarda ve memelilerde, arka bağırsakta endojen (konakçı kaynaklı) enzimlerin esansiyel amino asitleri serbest bırakıp bırakmadığına dair çalışma sayısı çok azdır. İlginç bir çalışmada tavşanların kalın bağırsağının distal (arka) kısmında yüksek seviyelerde lizozim bulunduğu gösterilmiştir. Bu enzim bakteri hücre duvarlarını parçalar ve üretimi, tavşanların sabah saatlerinde dışkıladığı yumuşak dışkıların yeniden yenmesiyle zamanlı olarak

senkronize şekilde sirkadiyen bir ritimle olur. Kuşlarda lizozim varlığına dair böyle bir çalışma bilinmemektedir (McWhorter ve ark., 2009). Tavuklarda yapılan iki çalışmada arka bağırsakta endojen proteazların mikrobiyal proteini parçaladığı ileri sürülmüştür (Barash ve ark., 1993).

Enzim aktivitesi sekumun "boyun" kısmında en yüksek, kese biçimli distal kısmında en düşüktür. Bu, mikrobiyal fermentasyonun ve enzimatik sindirimin tıpkı tavşanlarda olduğu gibi bölgesel olarak ayrıldığını gösterebilir. Ayrıca, dışkılamış ve sekumu alınmış tavukların dışkısında daha fazla amino asit bulunmuştur. Bu da ince bağırsaktan kaçan amino asitlerin sekuma yöneldiğini ve burada bir kısmının emildiğini gösterir. Diyet bileşimine bağlı olarak sekumun protein ve amino asit kullanımında büyük rol oynamadığı ileri sürülmektedir. Yine de arka bağırsakta serbest amino asitlerin bulunduğu ve esansiyel olanlarının seçici olarak tutulduğuna dair kanıtlar da vardır. Tavukların embriyonik döneminde görülen taşıma yeteneklerinin yetişkinlikte kaybolup kaybolmadığı tartışmalıdır (McWhorter ve ark., 2009).

7. SONUÇ

Kuşların sindirim sistemi, yüksek enerji gereksinimlerine uyum sağlayacak şekilde özelleşmiştir. Bu sistemin anlaşılması veteriner hekimlik açısından büyük önem taşımaktadır. Şu ana kadar elde edilen veriler, kuşların benzer boyuttaki memelilere göre daha küçük bağırsaklara sahip olduklarını, hidroliz ve taşıma kapasitelerinin daha düşük olduğunu göstermektedir. Ancak, yabani kuşlarda kaprofaji ile ilgili nicel veriler eksiktir. İnce bağırsaktaki kapasiteye oranla, sekum veya arka bağırsakta amino asit ve vitamin emilim kapasiteleri hakkında yeterli bilgi yoktur. Kuş bağırsakları, tuz ve su düzenlemesinde önemli bir rol oynamasına rağmen bu konuda da yeterli çalışma yoktur. İdrar ve sindirim materyalinin kloakada karışması, kuşların arka bağırsağının memelilere kıyasla su ve tuz düzenlemesinde daha önemli olmasına neden olur.

Bu rolün önemi, ekolojik (çevre, diyet) ve fizyolojik (tuz ve su dengesi) faktörlere bağlı olarak değişir. Hindgut'un protein sindirimi ve amino asit emiliminde rol oynamadığına dair geleneksel görüş, son 10–15 yılda değişmeye başlamıştır. Kuşlarda hem mikrobiyal hem de kaçan diyet proteinlerinin parçalanarak emilmesinin mümkün olduğuna dair bazı kanıtlar vardır. Amino asit emilim kapasitesinin varlığı açıkça gösterilmiştir; ancak bunun işlevsel

önemi, hangi besinlerin sekum epiteline ulaştığına bağlı olarak daha fazla çalışmayı gerektirmektedir.

KAYNAKÇA

- Akester, A. R. (1986). Structure of the glandular layer and koilin membrane in the gizzard of the adult domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*). *Journal of Anatomy*, 147, 1–25.
- Amit-Romach, E., Sklan, D., & Uni, Z. (2004). Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poultry Science*, 83, 1093–1098.
- Bach Knudsen, K. E. (2001). The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. *Animal Feed Science and Technology*, 90, 3–20.
- Barash, I., Nitsan, Z., & Nir, I. (1993). Adaptation of light-bodied chicks to meal feeding: Gastrointestinal tract and pancreatic enzymes. *British Poultry Science*, 34, 35–42.
- Barnes, E. M. (1979). Bacterial flora of the avian gastrointestinal tract. *Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*, 3, 147–167.
- Beasley, D. E., Koltz, A. M., Lambert, J. E., Fierer, N., & Dunn, R. R. (2015). The evolution of stomach acidity and its relevance to the human microbiome. *PLoS One*, 10, e0134116.
- Becker, C., Neurath, M. F., & Wirtz, S. (2015). Gut microbiota in inflammatory bowel disease. *ILAR Journal*, 56(2), 192–204.
- Bedford, M. R., & Morgan, A. J. (1996). The use of enzymes in poultry diets. *World's Poultry Science Journal*, 52, 61–69.
- Bennett, D., Gray, D., & Hughes, M. (2003). Effect of saline intake on water flux and osmotic homeostasis in Pekin ducks (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Comparative Physiology B*, 173(1), 27–36.
- Braun, E. J. (2003). Regulation of renal and lower gastrointestinal function: Role in fluid and electrolyte balance. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 136, 499–505.
- Buyse, J., Adelsohn, D. S., Decuypere, E., & Kuhn, E. R. (1993). Diurnal–nocturnal changes in food intake, gut storage of ingesta, food transit time and metabolism in growing broiler chickens—A model for temporal control of energy balance. *British Poultry Science*, 34, 699–709.
- Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., ... & O'Toole, P. W. (2011). Composition, variability, and

- temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(Supplement 1), 4586–4591.
- Clench, M. H., & Mathias, J. R. (1995). The avian cecum: A review. *Wilson Bulletin*, 107, 93–121.
- Diamond, J. M. (1991). Evolutionary design of intestinal nutrient absorption: Enough but not too much. *News in Physiological Sciences*, 6, 92–96.
- Duke, G. E. (1989). Gastrointestinal motility and its regulation. *Poultry Science*, 61, 1245–1256.
- Evans, H. E. (1996). Anatomy of the budgerigar and other birds. In W. Rosskopf & R. W. Woerpel (Eds.), *Diseases of Cage and Aviary Birds* (3rd ed., pp. 79–162). London, UK: Williams & Wilkins.
- Godoy-Vitorino, F., Ley, R. E., Gao, Z., Pei, Z., Ortiz-Zuazaga, H., Pericchi, L. R., Garcia-Amado, M. A., Michelangeli, F., Blaser, M. J., Gordon, J. I., & Domínguez-Bello, M. G. (2008). Bacterial community in the crop of the hoatzin, a neotropical folivorous flying bird. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 5905–5912.
- Goldstein, D. L., & Skadhauge, E. (2000). Renal and extrarenal regulation of body fluid composition. In G. C. Whittow (Ed.), *Sturkie's Avian Physiology* (pp. 265–297). San Diego, CA: Academic Press.
- Grond, K., Sandercock, B. K., Jumpponen, A., & Zeglin, L. H. (2018). The avian gut microbiota: Community, physiology and function in wild birds. *Journal of Avian Biology*, 49(11), e01788.
- Hillgartner, F. B., Salati, L. M., & Goodridge, A. G. (1995). Physiological and molecular mechanisms involved in nutritional regulation of fatty acid synthesis. *Physiological Reviews*, 75, 47–76.
- Horseman, N. D., & Buntin, J. D. (1995). Regulation of pigeon crop milk secretion and parental behaviors by prolactin. *Annual Review of Nutrition*, 15, 213–238.
- Ikeda, K., & Kusano, T. (1983). Purification and properties of the trypsin inhibitors from buckwheat seed. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(7), 1481–1486.
- Jamroz, D., Jakobsen, K., Bach Knudsen, K. E., Wiliczkiewicz, A., & Orda, J. (2002). Digestibility and energy value of the non-starch polysaccharides in young chickens, ducks and geese fed diets containing high amounts of

- barley. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131(4), 657–668.
- Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., & Skorupińska, J. (1994). Ileal and postileal fermentation of cereal carbohydrates in chicken and ducks. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 81, 80–84. [In German]
- Jamroz, D., Wiliczkiewicz, A., & Skorupińska, J. (1998). Fermentation and apparent digestion of the structural carbohydrates in chicks, ducks and geese fed triticale mixtures supplemented with enzymes. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 79(1–5), 1–17.
- Józefiak, D., Rutkowski, A., & Martin, S. A. (2004). Carbohydrate fermentation in the avian ceca: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 113(1–4), 1–15.
- Józefiak, D., Rutkowski, A., Jensen, B. B., & Engberg, R. M. (2006). The effect of beta-glucanase supplementation of barley- and oat-based diets on growth performance and fermentation in broiler chicken gastrointestinal tract. *British Poultry Science*, 47(1), 57–64.
- King, A. S., & McLelland, J. (1984). *Birds: Their structure and function*. London, UK: Bailliere Tindall.
- Klasing, K. C. (1998). *Comparative avian nutrition*. Wallingford, UK: CAB International.
- Klasing, K. C. (1999). *Comparative avian nutrition*. Philadelphia, PA: W.B. Saunders.
- Larbier, M., & Leclercq, B. (1992). *Nutrition et alimentation des volailles*. Paris, France: INRA. [English edition: *Nutrition and feeding of poultry*. Translated and edited by J. Wiseman. Nottingham, UK: Nottingham University Press.]
- Lei, F., Yin, Y., Wang, Y., Deng, B., Yu, H. D., Li, L., Xiang, C., Wang, S., Zhu, B., & Wang, X. (2012). Higher-level production of volatile fatty acids in vitro by chicken gut microbiotas than by human gut microbiotas as determined by functional analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16), 5763–5772.
- Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Petito, V., & Gasbarrini, A. (2013). Commensal *Clostridia*: Leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathogens*, 5, 23.

- Mack, A. L., & Druliner, G. (2003). A non-intrusive method for measuring movements and seed dispersal in cassowaries. *Journal of Field Ornithology*, 74(2), 193–196.
- Marounek, M., Suchorska, O., & Savka, O. (1999). Effect of substrate and feed antibiotics on in vitro production of volatile fatty acids and methane in cecal contents of chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 80(3–4), 223–230.
- Matsui, H., Kato, Y., Chikaraishi, T., Moritani, M., Ban-Tokuda, T., & Wakita, M. (2010). Microbial diversity in ostrich ceca as revealed by 16S ribosomal RNA gene clone library and detection of novel *Fibrobacter* species. *Anaerobe*, 16(2), 83–93.
- McWhorter, T. J., Caviedes-Vidal, E., & Karasov, W. H. (2009). The integration of digestion and osmoregulation in the avian gut. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 84(4), 533–565.
- Mead, G. C. (1999). Bacteria in the gastrointestinal tract of birds. In R. I. Mackie, B. A. White, & R. E. Isaacson (Eds.), *Gastrointestinal microbiology* (pp. 216–240). New York, NY: Chapman and Hall.
- Monroe, A. D., Latimer, K. S., Pesti, G. M., & Bakalli, R. I. (2003). Pathology and histology of dietary tryptophan deficiency in broiler chicks. *Avian Diseases*, 47(4), 1393–1398.
- Prosky, L. (2000). When is dietary fibre considered a functional food? *Biofactors*, 12(1–4), 289–297.
- Rehman, H., Rosenkranz, C., Böhm, J., & Zentek, J. (2007). Dietary inulin affects the morphology but not the sodium-dependent glucose and glutamine transport in the jejunum of broilers. *Poultry Science*, 86(1), 118–122.
- Russell, J. B. (1992). Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: Anion accumulation versus uncoupling. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(5), 363–370.
- Said, H. M. (2004). Recent advances in carrier-mediated intestinal absorption of water-soluble vitamins. *Annual Review of Physiology*, 66, 419–446.
- Satoh, S., Furuse, M., Choi, Y. H., et al. (1994). Cholecystokinin is not a major regulator in the digestive system in the chicken. *Experientia*, 50(8), 812–814.

- Sell, J. L., Angel, C. R., Piquer, F. J., et al. (1991). Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poultry Science*, 70(6), 1200–1205.
- Smith, C. H. M., & Annison, G. (1996). Non-starch plant polysaccharides in broiler nutrition: Towards a physiologically valid approach to their determination. *World's Poultry Science Journal*, 52(2), 203–221.
- Starck, J. M. (1996). Intestinal growth in altricial European Starling (*Sturnus vulgaris*) and precocial Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Acta Anatomica*, 156(4), 289–306.
- Tsukahara, T., & Ushida, K. (2000). Effects of animal or plant protein diets on cecal fermentation in guinea pigs (*Cavia porcellus*), rats (*Rattus norvegicus*), and chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 127(2), 139–146.
- Tsukita, S., & Furuse, M. (2000). Pores in the wall: Claudins constitute tight junction strands containing aqueous pores. *Journal of Cell Biology*, 149(1), 13–16.
- Van der Wielen, P. W. J. J., Biesterveld, S., Lipman, L. J. A., & van Knapen, F. (2001). Inhibition of a glucose-limited sequencing fed-batch culture of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis by volatile fatty acids representative of the ceca of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4), 1979–1982.
- Van der Wielen, P. W. J. J., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A. P., & van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2536–2540.
- Vispo, C., & Karasov, W. H. (1997). The interaction of avian gut microbes and their host: An elusive symbiosis. In R. Mackie & B. A. White (Eds.), *Gastrointestinal microbiology: Gastrointestinal ecosystems and fermentations* (pp. 116–156). New York, NY: Chapman and Hall.
- Waldenstedt, L., & Björnhag, G. (1995). Retrograde flow of urine from cloaca to ceca in laying hens in relation to different levels of nitrogen intake. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 102(4), 168–169.
- Wilkinson, N., Hughes, R. J., Aspden, W. J., Chapman, J., Moore, R. J., & Stanley, D. (2016). The gastrointestinal tract microbiota of the Japanese

- quail (*Coturnix japonica*). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(9), 4201–4209.
- Williams, J. B., & Braun, E. J. (1996). Renal compensation for cecal loss in Gambel's quail (*Callipepla gambelii*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 113(2), 333–341.
- Zhu, X. Y., Zhong, T., Pandya, Y., & Joerger, R. D. (2002). 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 124–137.
- Ziswiler, V. (1985). Function and structure of the alimentary tract as an indicator of evolutionary trends. In *Fortschritte der Zoologie* (Vol. 30, pp. 295–303). Stuttgart, Germany: Gustav Fischer.
- Ziswiler, V., & Farner, D. S. (1972). Digestion and the digestive system. In D. S. Farner & J. R. King (Eds.), *Avian biology* (Vol. 2, pp. 343–430). New York, NY: Academic Press.

BÖLÜM 3

VETERİNER ABDOMİNAL CERRAHİDE LAPAROSKOPİ

Dr. Öğr. Üyesi Merve KARABULUT¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410010>

¹Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Ana Bilim Dalı, Bingöl, Türkiye.
mkarabulut@bingol.edu.tr, ORCID: 0000-0002-2106-5941

1. GİRİŞ

Veteriner hekimlikte laparoskopik, klinisyenlerin karın boşluğu içindeki yapıları asgari düzeyde travma ile incelemelerine olanak tanıyan minimal invaziv bir cerrahi tekniktir. İşlem, karın boşluğunun gazla şişirilmesiyle başlar ve net bir görüş alanı ve çalışma ortamı oluşturulur. Daha sonra laparoskop olarak bilinen sert bir teleskop, karın duvarındaki küçük bir kesiden sokularak periton boşluğunun ve içeriğinin ayrıntılı olarak, doğrudan görüntülenmesi sağlanır. Bu yaklaşım, veteriner hekimlerin açık cerrahiye gerek kalmadan iç organların durumunu gözlemlemelerini ve değerlendirmelerini sağlar (Arregui ve ark., 2012). Laparoskop yerleştirildikten sonra biyopsi forsepsiyle birlikte diğer cerrahi aletler ya da ek enstrümanlar bitişikteki küçük kesilerden yerleştirilebilir. Bu, doku biyopsileri veya anormal kitlelerin çıkarılması gibi çeşitli teşhis veya tedavi prosedürlerine olanak tanır. Laparoskopik doku travmasını en aza indirerek, hayvanlarda postoperatif ağrıyı, enfeksiyon riskini ve iyileşme süresini önemli ölçüde azaltır. Bu da onu veteriner alanda teşhis veya tedavilerde oldukça etkili ve düşük riskli bir seçenek haline getirir (Monnet ve Twedt, 2003). Laparoskopinin temel avantajlarından biri, geleneksel keşif cerrahisine olan ihtiyacı önemli ölçüde azaltırken iç organların doğrudan görüntülenmesine de katkı sağlamasıdır. Bu teknik, klinisyene gelişmiş bir kontrol ve yeterli hassasiyet imkânı sunarak, karın içi organların net ve kapsamlı bir görüntüsünü sağlamada röntgen, ultrason ve manyetik rezonans gibi invaziv olmayan görüntüleme tekniklerine karşı bir üstünlük sağlar (Arregui ve ark., 2012). Ayrıca, laparoskopinin minimal invaziv yapısı, hastanın rahatsızlığını ve iyileşme süresini en aza indirmenin yanı sıra, gerektiğinde tekrarlanan muayenelere de olanak tanıyarak devam eden karın içi değerlendirmelerine de pratik bir yaklaşım sunar. Son 15 yılda laparoskopik hızla gelişmiş ve artık insan tıbbında çok çeşitli tanı ve tedavi prosedürleri için altın standart olarak kabul edilmiştir. Popülerliği ve minimal cerrahi travma oluşumu sayesinde daha az ağrı, daha düşük morbidite oranı ve daha az komplikasyon gibi birçok önemli avantaja sahiptir. Laparoskopik cerrahi geçiren hastalar genellikle düşük enfeksiyon oranı, daha hızlı iyileşme süresi ve laparoskopun sağladığı büyütme sayesinde gelişmiş görüntüleme deneyimi yaşar. Bu büyütme, damarların ve anatomik yapıların daha iyi tanımlanmasını sağlayarak işlemin hassasiyetini artırmaktadır (Levy ve Tsaltas, 2021). Birçok faydasına rağmen, laparoskopik cerrahi tamamen risksiz değildir. Portal (giriş)

bölgesindeki 5 mm'lik kas tabakasının kapatılmasının gereksiz olduğu sıklıkla öne sürülse de veteriner hekimlikte özellikle köpeklerde bu küçük portal bölgede omental herni vakalarının meydana geldiğine dair bildirimler olmuştur (Dupré ve Fiorbianco, 2016). Ayrıca, Veress İğnesi (VN) veya laparoskopik port aracılığıyla deri altı dokuya istmeden gaz verilmesi nedeniyle havanın deri altında hapsediği deri altı amfizemi meydana gelebilmektedir. Elektrocerrahi veya elektrokoter cihazlarının kullanımından kaynaklanan başka komplikasyonlar da vardır. Bu cihazlar, dokuyu koagüle etmede ve kanamayı kontrol etmede etkili olsa da yanlışlıkla çevre organlarda termal hasara neden olabilmektedir. Ameliyat riskleri arasında, karın boşluğuna sürekli soğuk gaz verilmesinden kaynaklanabilen hipotermi de bulunur. Gaz verilmesiyle ilişkili ciddi komplikasyonlar arasında, gazın kan dolaşımına karıştığı gaz embolisi veya gazın göğüs boşluğuna istenmeyen şekilde girerek akciğer fonksiyonlarını tehlikeye atabileceği pnömotoraks da sayılabilir. Genel olarak, laparoskopi geleneksel açık cerrahiye göre daha güvenli ve daha etkili bir alternatif imkân sunsa da optimum sonuçları sağlamak için hasta güvenliğini ve olası komplikasyonları hatırla tutmak şarttır (Dupré ve Fiorbianco, 2016). Hayvanlarda minimal invaziv cerrahi (MIS) ile açık cerrahinin sonuçlarını karşılaştıran bir çalışma, MIS grubunda enfeksiyon yarası enfeksiyonu oranlarında önemli bir azalma olduğunu göstermiştir. Araştırmada hayvanların yalnızca %1,7'sinde enfeksiyon görülürken, açık cerrahi grubunda bu oran %5,5 düzeyinde kalmıştır. Bu bulgu, minimal invaziv prosedürlerde yara enfeksiyon oranının düşüklüğünü doğrulayan tek değişkenli analizle desteklenmiştir. Daha ileri düzeyde çok değişkenli analizlerde, açık cerrahi grubunda daha uzun ameliyat sürelerinin açık cerrahide gözlenen yüksek enfeksiyon riskine katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Bu sonuçlar, veteriner cerrahisinde MIS'in postoperatif komplikasyonları azaltma ve iyileşmeye dair sonuçları artırabilecek potansiyel sonuçları artırabilecek vurgulamaktadır (Mayhew ve ark., 2012). Laparoskopi genellikle daha az invaziv bir prosedür olarak görülse de her hasta için uygun olmayabilir. Diyafragma hernisi ve önemli intraabdominal yapışıklıkları olan hastalarda laparoskopi yapılmamalıdır. Obez, solunum problemleri olan veya genel olarak sağlıklı durumundaki hayvanlarda laparoskopik işlemlerden kaçınılmalıdır. Piyometrada da genellikle laparoskopiy uygun değildir. Fakat piyometralı iki diş köpekte laparoskopi destekli ovariohisterektominin başarıyla gerçekleştirildiği bir

araştırmada bildirilmiştir (Usón Gargallo ve ark., 2010).

2. KARIN CERRAHİSİNDE LAPAROSKOPI İÇİN TEKNİKLER VE EKİPMANLAR

Veteriner laparoskopik cerrahide kullanılan teknik ve aletler, her hayvan türüne özgün anatomik ve fizyolojik yapısına uygun şekilde tasarlanmalıdır. Vücut yapısı ve boyut gibi farklar, cerraha en iyi görüş ve erişimi sağlamak için hassas ayarlamalar gerektirir. Aletlerin güvenli girişini ve cerrahi alanda rahat hareketini sağlamak amacıyla da ince teknik uyarlamalar yapılmalıdır. Port çapı ve alet uzunluğu, hayvanın boyutu ve doku hassasiyetine göre seçilerek hem güvenlik hem de kontrol sağlanmaktadır. Kule ve monitör, görüntüleme ve ergonomi açısından cerrahın pozisyonuna göre hizalanmalıdır. Cerrahi teknikler, uygulanan tedaviye göre değişmekte; port sayısı ve yerleşimi cerrahın tercihine bırakılmalıdır. Genellikle karın ön kısmına üçgen düzende yerleştirilen portlar, aletlerin hassas kullanılmasına olanak tanır. Gerekli durumlarda, belirli organların daha iyi görülebilmesi için alternatif yöntemler de değerlendirilmelidir (Williamson ve Song, 2022). Genellikle vida ve dişli bir trokardan geçen 0° teleskop, hedef organ ve dokuların görüntülenmesinde kullanılır. Cerrahi aletler, 5 veya 10 mm çapındaki kapalı portlardan geçirilir; bu portlar hem aletleri korur hem de gaz sızmasını önler. Laparoskopik cerrahide, kavrama, kesme, sütür atma ve doku çıkarma için özel aletler geliştirilmiştir. Geleneksel iğne tutucular, sabit yönelimleri sayesinde cerrahın el hareketleriyle iğnenin hizalanmasına olanak tanır ve bilek manevralarını kolaylaştırır. Sap tipine göre deneyimli cerrahlar genellikle tabanca tutuşunu, acemiler ise düz avuç içi tutuşu tercih eder. Başparmak-yüzük parmağı tutuşu ise ergonomik açıdan daha az tercih edilmektedir. Tutucu çeneleri düz, eğimli veya kendinden hizalanan yapılarda olabilir; düz modeller çift el kullanımına uygundur (Peteoaca ve ark., 2018). Minimal invaziv cerrahide, genellikle multiflament yapıda olan sentetik emilebilir sütür ipleri tercih edilir. Düşük hafıza özellikleriyle kullanım kolaylığı sağlarken, alet teması sırasında hasara karşı da daha dirençlidir. (Bertolo ve ark., 2019). Minimal invaziv cerrahide genellikle 1/2 ve 3/8 dairesel dikiş iğneleri tercih edilirken, dar alanlarda “ski” tipi yarım kavisli iğneler avantaj sağlar. J tipi iğneler ise genellikle port girişlerinin kapatılmasında kullanılır. Etkili ekipman kullanımı için iğne tutucu ile yardımcı aletler arasında en az 5 cm'lik trokar mesafesi önerilir (Monnet ve

Twedt, 2003). Alet uçlarının cerrahi sahada 60° veya daha geniş bir açıyla buluşması manipülasyonu kolaylaştırır. Trokar ile hedef bölge arasındaki mesafenin, alet uzunluğunun yarısı kadar olması önerilir. Aynalı görüntüyü önlemek ve netlik sağlamak için kamera ve aletler cerrahın görüş eksenine paralel yerleştirilmelidir. Video endoskopi sistemleri; ışık kaynağı, kablo, endoskop, kamera ve monitörden oluşur (Chamness, 1999). Küçük hayvanlar için yaygın kullanılan rijit endoskoplar genellikle 5 mm çapında ve 30 cm uzunluğundadır. Daha küçük türler (kedi, köpek yavrusu vb.) için 2,7–3 mm çapında ve 14–18 cm uzunluğundaki endoskoplar tercih edilir (Chamness, 2011). Ancak bu daha küçük teleskoplar, sınırlı ışık aktarımı nedeniyle büyük hayvanlar için yetersiz kalabilir. 5 mm üzeri teleskoplar ise, daha yeni 5 mm sistemlerin sunduğu gelişmiş görüntü ve parlaklık özellikleri nedeniyle günümüzde daha az kullanılmaktadır (Chamness, 2008). Minimal invaziv cerrahide, teleskop ile hedef doku arasında güvenli bir alan oluşturmak için CO₂ insuflatörü kullanılır. Bu cihaz, karbondioksit gazını sabit basınç ve akış hızında vererek karın boşluğunu genişletir. Böylece cerrahi alan net görünür, aletlerin hareketi kolaylaşır. CO₂, genellikle yüksek basınçlı bir tanktan insuflatöre, oradan da cerrahi alana iletilir. Bu sistem, işlem boyunca stabil bir çalışma sahası ve iyi bir görüş sağlar (Chamness, 2005; La Chapelle ve ark., 2012). Minimal invaziv cerrahi için geliştirilen aletler, genel olarak geleneksel cerrahi aletlere benzese de portlardan geçebilmek için daha uzun ve ince shaftlarla tasarlanmıştır. Bazı shaftlar, monopolar veya bipolar elektrocerrahiye uygun şekilde elektriksel olarak yalıtılmıştır. Bu tür aletlerin çatlak veya hasar açısından düzenli kontrolü, hasta güvenliği için kritiktir. Laparoskopik iğne tutucular genellikle düz saplıdır ve hemostat tipi ya da mandallı kilitleme mekanizmalarına sahiptir. Bu yapı, iğne ve sütür yönlendirmesini kolaylaştırır. Kullanılan ekipmanlar; kavrayıcı, tutucu, disektör, makas, retraktör, biyopsi forsepsi ve iğne tutucu gibi farklı işlevlere göre çeşitlenir. Alet uçları, kullanım amacına bağlı olarak tek ya da çift etkili mekanizmalar içerebilir. Çoklu port tekniğiyle çalışan ve yeni başlayan cerrahlar için temel laparoskopik set; 5 veya 10 mm çapında 0° teleskop, ışık kablosu, video kamera, CO₂ insuflatör hortumu ve gerekirse Veress iğnesini içerir. Giriş için genellikle üç adet 5 mm trokar (iki keskin, bir kör uçlu) ve bir-iki adet 10 mm trokar (keskin ve kör uçlu) kullanılır. Ayrıca daraltıcı kapaklar; 10 mm çift etkili Babcock veya Duval forsepsi; 5 mm Babcock, Kelly ya da Maryland kavrama-diseksiyon forsepsleri; Metzenbaum

makası, kapalı uçlu veya punch tipi biyopsi forsepsi; palpasyon probu ve bir ovariektomi kancası da sette yer alır. Daha ileri düzey tecrübeli cerrahlar için bu temel set, dik açılı diseksiyon forsepsi, atravmatik doku tutucular, mermi burunlu veya bağırsak tutucular gibi özel aletlerle genişletilebilir. Ayrıca, düz ya da kavisli iğne tutucular, dikiş yardımcıları, kanca makas, emme ve yıkama sistemleri, fan tipi retraktör, 30° açılı teleskop, bipolar elektro cerrahi aletler, mini laparoskopik ekipmanlar ile eklemli veya yönlendirilebilir uçlara sahip tek port kanüller gibi gelişmiş cihazlar da eklenebilir (Chamness, 2005; Chamness, 2008). Veteriner cerrahlar, farklı anatomik yapılar sahip birçok türle çalıştıkları için laparoskopik tekniklerin standardizasyonu zordur (Magne ve Tams, 1999). Bir türde etkili olan yöntem, başka bir türde yetersiz kalabilir. Üstelik çoğu laparoskopik ekipman insan kullanımı için tasarlandığından, küçük veya egzotik hayvanlarda uygun olmayabilir. Bu durum güvenli ve etkili cerrahi uygulamaları zorlaştırır. Laparoskopik cerrahi özel beceriler gerektirdiğinden, eğitim ve deneyim eksikliği önemli bir engeldir. Ayrıca, ekipman ve eğitim maliyetleri yöntemin yaygınlaşmasını sınırlar. Büyük hayvanlarda pozisyonlamaya bağlı solunum ve dolaşım sorunları anesteziyi güçleştirirken, ameliyat sonrası hareketlilik de iyileşmeyi olumsuz etkileyebilir (Devitt ve ark., 2005; Yaghobian ve ark., 2024).

3. HAYVANLARIN KARIN BOŞLUĞUNDA LAPAROSKOPİNİN KLİNİK UYGULAMALARI

3.1. Overler ve Üreme Yolu

Üreme sistemi için uygulanan laparoskopik işlemler arasında ovariektomi ve kriptorşidektomi yer almaktadır. Bu işlemler, cerrahın tercihi, hastanın durumu ve uygulanan işlemin özelliğine bağlı olarak, hastanın ayakta durur pozisyonda veya sırtüstü yatar pozisyonda gerçekleştirilebilir (Smith ve ark., 2005).

3.2. Karın ve Gastrointestinal Sistem (GİS)

Karın ve GİS cerrahisinde, adesiyoliz ve herniorafi laparoskopik teknikler arasında yer almaktadır. Bu işlemler de cerrahın tercihi, hastanın durumu ve prosedür gerekliliklerine bağlı olarak, hastanın ayakta veya sırtüstü yatar pozisyonda gerçekleştirilebilir (Washabau, 2001).

3.3.Pankreas

Laparoskopi, pankreas biyopsisi almak için minimal invaziv bir yöntem sunmaktadır. Kusma, iştahsızlık veya her ikisini gösteren köpek ve kedilerdeki bir retrospektif çalışma, özellikle ekzokrin pankreas hastalığı şüphesi varsa, laparoskopinin güvenli ve henüz yeterince kullanılmayan bir tanı yöntemi olduğunu ortaya koymuştur (Washabau, 2001).

3.4. Köpeklerde Kriptorşidizm ve Laparoskopi

Kriptorşidizm, köpeklerde testislerin en yaygın doğumsal defektidir ve erişkin köpeklerde %10'a kadar varan prevalansla bildirilmektedir. Bu durum genellikle tek taraflı olmakta ve çoğunlukla sağ testisin karında kaldığı gözlemlenmektedir (Wallace ve Cox, 1980). Laparoskopi, kriptorşid hayvanlar için önemli avantajlar sunmaktadır. Laparoskop, 0.5 cm'lik bir kesiden yerleştirilerek, inguinal halkada testisin karından çıkıp çıkmadığını hızlıca değerlendirmek mümkündür. Testis damarları ve sperm kanalı inguinal halkadan çıkarken gözlemlenirse, keşif yalnızca inguinal bölgeyle sınırlı tutulabilir (Miller ve ark., 2004). İntraabdominal testisli hayvanlarda ise, laparoskopik yardımcı teknikler kritik yapıların mükemmel görünürlüğünü sağlarken, hastaya yönelik travmayı minimize eder (Boothe, 1993).

3.5. Ovariektomi ve Uygulamaları

Ovariektomi, döngüsel kızgınlık davranışının performans üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak, kızgınlık ve gebeliği önlemek, dışsal hormonal manipülasyona olanak sağlamak ve patolojik overleri almak gibi çeşitli nedenlerle uygulanmaktadır. Laparoskopik ovariektomi, insanlar ve kısıraklar gibi büyük hayvanlarda başarıyla uygulanmıştır (Palmer, 1998). 33 sağlıklı dişi tavşanda üç farklı laparoskopik ovariektomi tekniğinin karşılaştırmalı değerlendirmesi yapılmıştır. Bu teknikler; klips uygulaması sonrası overin rezeksiyonu ve çıkarılması; overin elektrokoterizasyonu ardından rezeksiyon ve çıkarılması; ipek ligasyon sonrası overin rezeksiyonu ve çıkarılmasıdır. Laparoskopi, overlerin ve ilişkili yapıların üstün görselleştirilmesini sağlayarak, laparoskopik ovariektomi, laparoskopik ovariohisterektomi ve laparoskopik destekli prosedürler dahil olmak üzere tüm üç tekniğin başarılı bir şekilde uygulanmasına olanak tanımıştır. Çoğu tavşan ameliyat sonrası iyi toparlanmış ve bir ay boyunca izlenmiştir. Ancak, iki

tavşan kanama nedeniyle, bir tavşan ise nedeni bilinmeyen bir sebepten ölmüştür. Pnömooperitonum oluşturmak için CO₂ insuflasyonu kullanılmıştır. Sonuç olarak, klips uygulaması sonrası overlerin rezeksiyonu ve çıkarılması, sonuçları açısından diğer iki teknikten üstün bulunmuştur (Kumari ve ark., 2018).

3.6. İnce Bağırsak Tıkanıklığı

İnsan hekimliğinde ince bağırsak tıkanıklığının laparoskopik tedavisi düşünülürken belirli standartlara uyulması gerekmektedir. Ancak, veterinerlik uygulamalarında henüz bu tür rehberler oluşturulmamıştır (Baiocchi ve ark., 2014). Bu standartlar, proksimal tıkanıklık, 4 cm'den küçük ince bağırsak genişlemesi, tek bir adezyon bandının varlığı, hafif karın şişliği, kısmi tıkanıklık ve daha önce geçirilmiş apendektomi öyküsü gibi faktörleri içermektedir. İnce bağırsak tıkanıklığında laparoskopi kullanılanlarda bildirilen başarı oranları %46 ile %84 arasında değişmekte olup, işlem sırasında genel bağırsak hasarı oranı %5,8 olarak rapor edilmiştir (Katić ve Dupré, 2017). Özellikle ilk vakalarda, açık cerrahiye geçiş için düşük eşik değerinin korunması önemlidir. Anestezi indüksiyonundan sonra orogastrik tüp yerleştirilmesi gibi GİS'in ameliyat öncesi dekompresyonu da sonuçları iyileştirmek için önerilir (Chosidow ve ark., 2000; Fowler, 2010; Navez ve ark., 1998).

3.7. Gastrik Dilatasyon-Volvulus ve Gastropeksi Teknikleri

Gastropeksi, mide ile vücut duvarı arasında kalıcı bir yapışıklık oluşturmayı amaçlayan cerrahi bir işlemdir. Genellikle gastrik dilatasyon-volvulus (GDV)'un önlenmesi amacıyla uygulanır. Bu işlem, aktif bir GDV atağı sırasında veya henüz etkilenmemiş ancak yüksek risk altındaki hayvanlarda profilaktik olarak gerçekleştirilebilir. Etiyolojisi tam olarak bilinmeyen gastrik dilatasyon-volvulus, her yıl yaklaşık 60.000 köpeği etkileyen, yaşamı tehdit eden bir durumdur. Midenin genişleyip yer değiştirmesi; portal, splanknik ve kaudal vena kavaya bası yapar. Bu durum hipotansiyon, kardiyojenik şok, mide nekrozu, asidoz, aritmi, yaygın damar içi pıhtılaşma ve ölüm gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir (Aronson ve ark., 2000; Burrows ve Ignaszewski, 1990). GDV için tanımlanan risk faktörleri arasında düşük vücut ağırlığı, erkek cinsiyet ve bazı tıbbi durumlar (örneğin

inflamatuvar bağırsak hastalığı, mide içi yabancı cisimler, splenektomi öyküsü) yer almaktadır. Ayrıca, son 8 saat içinde yaşanan stresli bir olay gibi çevresel etkenler de GDV riskini artırabilir. GDV bu faktörlerle ilişki gösterilmiş olsa da doğrudan nedensel bağlantılar net değildir (Glickman ve ark., 1994). Gastropeksi için çeşitli teknikler tanımlanmıştır; bunlar arasında insizyonel, kemer halkası (belt loop), kostayı çevreleyen (circumcostal), inkorpore edilen ve fundik gastropeksi yer almaktadır. Daha nadiren uygulanan yöntemler arasında ise gastrojejunostomi veya gastrokolopeksi yoluyla yapılan mide fiksasyonları bulunmaktadır. Minimal invaziv yaklaşımlar, örneğin sağ taraflı grid mini-laparotomi, endoskopi yardımlı gastropeksi, tamamen laparoskopik gastropeksi ve laparoskopik destekli gastropeksi sayılabilir. Bu minimal cerrahiler invazivliği azaltmaları ve daha kısa iyileşme süreleri sayesinde giderek daha fazla tercih edilmektedir. Sağ taraflı perkütan endoskopik gastrostomi (PEG) de kalıcı gastropeksi için önerilmiş bir teknik olarak rapor edilmiştir. Ancak, bu yöntem genellikle önerilmemektedir çünkü genellikle zayıf ve tutarsız yapışmalara neden olmakta ve prosedüre bağlı komplikasyon riskini artırmaktadır (Runge ve Mayhew, 2013).

3.8. Köpeklerde Splenektomi

Köpeklerde splenektomi, benign ve malign dalak kitleleri, torsiyon, infarkt, yaygın neoplastik hastalık, travma ve immün aracılı bozukluklar gibi çeşitli tanısal ve tedavi edici nedenlerle uygulanmaktadır. Laparoskopik splenektominin insan hekimliğinde ilk uygulamalarından biri, prosedürün yaygın olarak insanlarda kullanılmasından önce domuz ve köpek modelleri üzerinde denenerek geliştirilmiştir (Thibault ve ark., 1992). İlk raporlar, uzun cerrahi süreler gerektiren ancak minimal morbiditeye yol açan dört ila yedi port kullanılarak gerçekleştirilen bir prosedürü tanımlamıştır. Daha sonra üç portlu ya da tek ensizyonlu laparoskopik yaklaşımlar uygulanmaya başlamıştır (Bakhtiari ve ark., 2011; Stedile ve ark., 2009). Köpek hastalarda, total splenektomi genellikle splenik hilus boyunca damarların bağlanmasıyla birlikte standart ventral orta hat laparotomisi yoluyla gerçekleştirilir. Alternatif olarak, sol gastroepiploik arter, kısa gastrik arterler ve pankreatik kan akımının distalindeki splenik damarların ligasyonu da uygulanabilir. Laparoskopik yaklaşım, genellikle hilar splenektomi için daha uygundur; çünkü bu yöntemle işlem sırasında hilar damarların kolay tanımlanabilmesi mümkündür (Fransson

ve Mayhew, 2015).

3.9. Tanısal ve Karaciğer Laparoskopisi

Laparoskopi, karın içi organların daha iyi görüntülenmesini sağlayan, minimal invaziv bir cerrahi tekniktir. Bu yöntem, ameliyat sonrası ağrıyı azaltır ve iyileşmeyi hızlandırır. Tanısal laparoskopi hem insan hem de veteriner hekimlikte doku biyopsisi almak, lezyonların çıkarılabilirliğini değerlendirmek ve tümör evrelemesi yapmak için yaygın olarak uygulanmaktadır (Barnes ve ark., 2006; Culp ve ark., 2009; Devitt ve ark., 2005). Köpeklerde laparoskopik karaciğer biyopsisi için işlem; anestezi uygulanması, dorsal pozisyonda yatırılması ve Hasson tekniği kullanılarak göbek altından ventral orta hatta bir trokar kanülünün yerleştirilmesini içerir. Karın boşluğu CO₂ ile şişirildikten sonra, biyopsi aletlerinin yerleştirilmesine olanak sağlamak için ek trokarlar konur. Karaciğer lobları, 3 ila 6 biyopsi örneği alınmadan önce gözle görülür lezyonlar açısından incelenir. Kanama varsa künt problemler veya emilebilir jelatin malzemesi ile kontrol altına alınır (Petre ve ark., 2012).

3.10. Safra Kesesi ve Safra Yolu Patolojileri

Küçük hayvanlarda laparoskopik kolesistektomi (LC), safra peritoniti veya karaciğer dışı safra yolu tıkanıklığı (EHBO) durumlarında genellikle kontrendikedir. Ancak, komplikasyonsuz safra kesesi mukoseli (GBMs) veya koledokal taş olmayan semptomatik kolesistit vakalarında uygulanabilir. GBMs'nin cerrahi tedavisinde prognoz orta düzeyde olup, perioperatif mortalite %22–40 arasında değişmektedir. Bu oranlar, çoğunlukla EHBO varlığı ve hastanın sistemik durumu gibi faktörlere bağlı gelişen komplikasyonlardan kaynaklanmaktadır (Besso ve ark., 2000; Mayhew ve ark., 2008). Safra kesesi, karaciğer çukurunda ve sağ medialde karaciğer loblarıyla çevrilidir. LC sırasında, sistik kanal, hepatik kanal ile birleşim noktasından bağlanır. Köpeklerde ortak safra kanalı, duodenuma uzanır ve iki ila sekiz karaciğer kanalı bu yapıya drene olur (Evans, 1993). LC, safra taşı hastalarında açık cerrahinin yerini alan altın standart yöntem hâline gelmiştir (Johnson, 2001). Genellikle LC dört portla uygulanır. Port sayısını azaltmak amacıyla tek kesiden laparoskopik cerrahi (SILS) geliştirilmiştir. Geleneksel laparoskopi ile transluminal cerrahi arasında bir köprü olarak önerilmiştir (Bresadola ve ark., 1999; Pelosi ve Pelosi 3rd, 1992).

3.11. Pankreatik Laparoskopi

Evcil hayvanlarda pankreas için laparoskopik cerrahi kullanımı, tanısal biyopsilerle sınırlı kalmaktadır. Pankreas cerrahilerinin karmaşıklığı ve buna bağlı morbidite hem insan hem de veteriner alanlarında laparoskopik tekniklerin yavaş benimsenmesine yol açmıştır. Aynı zamanda bu tekniklerin kullanımı için ortak bir kılavuz bulunmamaktadır (Subar ve ark., 2014). Pankreatit vakalarında, bez iltihabını takiben kendi kendini sindirme başlar. Köpeklerde yaygın klinik belirtiler arasında iştahsızlık, kusma, halsizlik, karın ağrısı ve ishal bulunurken; kedilerde iştahsızlık ve halsizlik daha yaygın olup, kusma ve ishal daha az sıklıkla görülür (Ferrerri ve ark., 2003; Hess ve ark., 1998). Köpeklerde endokrin pankreasın en sık görülen hastalığı, insülinomadır. Bu durum hiperinsülinemiye ve hipoglisemiye yol açar (Caywood ve ark., 1988). Klinik belirtiler arasında nöbetler, halsizlik, ataksi ve kas titremeleri bulunur. İnsülinomalar kedilerde nadirdir (Buishand ve ark., 2010). Pankreasın laparoskopik olarak incelenmesinde genellikle üç giriş noktası kullanılır; birincisi, kas travmasını azaltmak için göbek altı orta hatta yerleştirilir, diğerleri ise yanlara konumlandırılır (Fransson ve Mayhew, 2015; van Nimwegen ve Kirpensteijn, 2013).

4. KARIN BOŞLUĞUNDA LAPAROSKOPİNİN AVANTAJLARI VE DEZAVANTAJLARI

4.1. Avantajlar

Veteriner abdominal cerrahilerde laparoskopik cerrahinin başlıca avantajlarından biri, ameliyat sonrası ağrının azalmasıdır. Geleneksel açık abdominal cerrahiler genellikle geniş kesiler gerektirir. Bu durum doku ve kaslarda ciddi hasara yol açarak iyileşme sürecinde önemli düzeyde ağrı ve rahatsızlığa neden olabilir. Buna karşılık, laparoskopik cerrahi küçük kesilerle gerçekleştirilir ve çevre dokularda minimal travmaya yol açar. Doku bütünlüğünün daha az bozulması, ameliyat sonrası ağrının da daha az olmasını sağlar. Böylece veteriner hekimler için ağrı yönetimi kolaylaşırken, güçlü ağrı kesicilere olan ihtiyaçta azaltır. Bu avantaj, hastalar açısından büyük önem taşır. Çünkü daha hızlı ve konforlu bir iyileşme süreci sağlar. Uzun süren iyileşme dönemlerinin neden olduğu stres ve rahatsızlığı en aza indirir. Ayrıca, laparoskopik cerrahi, geleneksel açık cerrahiye kıyasla çok daha kısa bir iyileşme süresi sunar (Naniwadekar, 2024). Daha küçük kesiler, hayvanın

vücudunun daha hızlı iyileşmesini sağlar. Enfeksiyon ile iç kanama gibi komplikasyon risklerini en aza indirir. Bu durum, hastanede kalış süresinin kısalmasına ve normal aktivitelere daha hızlı dönüşe olanak tanır. Bu durum yalnızca hastanın genel durumunun iyi olması açısından değil, aynı zamanda veteriner uygulamaların genel verimliliği açısından da fayda sağlar. Evcil hayvan sahipleri için ise veteriner bakım maliyetlerinin azalması ve hayvanın rutin yaşamının daha az kesintiye uğraması anlamına gelir. Veteriner hekimlikte laparoskopinin bir diğer önemli avantajı da enfeksiyon riskinin azaltılmasıdır. Geleneksel açık cerrahilerde, büyük kesiler iç organları potansiyel kontaminasyona maruz bırakarak enfeksiyon riskini artırmaktadır (Fransson, 2014). Ancak, laparoskopi ile küçük kesiler, iç boşluğun dış çevreye maruziyetini sınırlar, bu da bakteriyel kontaminasyon riskini azaltır. Ayrıca, cerrahi sürecin daha kısa süreli olması, enfeksiyon olasılığını da düşürür. Bu durum veterinerlik uygulamalarında özellikle önceden var olan sağlık sorunları veya zayıflamış bağışıklık sistemine sahip hayvanlar için çok önemlidir. Çünkü bu tür hayvanlar enfeksiyonlara karşı daha hassastır. Laparoskopik cerrahilerde kan kaybı da önemli ölçüde minimize edilir (Dejesu ve ark., 2023). Laparoskopik cerrahilerde yapılan küçük kesiler ve özel kanama kontrol ekipmanları sayesinde kan kaybı önemli ölçüde azalır. Bu durum, özellikle kanama bozukluğu olan ya da düşük kan hacmine sahip hayvan türleri için avantaj sağlar. Kan kaybının sınırlı olması, laparoskopik girişimlerin hem güvenliğini artırır hem de ameliyat sonrası komplikasyon riskini düşürür (Yaghobian ve ark., 2024).

4.2. Dezavantajlar

Laparoskopik cerrahinin birçok avantajına rağmen, veterinerlikte bazı sınırlamaları ve zorlukları da bulunmaktadır. En önemli dezavantajlardan biri, gerekli ekipmanın yüksek maliyeti ve temin zorluğudur. Laparoskop, yüksek çözünürlüklü kamera sistemleri ve elektrocerrahi cihazları gibi gelişmiş araçlar hem satın alma hem de bakım açısından küçük klinikler için ekonomik yük oluşturabilir. Bu durum, özellikle kırsal bölgelerde veya kaynakların kısıtlı olduğu uygulamalarda laparoskopik cerrahinin kullanımını sınırlayabilir. Ayrıca, laparoskopi bazı karın bölgelerine sınırlı erişim sağladığından, ileri düzey ya da karmaşık operasyonlar için her zaman uygun olmayabilir (Micşa ve ark., 2024). Büyük tümörler, şiddetli yapışıklıklar veya ciddi kanama içeren

acil ameliyatlar, daha iyi görüş ve erişim sağlamak için geleneksel açık cerrahi gerektirebilir (Jones ve ark., 2017). Bu durumlarda, laparoskopide kullanılan küçük kesiler, aletleri yeterince manipüle etmek veya etkilenen bölgeyi görmek için yeterli alan sağlamayabilir. Bu nedenle açık cerrahi daha uygun bir seçenek olabilir. Laparoskopik cerrahi, yalnızca uygun ekipman değil, aynı zamanda bu yöntemde deneyimli cerrahlar da gerektirir. Laparoskopik aletlerin kullanımı ve endoskopik görüntülerin doğru yorumlanması, özel eğitim ve teknik beceri ister. Ayrıca, anestezi altındaki hayvanlarda karşılaşılacak cerrahi zorlukların yönetimi için veterinerlerin ileri düzeyde uzmanlığa sahip olmaları önemlidir (Lacitignola ve ark., 2021). Geleneksel açık cerrahiden farklı olarak, laparoskopi monitörde görüntülenen görsel imgelere dayanır ve böylece yorumlanması daha zor olabilir. Bu durum, özel eğitim ve deneyim gerektirir. Deneyimsiz veteriner hekimler laparoskopik prosedürlerde zorlanabilir ve komplikasyon riski artabilir. Ayrıca, laparoskopi daha iyi hassasiyet ve küçük kesiler sunsa da kazara organ yaralanması riski hala mevcuttur. Ameliyat sırasında dokulara fiziksel olarak dokunulamaması, kan damarları, bağırsaklar veya mesane gibi çevre organların istemeden zarar görme olasılığını artırır. Laparoskopik cerrahi, açık cerrahiye göre daha az risk taşısa da özellikle karmaşık anatomik bölgelerde dikkat gerektirir. Cerrahın anatomik bilgi ve deneyimi, komplikasyonları önlemede belirleyicidir. Ayrıca, her hayvan ve durum için uygun olmayabilir (Maurin ve ark., 2020; Stoneburner ve ark., 2024). Bazı büyük hayvanlar veya obezitesi olanlar, karın boşluğunun belirli bölgelerine erişimde zorluk yaşadığı için laparoskopik prosedürler için uygun adaylar olmayabilir. Ayrıca, acil vakalarda hızlı ve geniş cerrahi müdahale gerektiğinde, açık cerrahi daha iyi görüş ve kontrol sağlayarak tercih edilebilir. (Mayhew, 2011).

5. VETERİNER HEKİMLİKTE LAPAROSKOPİN GELECEĞİ

Laparoskopi, iyileşme süresini kısaltıp ameliyat sonrası ağrıyı azaltarak veteriner cerrahisinde önemli bir ilerleme sağlamıştır. Ancak, bu yöntemin yaygınlaşmasını engelleyen bazı zorluklar mevcuttur. Özellikle küçük kliniklerde, özel ekipmanların yüksek maliyeti ve bakım gereksinimi önemli bir engel oluşturmaktadır. Başlangıç yatırımı ve işletme giderleri, bazı veteriner hekimler için bu teknolojinin kullanımını sınırlayabilmektedir. Laparoskopik

ekipmanın yanı sıra, bu cihazların doğru kullanımı için gereken eğitim de ek bir maliyet oluşturur. Bu durum, birçok kliniğin daha ekonomik olan geleneksel cerrahi yöntemleri tercih etmesine yol açmaktadır (Mayhew, 2011). Laparoskopik cerrahi, insan tıbbında standart hale gelse de veteriner tıpta hâlâ gelişmekte olan bir alandır. Bu alanda uzmanlaşmak isteyen veteriner hekimlerin özel eğitim alması gerekmektedir. Ancak, teorik ve pratik içeriğe sahip eğitim programlarının sınırlı olması, bu tekniğin yaygınlaşmasını zorlaştırmaktadır. Ayrıca, laparoskopi uygulamaları yüksek teknik beceri ve zaman gerektirdiği için öğrenme süreci zordur. Öte yandan, teknolojik gelişmeler bu zorlukları aşma potansiyeline sahiptir. Özellikle robot destekli cerrahi sistemler, daha hassas ve kontrollü işlemler sunarak veteriner laparoskopisine önemli katkılar sağlamaktadır. Robotik laparoskopi, insan hatasını azaltabilir, ameliyatların hızını artırabilir ve ameliyat sırasında komplikasyon risklerini daha da düşürebilir. Bu sistemlerin daha erişilebilir hâle gelmesiyle, laparoskopik uygulamaların hem küçük hem de büyük hayvan cerrahisinde yaygınlaşması beklenmektedir (Passerotti ve ark., 2009). Robotik sistemlerin yanı sıra, gelişmiş görüntüleme teknolojileri de veteriner laparoskopisinin geleceğinde önemli bir rol oynamaktadır. 3D görüntüleme, yüksek çözünürlüklü kameralar ve intraoperatif ultrason gibi yenilikler, cerraha karın boşluğunu daha net ve detaylı görme imkânı sunar. Bu gelişmeler, özellikle karmaşık veya erişimi zor anatomik yapılarla yapılan operasyonlarda cerrahi başarının artmasına ve komplikasyonların azalmasına katkı sağlar. Gerçek zamanlı görüntüleme, cerrahın anlık karar vermesini kolaylaştırarak ameliyatların etkinliğini artırır. Bu teknolojiler gelişmeye devam ettikçe, veteriner laparoskopik cerrahiye daha fazla entegre olmaları beklenmektedir. Bu da cerrahi hassasiyetin artmasına ve hasta güvenliğinin iyileştirilmesine yol açacaktır (Assefa, 2018). Veteriner laparoskopisinde aletlerin gelişimi de gelecekte belirleyici olacaktır. Kesme ve koagülasyonu birleştiren enerji bazlı cihazlar ameliyatları daha hızlı ve güvenli hale getirirken, minyatürleştirilmiş aletler farklı hayvan türlerinde kullanım imkânı sağlayacaktır. Ayrıca, yapay zekâ(AI) ve makine öğrenmesinin laparoskopik sistemlere entegrasyonu da cerrahi performansı artırma potansiyeli taşımaktadır (Belmar ve ark., 2023; Chadebecq ve ark., Guo ve ark., 2023; Lünse ve ark., 2023). AI, gerçek zamanlı görüntü verilerini analiz ederek veteriner cerrahlara otomatik rehberlik sağlar. Ayrıca, anormallik tespiti, cerrahi yol önerileri ve komplikasyon öngörülleri

yapabilir. Makine öğrenmesi ise robot destekli cerrahide hassasiyeti ve performansı artırır. Bu teknolojiler, cerrahi sonuçların iyileşmesinde kritik rol oynayabilir. Ancak, etkin kullanımı için veteriner hekimler, teknoloji uzmanları ve mühendisler arasında iş birliği ile uygun maliyetli ekipman ve standart eğitim programları gereklidir. Gelecekte robotik cerrahi, gelişmiş görüntüleme ve yeni nesil aletlerle birlikte, laparoskopiyi daha erişilebilir, hassas ve uygun maliyetli hale getirecektir. Bu yenilikler, hastaları iyileştirirken hekimlere karmaşık ameliyatları daha güvenle yapma imkânı sunacaktır (Yaghobian ve ark., 2024).

Laparoskopik cerrahi, veteriner tıbbında önemli avantajlar sunmaktadır; bunlar arasında postoperatif ağrının azalması, iyileşme süresinin kısalması ve insizyonların küçülmesi sonucu enfeksiyon ve komplikasyon risklerinin minimize edilmesi bulunmaktadır. Ancak, yüksek maliyetli özel ekipman ihtiyacı, laparoskopik tekniklerde uzmanlaşmak için gerekli eğitim eksikliği ve belirli anatomik bölgelere erişimdeki teknik kısıtlamalar, laparoskopinin yaygın kullanımını sınırlayan başlıca faktörlerdir. Veteriner tıbbında laparoskopinin geleceği, robotik cerrahi sistemlerindeki gelişmeler, ileri görüntüleme teknolojileri, uygun fiyatlı cerrahi ekipman üretimine bağlıdır. Bu teknolojik ilerlemeler, cerrahi müdahalelerin doğruluğunu artırırken, laparoskopik prosedürlerin uygulanabilirliğini ve erişilebilirliğini önemli ölçüde genişletecektir. Ayrıca, bu gelişmeler cerrahi sonuçların iyileştirilmesinin yanı sıra, operasyonların çeşitliliğinin artırılmasına da olanak sağlayacaktır. Pratik uygulama açısından, laparoskopinin yaygınlaşması için maliyet etkin ekipmanların geliştirilmesi ve veteriner cerrahların bu alanda yeterlilik kazanmasını sağlamak amacıyla standartlaştırılmış eğitim programlarının oluşturulması elzemdir. Ayrıca, laparoskopinin farklı türler ve patolojilerde etkinliğini değerlendiren bilimsel araştırmaların desteklenmesi ve robotik sistemlerin cerrahi hassasiyeti artıracak şekilde optimize edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak, mevcut zorluklara rağmen, teknolojik inovasyonlar ve eğitim programlarındaki ilerlemeler veteriner laparoskopisinin klinik uygulamadaki potansiyelini maksimize edecek ve hayvan hastalar için daha güvenli ve etkin cerrahi tedavi olanakları sunacaktır.

KAYNAKÇA

- Aronson, L.R., Brockman, D.J., & Brown, D.C. (2000). Gastrointestinal emergencies. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30(3), 555-579.
- Arregui, M.E., Robert Jr, J., Katkhouda, N., McKernan, J.B., & Reich, H. (2012). *Principles of laparoscopic surgery: basic and advanced techniques*. Springer Science & Business Media.
- Assefa, A. (2018). Diagnostic Imaging Techniques In Veterinary Practice: A review. *GSJ*, 6(9), 613-629.
- Baiocchi, G. L., Vettoretto, N., Zago, M., Ansaloni, L., Gheza, F., & Agresta, F. (2014). A common case with common problems: laparoscopic treatment of small bowel obstruction (SBO). *Ann Ital Chir*, 85(ePub), S2239253X14021525.
- Bakhtiari, J., Tavakoli, A., Khalaj, A., & Ghasempour, S. (2011). Minimally invasive total splenectomy in dogs: a clinical report. *Int J Vet Res*, 5, 9-12.
- Barnes, R. F., Greenfield, C. L., Schaeffer, D. J., Landolfi, J., & Andrews, J. (2006). Comparison of biopsy samples obtained using standard endoscopic instruments and the harmonic scalpel during laparoscopic and laparoscopic-assisted surgery in normal dogs. *Veterinary Surgery*, 35(3), 243-251.
- Belmar, F., Gaete, M. I., Escalona, G., Carnier, M., Durán, V., Villagrán, I., ... & Varas, J. (2023). Artificial intelligence in laparoscopic simulation: a promising future for large-scale automated evaluations. *Surgical Endoscopy*, 37(6), 4942-4946.
- Bertolo, R., Campi, R., Klatte, T., Kriegmair, M.C., Mir, M.C., Ouzaid, I., Salagierski, M., Bhayani, S., Gill, I., & Kaouk, J. (2019). Suture techniques during laparoscopic and robot-assisted partial nephrectomy: a systematic review and quantitative synthesis of peri-operative outcomes. *BJU international*, 123(6), 923-946.
- Besso, J., Wrigley, R., Gliatto, J., & Webster, C. (2000). Ultrasonographic appearance and clinical findings in 14 dogs with gallbladder mucocele. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 41(3), 261-271.

- Boothe, H.W. (1993). Testes and epididymides. In D. Slatter & E. A. Stone (Eds.), *Textbook of small animal surgery* (2nd ed.). WB Saunders Co., pp. 1325–1326.
- Bresadola, F., Pasqualucci, A., Donini, A., Chiarandini, P., Anania, G., Terrosu, G., Sistu, M.A., & Pasetto, A. (1999). Elective transumbilical compared with standard laparoscopic cholecystectomy. *European Journal of Surgery*, 165(1), 29-34.
- Buishand, F.O., Kik, M., & Kirpensteijn, J. (2010). Evaluation of clinico-pathological criteria and the Ki67 index as prognostic indicators in canine insulinoma. *The Veterinary Journal*, 185(1), 62-67.
- Burrows, C., & Ignaszewski, L. (1990). Canine gastric dilatation-volvulus. *Journal of Small Animal Practice*, 31(10), 495-501.
- Caywood, D., Klausner, J., O'leary, T., Withrow, S., Richardson, R., Harvey, H., Norris, A., Henderson, R., & Johnston, S. (1988). Pancreatic insulin-secreting neoplasms: clinical, diagnostic, and prognostic features in 73 dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.*; 4: 577-584.
- Chadebecq, F., Lovat, L.B., & Stoyanov, D. (2023). Artificial intelligence and automation in endoscopy and surgery. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 20(3), 171-182.
- Chamness, C.J. (1999). Endoscopic instrumentation. *Small animal endoscopy*. 2nd ed., St. Louis: Mosby; p. 1-16.
- Chamness, C.J. (2005). Introduction to veterinary endoscopy and endoscopic instrumentation. *Veterinary endoscopy for the small animal practitioner*. St. Louis: Saunders; p. 1-20.
- Chamness, C.J. (2008). Instrumentation. *BSAVA manual of canine and feline endoscopy and endosurgery*. Quedgeley, UK: British Small Animal Veterinary Association; p. 11-30.
- Chamness, C.J. (2011). Endoscopic instrumentation and documentation for flexible and rigid endoscopy. *Small animal endoscopy*. 3rd ed., St. Louis: Mosby. p. 3-26.
- Chosidow, D., Johanet, H., Montariol, T., Kielt, R., Manceau, C., Marmuse, J., & Benhamou, G. (2000). Laparoscopy for acute small-bowel obstruction secondary to adhesions. *Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques*, 10(3), 155-159.

- Culp, W.T., Mayhew, P.D., & Brown, D.C. (2009). The effect of laparoscopic versus open ovariectomy on postsurgical activity in small dogs. *Veterinary Surgery*, 38(7), 811-817.
- Dejesu, C. A., Bel, L. V., Melega, I., Muresan, S. M. C., & Oana, L. I. (2023). Approaches to laparoscopic training in Veterinary Medicine: a review of personalized simulators. *Animals*, 13(24), 3781.
- Devitt, C.M., Cox, R.E., & Hailey, J.J. (2005). Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 227(6), 921-927.
- Dupré, G., & Fiorbianco, V. (2016). Laparoscopy. *Complications in Small Animal Surgery*, 362-369.
- Evans H.E. (1993). The digestive apparatus and abdomen. In: Evans HE, editor. *Miller's anatomy of the dog*. 3rd ed. Saunders, Philadelphia; p. 385-463.
- Ferreri, J.A., Hardam, E., Kimmel, S.E., Saunders, H.M., Van Winkle, T. J., Drobatz, K. J., & Washabau, R. J. (2003). Clinical differentiation of acute necrotizing from chronic nonsuppurative pancreatitis in cats: 63 cases (1996–2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(4), 469-474.
- Fowler, D.L. (2010). Laparoscopy in the acute abdomen. In: Assalia A, Gagner M, Schein M, editors. *Controversies in laparoscopic surgery*. BerlinP: Springer; p. 45-53.
- Fransson, B. (2014). The future: taking veterinary laparoscopy to the next level. *Journal of feline medicine and surgery*, 16(1), 42-50.
- Fransson, B.A., & Mayhew, P.D. (2015). *Small animal laparoscopy and thoracoscopy*. Wiley. p. 185-190.
- Glickman, L. T., Glickman, N. W., Pérez, C. M., Schellenberg, D. B., & Lantz, G. C. (1994). Analysis of risk factors for gastric dilatation and dilatation-volvulus in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 204(9), 1465-1471.
- Guo, K., Tao, H., Zhu, Y., Li, B., Fang, C., Qian, Y., & Yang, J. (2023). Current applications of artificial intelligence-based computer vision in laparoscopic surgery. *Laparoscopic, Endoscopic and Robotic Surgery*; 6(3), 91-96.

- Hess, R.S., Saunders, H. M., Van Winkle, T.J., Shofer, F.S., & Washabau, R.J. (1998). Clinical, clinicopathologic, radiographic, and ultrasonographic abnormalities in dogs with fatal acute pancreatitis: 70 cases (1986-1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(5), 665-670.
- Johnson, C. (2001). Upper abdominal pain: Gall bladder. *Bmj*, 323(7322), 1170-1173.
- Jones, K., Case, J.B., Evans, B., & Monnet, E. (2017). Evaluation of the economic and clinical feasibility of introducing rigid endoscopy and laparoscopy to a small animal general practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 250(7), 795-800.
- Katić, N., & Dupré, G. (2017). Laparoscopic ovariectomy in small animals. *In Practice*, 39(4), 170-180.
- Kumari, A., Guha, S.K., Tiwary, R., & Ansari, M. (2018). Haemato-biochemical indices in female dogs undergoing laparoscopic and open elective ovariectomy. *J. Pharm. Innov*, 7(8), 168-176.
- La Chapelle, C.F., Bemelman, W.A., Rademaker, B.M.P., Van Barneveld, T.A., Jansen, F.W. (2012). A multidisciplinary evidence-based guideline for minimally invasive surgery. Part 1: Entry techniques and the pneumoperitoneum. *Gynecol Surg*; 9(3): 271-282.
- Lacitignola, L., Guadalupi, M., & Massari, F. (2021). Single incision laparoscopic surgery (SILS) in small animals: a systematic review and meta-analysis of current veterinary literature. *Veterinary Sciences*, 8(8), 144.
- Levy, L., & Tsaltas, J. (2021). Recent advances in benign gynecological laparoscopic surgery. *Faculty reviews*, 10, 60.
- Lünse, S., Wisotzky, E. L., Beckmann, S., Paasch, C., Hunger, R., & Mantke, R. (2023). Technological advancements in surgical laparoscopy considering artificial intelligence: a survey among surgeons in Germany. *Langenbeck's archives of surgery*, 408(1), 405.
- Magne, M.L., & Tams, T.R. (1999). Laparoscopy: Instrumentation and technique. In: Tams TR, editor. *Small animal endoscopy*. St. Louis: Mosby; p. 397-408.

- Maurin, M.P., Mullins, R.A., Singh, A., & Mayhew, P.D. (2020). A systematic review of complications related to laparoscopic and laparoscopic-assisted procedures in dogs. *Veterinary Surgery*, 49, O5-O14.
- Mayhew, P.D., Mehler, S.J., & Radhakrishnan, A. (2008). Laparoscopic cholecystectomy for management of uncomplicated gall bladder mucocele in six dogs. *Veterinary Surgery*, 37(7), 625-630.
- Mayhew, P.D. (2011). Complications of minimally invasive surgery in companion animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 41(5), 1007-1021.
- Mayhew, P.D., Freeman, L., Kwan, T., & Brown, D.C. (2012). Comparison of surgical site infection rates in clean and clean-contaminated wounds in dogs and cats after minimally invasive versus open surgery: 179 cases (2007–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(2), 193-198.
- Micşa, C., Turcu, M. R., & Țogoe, D. (2024). Advancements In Laparoscopic Surgery For Veterinary Medicine: Essential Instruments And Procedures. *Scientific Works. Series C, Veterinary Medicine*, 70(1).
- Miller, N.A., Van Lue, S.J., & Rawlings, C.A. (2004). Use of laparoscopic-assisted cryptorchidectomy in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(6), 875-878.
- Monnet, E., & Twedt, D.C. (2003). Laparoscopy. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33(5), 1147-1163.
- Naniwadekar, R.G. (2024). Innovative surgical techniques in veterinary medicine: Enhancing animal health and welfare. *Rev Electron Vet.*; 25(1): 440-451.
- Navez, B., Arimont, J., & Guiot, P. (1998). Laparoscopic approach in acute small bowel obstruction. A review of 68 patients. *Hepato-gastroenterology*, 45(24), 2146-2150.
- Palmer, S.E. (1998). Ovariectomy: Laparoscopic technique. In: White N., Moore J.N., editors. *Current technique in equine surgery and lameness*. 2 ed. Philadelphia: WB Saunders; p. 217-223.
- Passerotti, C. C., Passerotti, A. M. A., Dall'Oglio, M. F., Leite, K. R., Nunes, R. L., Srougi, M., ... & Nguyen, H. T. (2009). Comparing the quality of the suture anastomosis and the learning curves associated with performing open, freehand, and robotic-assisted laparoscopic

- pyeloplasty in a swine animal model. *Journal of the American College of Surgeons*, 208(4), 576-586.
- Pelosi, M., & Pelosi 3rd, M. (1992). Laparoscopic appendectomy using a single umbilical puncture (minilaparoscopy). *The Journal of reproductive medicine*, 37(7), 588-594.
- Peteoaca, A., Istrate, A., Mocanu, J., Micsa, C., Tanase, A., & Ionita, L. (2018). The use of swine model in minimally invasive surgical training. *Journal of Biotechnology*, 280, S72-S73.
- Petre, S. L., McClaran, J. K., Bergman, P. J., & Monette, S. (2012). Safety and efficacy of laparoscopic hepatic biopsy in dogs: 80 cases (2004–2009). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 240(2), 181-185.
- Runge, J.J., & Mayhew, P.D. (2013). Evaluation of single port access gastropexy and ovariectomy using articulating instruments and angled telescopes in dogs. *Veterinary Surgery*, 42(7), 807-813.
- Smith, C., Dowling, B., & Dart, A. (2005). Recent advances in equine abdominal surgery. *The Veterinary Journal*, 170(1), 41-51.
- Stedile, R., Beck, C.A., Schiochet, F., Ferreira, M.P., Oliveira, S.T., Martens, F.B., Tessari, J.P., Bernades, S.B., Oliveira, C.S., & Santos, A.P. (2009). Laparoscopic versus open splenectomy in dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 29, 653-660.
- Stoneburner, R.M., Giuffrida, M.A., & Scott, J.E. (2024). Laparoscopy and thoracoscopy in small animal surgery: A 2020 survey of small animal diplomate and resident veterinary surgeons. *Veterinary Surgery*, 53(5), 824-833.
- Subar, D., Gobardhan, P., & Gayet, B. (2014). Laparoscopic pancreatic surgery: An overview of the literature and experiences of a single center. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 28(1), 123-132.
- Thibault, C., Mamazza, J., Létourneau, R., & Poulin, E. (1992). Laparoscopic splenectomy: operative technique and preliminary report. *Surgical Laparoscopy Endoscopy & Percutaneous Techniques*, 2(3), 248-253.
- Usón Gargallo, J., Sánchez Margallo, F. M., Pascual, S., & Climent, S. (2010). Step by step training in laparoscopic surgery. 4th ed. Cáceres, Spain: Jesús Usón Minimally Invasive Surgery Centre; p. 23-89.

- van Nimwegen, B., & Kirpensteijn, J. (2013). Endoscopic surgery in cats: laparoscopy. In *Feline Soft Tissue and General Surgery*, Elsevier Health; pp. 253-267.
- Wallace, L., & Cox, V. (1980). Canine cryptorchidism. *Current veterinary therapy VII-small animal practice*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1244-1246.
- Washabau, R. (2001). Feline acute pancreatitis—important species differences. *Journal of feline medicine and surgery*, 3(2), 95-98.
- Williamson, T., & Song, S.E. (2022). Robotic surgery techniques to improve traditional laparoscopy. *JSLS: Journal of the Society of Laparoscopic & Robotic Surgeons*, 26(2), e2022. 00002.
- Yaghobian, S., Simab, P.A., & Parhizkar, N. (2024). Laparoscopy in Veterinary Abdominal Surgery: Techniques, Applications, and Future Perspectives. *Small Animal Advances*, 3(4), 27-39.

BÖLÜM 4

BOĞA SPERMASINDA HÜCRESEL ANALİZLER

Arş Gör. Zehra COŞKUN BAHÇE¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410022>

¹ Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumşlama Anabilim Dalı, Bingöl/TÜRKİYE, Orcid no: 0000-0002-9489-9568, e-mail: zcoskunbahce@bingol.edu.tr

Giriş

Sığırların genetik kalitesinin korunması ve verimli üretim için uygulanan suni tohumlama tekniklerinin başarısı, kullanılan spermanın kalitesi ile doğrudan ilişkilidir. Spermanın laboratuvar ortamında değerlendirilmesi, fertilitate potansiyelinin doğru ve güvenilir biçimde öngörülmesinde kritik bir aşamadır (Henning ve ark., 2020). 1950'li yıllarda suni tohumlamanın (ST) hayvancılık sektörüne girmesi, sığır yetiştiriciliğinde önemli bir dönüştürme başlatmıştır. Bu gelişme, genetik olarak üstün boğaların spermasının geniş bir şekilde dağıtılmasını mümkün kılarak genetik ilerlemeyi hızlandırmıştır (Diskin, 2018). Bugün, ST programları sayesinde, genetik olarak üstün boğaların sperması, çok sayıda dişi hayvana ulaşabilmekte ve bu sayede genetik çeşitlilik artmaktadır. Genomik seleksiyonun (GS) uygulanmasıyla birlikte, genetik olarak üstün boğaların daha erken yaşlarda tanımlanması mümkün hale gelmiştir. Bu sayede, 15 aylık ve daha genç yaşlardaki boğalardan sperma toplanabilmektedir (Wolfe, 2018). Ancak, bu genç boğaların pubertaya ulaşmadan önce yeterli miktarda sperma üretimi yapamamaları, sperma üretimi açısından bir zorluk teşkil etmektedir (Wolfe, 2018). Dünya genelindeki birçok ST merkezinde, bu genç boğalardan mümkün olan en kısa sürede sperma elde etmek amacıyla, pubertaya ulaşmalarını takiben minimum sayıda (genellikle 1000) sperma payeti toplanmaya çalışılmaktadır. Bu süreçte, yönetim protokollerinin, genç boğaların sperm kalitesini veya saha doğurganlığını olumsuz etkilemeden optimum sperma üretimini sağlamak için uygun olup olmadığı konusunda belirsizlikler bulunmaktadır. Genç süt boğalarında toplam sperm üretimini etkileyen en önemli yönetim değişkenlerinden biri, ejakülat toplama sıklığıdır. Bu sıklığın, boğaların sperm üretim kapasitesini ve genel sağlık durumunu etkileyerek, sperma kalitesini ve üretim verimliliğini belirlemede önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Quick ve ark., 2021)

Genetik olarak üstün niteliklere sahip boğalardan elde edilen spermanın kullanıldığı suni tohumlama yöntemi, hayvan yetiştiriciliğinde ticari amaçla uygulanan en etkili biyoteknolojik yaklaşımlardan biri olmayı sürdürmektedir. Ancak genetik gelişimin sağlanabilmesi, gebelik oluşumu ile mümkündür. Ticari kullanım için kriyoprezervasyon yöntemiyle saklanmış boğa sperması sağlayan işletme laboratuvarları, gebelik oranlarının düşük olma ihtimali yüksek olan örnekleri belirlemek amacıyla in vitro sperm kalite analizlerine

başvurmaktadır. Bu şekilde tespit edilen örnekler, satılabilir stoklara dâhil edilmemekte ve elenerek hem boğalar hem de bireysel sperm toplama işlemleri arasındaki saha doğurganlığı varyansının azaltılması hedeflenmektedir. Uzun yıllar boyunca sperm hareketliliği ve akrozom bütünlüğünün öznel değerlendirmelerine dayalı olarak başarılı sonuçlar elde etmiştir. Ancak günümüzde akış sitometrisi ve bilgisayar destekli sperm analizi yöntemleri, sperm kalitesine ilişkin parametrelerin daha nesnel ve tekrarlanabilir biçimde ölçülmesini mümkün kılmaktadır. Uygulama maliyetleri daha yüksek olsa da bu nesnel analizlerin sağladığı artan hassasiyet ve güvenilirlik hem bireysel sperm toplama işlemlerinde hem de boğa bazında kararların doğruluğunu artırmaktadır. Kalite kontrol programlarının etkinliği, saha doğurganlık verilerinden hesaplanan boğa doğurganlık tahminlerindeki varyasyonla ortaya konmaktadır. Tarihsel veriler, boğaların %90'ından fazlasının cins ortalamasından $\pm\%3$ 'lük bir sapma aralığında bulunduğunu göstermektedir. Bu durum, hali hazırda dar olan doğurganlık dağılımları üzerinde anlamlı bir etki yaratabilecek nesnel değerlendirmelere geçiş için sınırlı bir fırsat bulunduğunu işaret etmektedir. Bu değerlendirmeler makroskobik özelliklerden başlayıp mikroskobik ve fonksiyonel parametrelerin kapsamlı analizini içerir. Günümüzde gelişen teknoloji sayesinde sperm kalitesi objektif, hassas ve tekrarlanabilir biçimde incelenebilmektedir (Perez ve ark., 2022).

Boğa davranışı ve libido

Boğaların cinsel davranış göstergelerinin sperma toplama personeli tarafından doğru biçimde tanınması, her ejakülasyonda en yüksek sperma veriminin elde edilmesine katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte, boğalar arasında libido farklılıkları bulunmakta ve bu durum cinsel uyarılma düzeyini ve sperma toplama sürecine hazırlanma yeteneğini doğrudan etkilemektedir. Nitekim, etçi ve sütçü boğaların cinsel uyarılma sürelerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, etçi boğaların uyarılma için ihtiyaç duyduğu sürenin (10,9 dakika), sütçü boğalara göre (1,1 dakika) yaklaşık on kat daha uzun olduğu görülmüştür (Almquist, 1973).

Sperma toplama işlemi, boğa açısından olumsuz bir deneyim yerine olumlu bir süreç olarak tasarlanmalıdır. Bu amaçla, toplama alanlarının uygun taban koşulları sunması, çalışan ve hayvan güvenliğini sağlayacak önlemleri

içermesi ve dikkat dağıtıcı unsurlardan arındırılması gerekmektedir. Örneğin, tesis bakım faaliyetleri, yemleme veya araç sesleri gibi dış etkenler toplama sırasında boğanın dikkatini dağıtabilmekte ve süreci olumsuz etkileyebilmektedir. Tepkileri daha yavaş olan boğalar, özellikle bu tür uyaranlara karşı hassasiyet göstermekte ve rutin dışı faaliyetler nedeniyle kolaylıkla strese girebilmektedir. Buna ek olarak, bazı boğalar çekingen davranış sergileyebilir ve baskın nitelikteki diğer boğaların varlığında toplama sürecine katılmakta isteksiz olabilir. Bu tür durumlarda, boğaların toplama halkasına giriş sırasının değiştirilmesi veya farklı dizilimlerin uygulanması faydalı olabilmektedir. Dolayısıyla, sperma toplama ekibinin, boğaların davranışsal özelliklerini doğru değerlendirebilmesi için, ardışık toplama günlerinde hayvanların gözlemlenmesine yeterli zaman ayırması gerekmektedir. Ayrıca, boğalarda cinsel uyarılma isteğini artıracak uygun koşulların sağlanması, sperma toplama verimliliği açısından kritik bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Boğaların barındırıldığı çevresel koşullar, sperm üretimi, sperm kalitesi ve hayvan refahı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. ılıman sıcaklıkların sağlanabilmesi için ısıtılmış veya soğutulmuş konforlu ahırlar, hem üretim verimliliğini hem de boğaların genel sağlığını olumlu yönde etkilemektedir (Setchell, 2006).

Ahır zemininde yeterli miktarda yataklık materyalinin veya kauçuk paspasların kullanılması, ayak, bacak, sırt ve omurga ile ilişkili rahatsızlıkların önlenmesine veya en aza indirilmesine katkıda bulunmaktadır. Sperma toplama sürecinde boğanın sağlıklı ayak yapısı kritik bir faktör olup, ağrısız ejakülasyonun temel fiziksel koşullarından biri olarak değerlendirilmektedir. Ayak apseleri, ayak çürümesi, interdigital dermatit, tırnak çatlakları, laminit ve hatalı tırnak kesimi gibi patolojiler, topallığa yol açarak boğaların çiftleşme davranışını sergileme isteğini azaltabilmektedir. Ayrıca, total boğaların ağrıya karşı geliştirdiği kompensatuvar duruş ve hareketler, diğer kas ve iskelet gruplarında anormal yüklenmelere neden olarak ikincil yaralanma riskini artırmaktadır. Bu nedenle, sperma toplama işlemi sırasında boğaların binme, inme ve itme gibi davranışları sorunsuz yerine getirebilmeleri için sağlam bir ayak sağlığına sahip olmaları gerekmektedir. Konvansiyonel tedavi yöntemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda, ağrı ve rahatsızlığın hafifletilmesine yönelik tamamlayıcı veteriner uygulamaları da değerlendirilebilmektedir. Özellikle akupunktur ve

düşük seviyeli lazer tedavisi gibi alternatif yaklaşımlar, topallık kaynaklı ağrının kontrol altına alınmasında destekleyici yöntemler olarak önerilmektedir.

Bilgisayar Destekli Sperm Analiz Sistemi (CASA) ile Sperm Motilite Testi

1974'ten günümüze, bilgisayar destekli sperma analizleri (CASA), sperm hareketini objektif olarak değerlendirmek ve kinetik çalışmalar yapmak için mevcuttur (Amann ve ark., 2014). CASA sistemleri bir sperm süspansiyonunun ardışık sayısallaştırılmış görüntülerini bir dedektör dizisine yansıtır. Bir karedeki piksellerin yoğunluğuna veya ışık saçılımına göre nesneleri algılar ve istenen bilgiyi çıkarmak ve istenen çıktıyı üretmek için özel bir yazılım kullanır (Boyers ve ark., 1989). Seminal örneklerin ana kinetik parametrelerini belirler. Toplam hareketlilik, hareket eden spermelerin yüzdesini, ilerleyen hareketlilik ise ileri yönde hareket eden spermelerin yüzdesini ifade eder. Diğer CASA parametreleri şunlardır. Eğrisel hız VCL (Velocity of Curvilinear, $\mu\text{m/s}$), sperm hücresinin izlediği yörünge boyunca gerçekte ne kadar yol aldığını gösterir. Sperm hücresinin izlediği yolun başlangıç noktası ile bitiş noktası arasındaki doğrusal mesafenin, bu hareket için geçen toplam süreye bölünmesi düz çizgi hızı VSL (Velocity of Straight Line, $\mu\text{m/s}$) olarak adlandırılır. Ortalama yol hızı VAP (Velocity of Average Path $\mu\text{m/s}$), sperm hücresinin izlediği yol boyunca hızların ortalamasıdır. Yanal baş yer değiştirmesi ALH (Amplitude of Lateral Head Displacement, μm), sperm başının ortalama yoldan laterale doğru sapma genliğini ifade eder. Çapraz frekans geçişi BCF (Beat Cross Frequency), sperm başının ortalama yol düzlemi boyunca yaptığı hareketlerin frekansıdır. Üstelik, CASA, ortalama yolun düzlüğü (STR; $\text{VSL/VAP} \times 100$), eğrisel yolun doğrusallığı (LIN; $\text{VSL/VCL} \times 100$) ve salınım katsayısı (WOB; $\text{VAP/VCL} \times 100$) gibi bazı oranlar sağlar (Amann ve ark., 2014).

Bilgisayar destekli sperm analizleri, görsel incelemelere göre daha az önyargı ile güvenilir sonuçlar sağlar (Broekhuijse ve ark., 2011). CASA, sperm alt popülasyonlarını da belirleyebilir. Bunlar hareketsiz, yavaş, orta ve hızlı sperm gruplarını içerir (Ibanescu ve ark., 2020). Bu alt popülasyonlar, sperm hareketliliğinin aktive olması (Henning ve ark., 2014), in vitro kapasitasyon (Ramío ve ark., 2008), hücre hasarına karşı kriyo-direnç (Flores

ve ark., 2009) ve doğurganlık gibi sperma kalitesi göstergeleriyle ilişkilidir (Dorado ve ark., 2013).

Akrozom Bütünlüğü

Akrozom bütünlüğü, spermanın fonksiyonel sağlamlığının temel bir göstergesi olup, başarılı dölleme süreci ve zona pellucidaya penetrasyon için kritik öneme sahiptir. Akrozom bütünlüğünün değerlendirilmesi amacıyla faz kontrast mikroskobu, floresan boyalarla prob bazlı yöntemler ve elektron mikroskobu gibi çeşitli teknikler yaygın olarak kullanılmıştır (Rodriguez-Martinez ve ark., 1997). Bununla birlikte, günümüzde akış sitometrisi, floresan izotiyosiyanat (FITC) ile konjuge edilmiş lektin problemleri kullanılarak daha spesifik ve objektif bir değerlendirme imkânı sunmaktadır. Bu bağlamda, özgüllükleri nedeniyle en sık tercih edilen lektinler *Arachis hypogaea* (yer fıstığı) aglutinin (PNA) ve *Pisum sativum* (bezelye) aglutinin (PSA)'dir (Graham, 2001). Hasarlı akrozomlarda PSA, akrozom matriksinde yer alan α -D-glukozil ve α -D-mannosil kalıntılarını tanımlarken (Cross, 2005), PNA ise dış akrozomal membrana bağlanmaktadır (Jaiswal ve ark., 2002; Mortimer ve ark., 1987). Bu nedenle, PNA ile işaretlenmiş hasarlı veya reaksiyona girmiş sperm hücreleri yeşil floresans yayarken, sağlam akrozom yapısına sahip sperm hücreleri floresans özelliği göstermemektedir (Nagy ve ark., 2003).

Suni tohumlama çalışmalarında hem plazma membranı bütünlüğü hem de akrozom bütünlüğünün aynı anda değerlendirilmesi, özellikle kriyoprezervasyon uygulamalarında spermanın dölleme kapasitesinin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla, köpek ve sığır spermelerinde FITC-PSA/PI kombinasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır (Peña ve ark., 2003). Bununla birlikte, akrozomal yapının tespitinde PNA-FITC boyamasının, PSA-FITC'ye kıyasla daha yüksek duyarlılık sağladığı bildirilmiştir (Lybaert ve ark., 2009). Ayrıca FITC-PNA/PI kombinasyonunun kullanılması, sperma kalitesinin değerlendirilmesinde yararlı olup, motilite ile akrozomal bütünlüğün eşzamanlı olarak analiz edilmesine olanak tanımaktadır (Alvarez ve ark., 2012; Robles ve ark., 2013). Bu yöntem, özellikle kriyoprezervasyonun sperm akrozomal yapısı üzerindeki olası olumsuz etkilerinin belirlenmesinde güvenilir bir araç olarak öne çıkmaktadır (Sabés-Alsina ve ark., 2017).

Mitokondriyal Aktivite Testi

Sperm mitokondrileri, sperm hareketliliği için adenosin trifosfatın (ATP) üretildiği yer olarak kabul edilir (Silva ve Gadella., 2006; Amaral ve ark., 2013). Bununla birlikte, bu sitoplazmik organellerin kalsiyum homeostazında (Nichols ve Ferguson., 2002), sperm olgunlaşması ve kapasitasyonunda (Cordoba ve ark., 2006; Aitken ve ark., 2004; Shivaji ve ark., 2009; Ramio-Lluch ve ark., 2011) önemli bir rol alır. Sperm mitokondrilerinin aktivitesini değerlendirmek amacıyla kullanılan farklı floresan boyalar arasında, 5,5',6,6'-tetrakloro-1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolilkarbosiyanin iyodür (JC-1), son yıllarda popülerlik kazanmıştır. Bunun temel nedeni, JC-1'in yüksek ve düşük mitokondriyal iç transmembran potansiyeline sahip spermleri ayırt edebilme yeteneğidir (Smiley ve ark., 1991; Cossarizza ve ark., 1993). Rhodamine 123 ve Mito Tracker gibi diğer florokromlar, aktif mitokondrilerde birikerek floresans oluştururken, JC-1 boyası tüm aktif mitokondriler tarafından alınır ve başlangıçta yeşil floresans yayar. Ancak boyanın yüksek konsantrasyonlarda metabolize edilmesi sonucu, turuncu-kırmızı floresan emisyonlu J-küme çökmesi oluşur (Smiley ve ark., 1991; Cossarizza ve ark., 1993; Gillan ve ark., 2005). Bu özellik, bir ejakülatta yüksek mitokondriyal membran potansiyeline sahip spermleri (turuncu-kırmızı floresans) ve düşük potansiyele sahip spermleri (yeşil floresans) güvenilir bir şekilde ayırt etmeyi mümkün kılar. JC-1 boyası, bu yeteneği sayesinde mitokondrilerin işlevsel durumunu değerlendirmek için daha hassas ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Garner ve ark., 1997).

Morfoloji Değerlendirmesi

Sperm hücrelerinde görülen morfolojik anormallikleri, eosin nigrosin boyası veya boyanmış lamalar kullanılarak tespit edilir. Baş, orta ve kuyruk bölgesindeki anormallikler, 100X büyütmede faz kontrast mikroskobu kullanılarak değerlendirilir. Mikropipet kullanılarak ve dondurulmuş sperm den bir damla konularak önceden ısıtılmış bir mikroskop lamına (35°C) yerleştirilir ve ardından eosin-nigrosin boyası ile boyanır (Rege ve ark., 2000). Temiz bir lama bir damla eosin, dört damla nigrosin ve bir damla sperm damlatılıp iyice karıştırılır. Karışım yine bir lamen kenarından alınır ve

başka bir lamın üzerinden froti çekilir. Ardından havada kurutulur. Farklı froti bölgeleri 400X büyütme altında 200 adet sperm sayılır ve bunlar normal ve anormal sperm hücreleri olarak sınıflandırılır (Rege ve ark., 2000).

DNA Fragmentasyon Testi

Sperm DNA hasarı, Akridin Orange (AO) ile değerlendirilir. Öncelikle çalışma çözeltisi hazırlanır bunun için 40 mL 0,1 M sitrik asit ve 2,5 mL 0,3 M disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH 2,5) karışımına 10 mL %0,1 AO stok çözeltisi eklenir. Dondurulup çözölmüş sperma örnekleri iki kez PBS ile yıkandıktan sonra, lam üzerine kalın bir froti çekilir. Frotiler, 4 °C'de etanol-aseton (1:1) çözeltisinde 1 saat fiksasyona bırakılır. Süre sonunda kurutmaya bırakılır. Daha sonra oda sıcaklığında AO çalışma çözeltisi ile 7 dakika boyunca boyanır. Boyama işleminin ardından örnekler distile su ile yıkanıp kuruması beklenir. Frotiler, FITC filtreli floresan mikroskop kullanılarak incelenir. Kromatini sağlam olan sperm başları yeşil floresans, denatüre olmuş kromatinli sperm başları ise turuncu-kırmızı veya sarı floresans gösterir. Her örnek için toplam 200 sperm sayılır ve DNA'sı hasarlı spermelerin yüzdesi hesaplanır (Sadeghi ve ark., 2009).

Hipo-Osmotik Şişme Testi (HOST)

Sperm hücresinin plazma membran bütünlüğü, hipo-osmotik şişme testi (HOST) ile değerlendirilir. Toplam 0,1 mL dondurulup çözölmüş sperma örneği, 1 mL HOST çözeltisi ile karıştırılır. HOST çözeltisi 0,5 mL D-fruktoz (%1,47), sodyum sitrat (%2,7) ve %0,5 eosin (w/v) içeriyor. Örnekler 37 °C'de 40 dakika inkübe edildikten sonra, 5 µL örnek mikropipet ile alınıp önceden ısıtılmış lam üzerine aktarılır ve lamel ile kapatılır ve 400X büyütme ile mikroskop altında incelenir. Her örnek için beş farklı alanda toplam 200 sperm sayılır. HOST çözeltisi, sperm için hipotonik ortam sağlayarak, farklı osmotik potansiyel nedeniyle kuyrukların kıvrılmasına ve baş kısmının şişmesine neden olur (Pons-Rejraji ve ark., 2009).

Sperm Canlılık Testi

Sperma canlılık oranını belirlemek amacıyla %1 eosin ve %5 nigrosin boyası, %3'lük sodyum sitrat çözeltisinde karıştırılır. Nigrosin boyası, spermelerin görüntülenmesi için arka plan sağlar. Eosin, ölü spermelerin membranına girerek pembe renk oluşumuna neden olup ölü spermelerin

tanımlanmasını sağlar. Dondurulup çözölmüş sperm örneklerinden küçük bir damla, temiz ve önceden ısıtılmış lam üzerine yerleştirilir. Daha sonra, birkaç damla boya eklenir ve 30 saniye boyunca homojen şekilde karıştırılır. Froti çekildikten sonra 1–3 dakika havada kurutulur. Kurutma işleminin ardından lam, 100X büyütme ile mikroskop altında incelenir. Baş kısmı boyanmamış spermiler canlı, başları tamamen veya kısmen boyalı olanlar ise ölü olarak kabul edilir. Her örnek için, sperm canlılık yüzdesi, beş farklı mikroskobik alanda toplam 200 sperm sayılarak hesaplanır (Khan ve ark., 2021).

KAYNAKÇA

- Aitken R.J., Ryan A.L., Baker M.A., McLaughlin E.A. (2004) Redox activity associated with the maturation and capacitation of mammalian spermatozoa. *Free Radical Biology and Medicine* 36(8):994–1010.
- Almquist J.O. (1973) Effects of sexual preparation on sperm output, sperm characteristics and sexual activity of beef bulls with a comparison to dairy bulls. *Journal of Animal Science* 36:331–336.
- Alvarez M., Tamayo-Canul J., Anel E., Boixo J.C., Mata-Campuzano M., Martinez-Pastor F., et al. (2012) Sperm concentration at freezing affects post-thaw quality and fertility of ram semen. *Theriogenology* 77(6):1111–1118.
- Amann R.P., Waberski D. (2014) Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology* 81(1):5–17.
- Amaral A., Lourenço B., Marques M., Ramalho-Santos J. (2013) Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction* 146(2):163–174.
- Boyers S.P., Davis R.O., Katz D.F. (1989) Automated semen analysis. Current Problems in Obstetrics, *Gynecology and Fertility* 12(5):167–200.
- Broekhuijse M.L.W.J., Soštarić E., Feitsma H., Gadella B.M. (2011) Additional value of computer assisted semen analysis (CASA) compared to conventional motility assessments in pig artificial insemination. *Theriogenology* 76(8):1473–1486.e1.
- Cordoba M., Mora N., Beconi M.T. (2006) Respiratory burst and NAD(P)H oxidase activity are involved in capacitation of cryopreserved bovine spermatozoa. *Theriogenology* 65(5):882–892.
- Cossarizza A., Baccarani-Contri M., Kalashnikova G., Franceschi C. (1993) A new method for the cytofluorometric analysis of mitochondrial membrane potential using the J-aggregate forming lipophilic cation 5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide (JC-1). *Biochemical Biophysical Research Communications* 197(1):40–45.
- Cross N.L., Meizel S. (2005) Methods for evaluating the acrosomal status of mammalian sperm. *Biology of Reproduction* 41(4):635–641.

- Diskin M.G. (2018) Review: Semen handling, time of insemination and insemination technique in cattle. *Animal* 12(S1): s 75–s84.
- Dorado J., Acha D., Ortiz I., Gálvez M.J., Carrasco J.J., Díaz B., Gómez-Arrones V., Calero-Carretero R., Hidalgo M. (2013) Relationship between conventional semen characteristics, sperm motility patterns and fertility of Andalusian donkeys (*Equus asinus*). *Animal Reproduction Science* 143(1–4):64–71.
- Flores E., Fernández-Novell J.M., Peña A., Rodríguez-Gil J.E. (2009) The degree of resistance to freezing-thawing is related to specific changes in the structures of motile sperm subpopulations and mitochondrial activity in boar spermatozoa. *Theriogenology* 72(6):784–797.
- Garner D.L., Johnson L.A., Yue S., Roth B.L., O'Brien J.K. (1999) Dual fluorescent staining and flow cytometric analysis of mammalian sperm viability. *Biology of Reproduction* 60(5):1119–1126.
- Gillan L., Evans G., Maxwell W.M. (2005) Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology* 63(2):445–457.
- Graham J.K. (2001) Assessment of sperm quality: A flow cytometric approach. *Animal Reproduction Science* 68(3–4):239–247.
- Henning H., Leiding C., Luther A.M., Waberski D. (2020) Sperm quality control in artificial insemination centers: Insights and challenges. *Theriogenology* 150:464–470.
- Henning H., Petrunkina A.M., Harrison R.A.P., Waberski D. (2014) Cluster analysis reveals a binary effect of storage on boar sperm motility function. *Reproduction, Fertility and Development* 26(5):623–632.
- Ibanescu I., Siuda M., Bollwein H. (2020) Motile sperm subpopulations in bull semen using different clustering approaches—Associations with flow cytometric sperm characteristics and fertility. *Animal Reproduction Science* 215:106329.
- Jaiswal B.S., Eisenbach M. (2002) Capacitation. In: Hardy D.M. (ed.) Fertilization. Academic Press; San Diego, CA:57–117.
- Khan I.M., Xu D., Cao Z., Liu H., Khan A., Ur Rahman S., Ahmed J.Z., Raheem M.A., Zhang Y. (2021) Addition of L-Cysteine and Vitamin E to semen diluent enhances freeze-thawed spermatozoa characteristics in

- crossbred cattle bulls under subtropical environment. *Pakistan Journal of Zoology* 53(4):1309–1319.
- Lybaert P., Danguy A., Leleux F., Meuris S., Lebrun P. (2009) Improved methodology for the detection and quantification of the acrosome reaction in mouse spermatozoa. *Histology and Histopathology* 24(8):999–1007.
- Mortimer D., Curtis E.F., Miller R.G. (1987) Specific labelling by peanut agglutinin of the outer acrosomal membrane of the human spermatozoon. *Reproduction* 81(1):127–135.
- Nagy S., Jansen J., Topper E.K., Gadella B.M. (2003) A triple-stain flow cytometric method to assess plasma- and acrosome-membrane integrity of cryopreserved bovine sperm immediately after thawing in presence of egg-yolk particles. *Biology of Reproduction* 68(5):1828–1835.
- Nichols D.G., Ferguson S.J. (2002) Bioenergetics. 3rd ed. Academic Press; Amsterdam, NL.
- Peña F.J., Johannisson A., Wallgren M., Rodriguez-Martinez H. (2003) Antioxidant supplementation in vitro improves boar sperm motility and mitochondrial membrane potential after cryopreservation of different fractions of the ejaculate. *Animal Reproduction Science* 78(1–2):85–98.
- Perez S.A., González R.L., Ferro Moreno S. (2022) Decisión multicriterio a partir de la calidad genética de reproductores bovinos. *Revista de la Escuela de Perfeccionamiento en Investigación Operativa* 30(52):18–31.
- Pons-Rejraji H., Sion B., Saez F. (2009) Role of reactive oxygen species (ROS) on human spermatozoa and male infertility. *Gynecologie Obstetrique & Fertilité* 37(8):529–535.
- Quick A.E., Sutherland M.A., McNaughton L.R. (2021) Predicting sperm production of young dairy bulls using collection history and health data. *Journal of Dairy Science* 104(7):7984–7992.
- Ramió L., Rivera M.M., Ramírez A., Concha I.I., Peña A., Rigau T., Rodríguez-Gil J.E. (2008) Dynamics of motile-sperm subpopulation structure in boar ejaculates subjected to in vitro capacitation and further in vitro acrosome reaction. *Theriogenology* 69(5):501–512.
- Ramio-Lluch L., Fernandez-Novell J.M., Pena A., Colas C., Cebrian-Perez J.A., Muino-Blanco T., Ramirez A., Concha I.I., Rigau T., Rodriguez-

- Gil J.E. (2011) In vitro capacitation and acrosome reaction are concomitant with specific changes in mitochondrial activity in boar sperm: Evidence for a nucleated mitochondrial activation and for the existence of a capacitation-sensitive subpopulational structure. *Reproduction in Domestic Animals* 46(4):664–673.
- Rege J.E., Toe F., Mukasa-Mugerwa E. (2000) Reproductive characteristics of Ethiopian highland sheep. II. Genetic parameters of semen characteristics and their relationships with testicular measurements in ram lambs. *Small Ruminant Research* 37(2):173–187.
- Robles V., Martínez-Pastor F. (2013) Flow cytometric methods for sperm assessment. In: *Methods in Molecular Biology*. Vol. 927. Humana Press; New York:175–186.
- Rodriguez-Martinez H., Larsson B., Zhang B., Soderquist L., Zhang B.R. (1997) In vitro assessment of viability and fertilizing capacity of bull spermatozoa. *Journal of Reproduction and Development* 43(1):1–11.
- Sabés-Alsina M., Johannisson A., Lundeheim N., Lopez-Bejar M., Morrell J.M. (2017) Effects of season on bull sperm quality in thawed samples in northern Spain. *Veterinary Record* 180(10):251.
- Sadeghi M.R., Hodjat M., Lakpour N., Arefi S., Amirjannati N., Modarresi T., Jadda H.H., Akhondi M.M. (2009) Effects of sperm chromatin integrity on fertilization rate and embryo quality following intracytoplasmic sperm injection. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology* 1(3):173–187.
- Setchell B.P. (2006) The effects of heat on the testes of mammals. *Animal Reproduction* 4:81–91.
- Shivaji S., Kota V., Siva A.B. (2009) The role of mitochondrial proteins in sperm capacitation. *Journal of Reproductive Immunology* 83(1–2):14–18.
- Silva P.F., Gadella B.M. (2006) Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology* 65(3):958–978.
- Smiley S.T., Reers M., Mottola-Hartshorn C., Lin M., Chen A., Smith T.W., Steele G.D. Jr., Chen L.B. (1991) Intracellular heterogeneity in mitochondrial membrane potentials revealed by a J-aggregate-forming lipophilic cation JC-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88(9):3671–3675.

Wolfe D.F. (2018) Review: Principles of maximizing bull semen production at genetic centers. *Animal* 12(S1): s142–s147.

BÖLÜM 5

SPEKSİN: FİZYOLOJİK SÜREÇLERDE ÇOKLU ROLÜ OLAN BİR PEPTİT

Arş. Gör. Dr. Kübra GEÇMEZ CAHAN¹,
Doç. Dr. Meltem SAĞIROĞLU²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410039>

¹ Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Siirt/TÜRKİYE,
Orcid no: 0000-0002-5862-652X, e-mail: kubra.gecmez@siirt.edu.tr

² Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Elazığ/TÜRKİYE
Orcid no: 0000-0001-6547-6809 e-mail: mkizil@firat.edu.tr

GİRİŞ

Nöropeptit Q olarak da bilinen speksin (SPX), yakın zamanda keşfedilen, 14 amino asitlik bir peptit hormonudur (Lv ve ark., 2019a). İnsan genomundaki keşfi ilk kez gizli bir Markov modelinden faydalanarak, biyoinformatik yöntemle gerçekleştirilmiştir (Mirabeau ve ark., 2007). SPX, insan genomunun 12. kromozomunda bulunan C12orf29 geni tarafından kodlanmaktadır (Behrooz ve ark., 2020). Bu gen 6 ekzon ve 5 introndan oluşmaktadır. Genin ürünü önce 116 aminoasitlik bir öncül protein (prepropeptit) şeklinde sentezlenmektedir. Söz konusu öncül proteinde bir sinyal peptiti, iki prohormon kesilme bölgesi ve işlenerek aktif hale gelecek olan SPX peptiti bulunmaktadır. Bu peptit işlendikten sonra ortaya çıkan amino asit dizisi NWTPQAMLYLKGAQ olarak bilinmektedir. Ek olarak dibazik kesilme bölgeleri arasında yer aldığı ve C-terminal amidasyonu geçirdiği bildirilmiştir (Sonmez ve ark., 2009). Hücre içi süreçler sonucunda öncül formu olan prepropeptitten kesilerek aktif hale gelir ve dolaşıma salınır (Lv ve ark., 2019a).

SPX'in birkaç paralog varyantı tanımlanmıştır. Memeli olmayan omurgalıların genomlarında SPX1a, SPX1b ve SPX2 genleri belirlenmiş olup, memelilerde ise yalnızca SPX1 geni bulunmaktadır (Kim ve ark., 2014). Olgun SPX1 peptiti, türler arasında büyük ölçüde korunmuştur (Wong ve ark., 2013; Lim ve ark., 2019). Bu nedenle birçok fizyolojik ve patolojik süreçlerde rol aldığı düşünülmektedir (Yu ve ark., 2022).

SPX periferik ve merkezi dokularda yaygın olarak bulunmaktadır (Porzionato ve ark., 2010). Kemirgen ve insanlarda SPX mRNA ve proteini, hipotalamus, hipokampus, serebral korteks, mide, ince bağırsak, pankreas, karaciğer, böbrek, tiroid, yumurtalık, testis ve adrenal bez dahil olmak üzere çeşitli dokularda tespit edilmiştir (Porzionato ve ark., 2010; Gu ve ark., 2015; Sassek ve ark., 2019). Farklı dokulardaki dağılımı göz önüne alındığında SPX'in birçok biyolojik fonksiyonda anahtar bir faktör olabileceği ileri sürülmektedir (Mills ve ark., 2021).

SPX işlevlerini gerçekleştirmek üzere dolaşıma geçtikten sonra, belirli hücre zar reseptörlerine bağlanarak bu reseptörler üzerinden hücresel işlevlerini düzenler (Kim ve ark., 2014). SPX'in özgül bir reseptörünün olmadığı bilinmekle birlikte galanın ile yapısal benzerliğinden dolayı, yapılan in vitro reseptör-ligand etkileşim çalışmaları ışığında SPX'in, işlevlerini galanın reseptörü 2 (GALR2) ve GALR3 üzerinden gerçekleştirdiği belirtilmektedir

(Kim ve ark., 2014). Her iki reseptör de merkezi sinir sistemi boyunca ve periferik dokularda bulunmaktadır (Kim ve ark., 2014; Lin ve ark., 2015). GALR2 reseptörünün özellikle karaciğer, kalp, kas ve yağ dokusu gibi önemli metabolik organlarda yüksek yağlı diyetle oluşan insülin direnci tablosunu azalttığı ifade edilmektedir (Zhang ve ark., 2012; Fang ve ark., 2018a,b; Guo ve ark., 2021). GALR3 reseptörü ise daha çok beslenme davranışının düzenlenmesinde kritik role sahiptir (Wong ve ark., 2021).

SPX, reseptörlerine bağlandığında, aktif hale gelen reseptörler hücre içi sinyal yollarını tetiklemeye başlar. Bu süreçte *fosfatidilinozitol-3-kinaz (PI3K)/protein kinaz B (AKT)* ve *siklik adenozin monofosfat (cAMP)/protein kinaz A (PKA)* yolları aktifleşmektedir (Fang ve ark., 2020). Ek olarak SPX'in, *forkhead box O1 (FoxO1)* ve *peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama koaktivator 1-alfa (PGC-1 α)* yollarının fosforilasyonu ve aktivasyonunu düzenlediği de bilinmektedir (Yu ve ark., 2022).

Speksinin İşlevleri

SPX hakkında yapılan ön çalışmalardan elde edilen bulgulara göre, glikoz metabolizması (obezitenin ve diyabetin düzenlenmesi), iştah ve enerji homeostazisinde, lipid metabolizmasında, böbrekle ilgili ve kardiyovasküler fonksiyonlarda, endokrin sistem homeostazisinde, üreme ve gastrointestinal fonksiyonlarda muhtemel rolü olduğu belirtilmektedir (Ma ve ark., 2018). Ek olarak çalışmalar SPX ile anksiyete ve depresyon gibi ruh sağlığı koşulları ile de arasında potansiyel bağlantılar olduğunu öne sürmektedir (Lv ve ark., 2020).

Glikoz Metabolizması

Glikoz homeostazisi merkezi sinir sistemi ile periferik organlar arasındaki sinyal ağları aracılığıyla sağlanmaktadır. Bu sinyal ağlarındaki herhangi bir bozulma obezite ve diyabet gibi metabolik hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır (Roh ve ark., 2016). Karaciğer, visceral yağ dokusu, adrenal bez ve tiroit dahil olmak üzere epitel ve endokrin dokularda SPX immünreaktif hücrelerin ve mRNA'sının varlığı ile, SPX'in metabolik düzenlemede rol oynayabileceği düşünülmektedir (Gu ve ark., 2015). SPX'in reseptör görevini yapan GALR2 ve GALR3'ün pankreasta da dağılım göstermesi bu reseptörlerin adacık beta hücrelerinin proliferasyonu ile insülin salınımı ve sekresyonunda rol aldığını düşündürmektedir (Kolakowski ve ark., 1998; Namsolleck ve ark., 2023).

Obezitenin Düzenlenmesi

SPX obezite ve enerji metabolizmasında potansiyel olarak düzenleyici bir faktördür (Zeng ve ark., 2024). Özellikle obezitedeki potansiyel rolünü konu alan ilk araştırmada, obez farelerde ve erişkin insanlarda, normal kiloda olan kontrollere kıyasla hem subkutan hem de visceral yağ dokusunda SPX gen ekspresyonunun azaldığı bildirilmektedir (Walewski ve ark., 2014). SPX diyetle indüklenen obez (DIO) kemirgenlere ekzojen olarak uygulandığında, kilo kaybı, enerji alımının azaldığı, lokomotor aktivitesiyle yağ oksidasyonunun arttığı belirlenmiştir (Walewski ve ark., 2014; Ge ve ark., 2015; Gambaro ve ark., 2020).

Obez çocuklar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada normal kilolu akranlarına kıyasla dolaşım SPX seviyelerinin düşük olduğu belirtilmektedir (Kumar ve ark., 2016; Chen ve ark., 2019; Behrooz ve ark., 2020). İlk yapılan araştırmalardan birinde, obezite tanısı konanlarda SPX konsantrasyonlarının düşük olduğu belirlenmiştir. Özellikle bu çalışmadaki kümeleme analizi neticesinde katılımcıların sadece SPX düzeyleri ve BMI z-skorları baz alınarak katılımcılar arasında obez olanlar bir grupta, normal kilolu olanlar diğer grupta olacak şekilde net olarak ayrılmıştır. Yani SPX düzeylerine bakarak, kimin obez kimin normal kilolu olduğu yüksek doğrulukla tahmin edilebilmiştir (Kumar ve ark., 2016). Bu bulgu da SPX düzeylerinin tek başına obeziteyi ayırt edebilecek kadar güçlü bir biyobelirteç olabileceğini göstermektedir (Kumar ve ark., 2021).

Obeziteye sahip ergen bireylerde yapılan bir araştırmada, SPX düzeylerinin düşük olmasının yanında, bu düşük SPX seviyelerinin kanda leptin fazlalığı olarak da adlandırılan hiperleptinemi durumu ile ters bir ilişki içinde olduğu da raporlamıştır. Çıkan bu sonuca göre SPX ile leptin miktarları arasında ters orantı olduğu ifade edilmiştir (Kumar ve ark., 2018a). Leptin, yağ dokudan salgılanan ve hipotalamusta iştah baskılayıcı, tokluk hissi oluşturan bir hormon olarak bilinmektedir (Farooqi ve ark., 2002). Dolayısıyla SPX'in leptinle antagonist bir mekanizma ile iştah ve metabolizma üzerinde etkili olabileceği ihtimali düşünülmektedir. Özellikle leptine ait etkinin dengeleyici bir sistemin parçası olabileceği ihtimali üzerinde durulmaktadır. Fakat bu mekanizma henüz tam bir netliğe kavuşturulmamıştır (Kumar ve ark., 2021). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada SPX'in, beslenme davranışının düzenlenmesinde leptinin etki mekanizmasının pro-opiomelanokortin (POMC)

transkripsiyonunu düzenleyerek katıldığı şeklindedir. Leptin, hipotalamustaki arkuat çekirdek bölgesinde ObRb (leptin reseptörünün uzun formu) eksprese eden hücrelerde STAT3 yolunu aktive ederek SPX transkripsiyonunu uyardığı ifade edilmektedir. SPX miktarının artması ise GALR2 aracılı sinyal iletimini aktive ederek POMC gen ekspresyonunu artırır ve netice gıda alımı azalarak, vücut ağırlığı artışı baskılanır (Jeong ve ark., 2022).

Yetişkinler üzerinde gerçekleştirilen çalışmaların çoğunda da obez bireylerde SPX'in obezite üzerinde iyileştirici bir potansiyel role sahip olduğu bilinmekle birlikte, obeziteyi azaltmaya yönelik girişimlerden sonra da SPX düzeylerinde görülen olumlu değişimler bu durumu destekler niteliktedir (Kumar ve ark., 2018b; Chen ve ark., 2019). Obeziteye sahip erişkinlerde SPX düzeylerinin normal kilolu bireylere kıyasla daha düşük olduğu ayrıca BMI, bel/kalça çevresi, kan basıncı, total kolesterol (TC) ve düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-C) gibi adipozite ile kardiyometabolik hastalık göstergeleriyle de ters ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Ek olarak üç ay boyunca denetimli fiziksel aktivite programı uygulanan obez bireylerde SPX düzeylerinde anlamlı bir artış tespit edilmiştir. Bu çalışmada SPX düzeylerindeki artışın sadece maksimum oksijen tüketimi, kalp hızı ve metabolik parametrelerde iyileşme gösteren bireylerde saptandığı bildirilmiştir. Dolayısıyla bahsi geçen bulgu, fiziksel aktivitenin SPX düzeylerini modüle edebileceğini düşündürmektedir (Khadir ve ark., 2020).

Mevcut literatürde birçok çalışma, obez veya kilolu bireylerde SPX düzeylerinin, kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu göstermektedir (Walewski ve ark., 2014; Kołodziejski ve ark., 2018a; Bitarafan ve ark., 2019; Ceylan ve ark., 2020; Khadir ve ark., 2020). Ayrıca SPX düzeylerinin leptin, ghrelin, insülin, glukagon ve oreksin-A ile negatif; adiponektin, obestatin, glukagon benzeri peptit 1 (GLP-1) ve insülin duyarlılık indeksleriyle pozitif korelasyon gösterdiği de rapor edilmektedir (Kołodziejski ve ark., 2018a). Dolayısıyla bu bulgular SPX'in obezite ile ilgili potansiyel bir biyobelirteç olarak tokluk, iştah ve insülin direnci düzenlemesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Kumar ve ark., 2021).

Diyabetteki Fonksiyonları

Tip 1 diyabetes mellitus (T1DM) ve tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) tanısı olan bireylerde yapılan klinik çalışmalarda, serum SPX düzeylerinin

azaldığı ifade edilmiş olup, dolaşımdaki düşük seviyelerinin diyabet gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Karaca ve ark., 2018). SPX'in insan pankreas adacıklarında beta hücre proliferasyonu ve insülin sekresyonu üzerinde, *fosforile siklik adenosin monofosfat (cAMP) yanıt elemanı bağlayıcı protein (p-CREB)* aktivasyonu yoluyla etkili olduğu bilinmektedir (Liu, 2020). Ek olarak SPX'in pankreatik hücre canlılığını artırdığı da rapor edilmektedir (Sassek ve ark., 2018).

Obezitede adipoz dokuda SPX ekspresyonu azalmış durumdadır. Bu durum insülin direncine ve dolayısıyla da T2DM'ye yol açan önemli bir faktördür. SPX'de gözlenen bu azalma adipoz doku ve iskelet kasında insülin direncini tetikler (Fang ve ark., 2022a). Sıçanlar üzerinde ve HepG2 hücrelerinde yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, SPX'in insülin direncinin iyileştirilmesinde rol oynadığı ifade edilmiştir. Bu bulgu ışığında SPX'in karaciğerde glukoneogenezi düzenleyen FoxO1/PGC1- α yolları üzerinden etkinliğini gösterebileceği düşünülmektedir (Gu ve ark., 2019). Egzersizin de SPX ekspresyonunu artırması, SPX'in obeziteye bağlı insülin direnci ve T2DM üzerindeki olumlu etkilerine aracılık eden bir mediyatör olabileceğini düşündürmektedir (Fang ve ark., 2022a,b).

Güncel veriler SPX'in diyabet üzerindeki etkinliğine dair karışık sonuçlar içermektedir. Özellikle bir çalışmada T1DM ve T2DM hastalarında, sağlıklı kontrollere kıyasla SPX düzeylerinde düşüş gözlenmiş, ilave olarak düşük SPX seviyelerinin glisemik parametreler, lipid veya BMI ile anlamlı bir ilişki içinde olmadığı rapor edilmiştir (Karaca ve ark., 2018). Başka bir çalışmada T2DM'ye sahip bireylerde SPX'in anlamlı şekilde düşük olmasıyla birlikte, açlık glikozu, hemoglobin A1c (HbA1c), trigliserit (TG) ve LDL-C ile negatif korelasyon gösterdiği ifade edilmektedir (Gu ve ark., 2015).

Çocuk ve ergenlerde SPX düzeyleri ile T2DM arasındaki ilişkinin çelişkili olduğu belirtilmektedir. Özellikle bir çalışmada T2DM'ye sahip olan ve olmayan obez ergenlerde SPX düzeylerinde herhangi bir fark gözlenmemiştir (Hodges ve ark., 2018). Bazı araştırmalarda SPX'in açlık insülini ve HOMA-IR ile negatif korelasyon gösterdiği söylenmekte; bazı diğer çalışmalarda ise ilişkinin bulunmadığı ifade edilmektedir (Kumar ve ark., 2016; Hodges ve ark., 2018; Bacopoulou ve ark., 2019).

Fiziksel aktivitenin etkinliğinin ölçüldüğü bir çalışmada üç aylık denetimli program sonrasında, diyabetik olmayan obez bireylerde insülin

düzeyleri hem obez olup hem de diyabetik olan bireylerde ise HbA1c'nin düştüğü gözlenmiştir. Ek olarak SPX düzeyleri artan bireylerde HbA1c'de daha belirgin bir düşüş kaydedilmiştir (Khadir ve ark., 2020).

DIO fareler, SPX ile tedavi edildiğinde glikoz toleransının iyileştiği, insülin direnci ve HbA1c'nin azaldığı ifade edilmektedir (Ge ve ark., 2015). Prediyabetik bireylerde de yaşam tarzı değişikliği sonrasında SPX düzeylerinde artış gözlenmiştir (Al-Daghri ve ark., 2019a).

Gestasyonel diyabetes mellitus (GDM) ile SPX düzeyleri arasındaki ilişkiye dair veriler henüz net değildir. İki çalışmada GDM'ye sahip kadınlarda SPX düzeylerinin yüksek olduğu (Akbas ve ark., 2019; Yavuzkir ve ark., 2020); başka bir çalışmada ise fark olmadığı bildirilmiştir (Al-Daghri ve ark., 2018). SPX düzeylerinin gebelerde glikoz, lipidler ve inflamatuvar belirteçlerle ilişkili olduğu fakat GDM için tek başına belirleyici bir rolü olmadığı öne sürülmektedir (Al-Daghri ve ark., 2018; Al-Daghri ve ark., 2019b).

Genel olarak speksin düzeylerinin, diyabetli ve diyabetsiz obez bireylerde azalmış olması, speksinin diyabet gibi metabolik bozukluklarda potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir (Khadir ve ark., 2020).

İştah ve Enerji Homeostazisi

Mevcut literatürde SPX'in besin alımının düzenlenmesindeki rolünü inceleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Wong ve ark., 2013; Walewski ve ark., 2014; Kumar ve ark., 2016; Li ve ark., 2016; Wu ve ark., 2016; Kołodziejcki ve ark., 2018a; Kumar ve ark., 2018a; Al-Daghri ve ark., 2018; Deng ve ark., 2018). Obez bireylerde SPX ve kisspeptin düzeylerinin düşük gözlemlendiği bir çalışmada SPX'in BMI, leptin, glukagon ve aktif ghrelin ile negatif; obestatin, GLP-1, adiponektin ve oreksin-A ile pozitif ilişkili olduğu raporlanmıştır (Kołodziejcki ve ark., 2018a). Bir başka çalışmada SPX ile leptin ya da toplam adiponektin arasında herhangi bir ilişkiye rastlanmazken (Kumar ve ark., 2016); aynı araştırmacıların daha sonraki çalışmalarında leptin ile negatif bir ilişki bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2018a).

Hayvan çalışmalarında da SPX mRNA düzeyinin beslenme durumuna göre değiştiği saptanmıştır: Açlık durumundaki Ya-fish balık türlerinde, forebrain'de SPX ekspresyonunun azaldığı (Wu ve ark., 2015), spotted scat, flatfish ve orange-spotted grouper türündekilerde hipotalamusta arttığı ve

yeniden beslenme ile normale döndüğü belirtilmektedir (Li ve ark., 2016; Deng ve ark., 2018; Wang ve ark., 2018). Goldfish modellemesinde ise beslenme sonrası plazmada SPX ve karaciğerde ise SPX mRNA düzeyleri artış göstermiştir (Ma ve ark., 2017). SPX1 geninin silindiği balık modellemesinde de besin alımının arttığı; SPX uygulandığında ise tam tersi durumun gözlemlendiği belirtilmektedir (Zheng ve ark., 2017).

Rodent çalışmalarında subkutan SPX uygulaması ile gıda alımı ve vücut ağırlığında azalma kaydedilmiştir. Ek olarak uzun zincirli yağ asitleri (LCFA) alımının baskılandığı, motor aktivitenin de arttığı belirlenmiştir (Walewski ve ark., 2014). SPX'in hepatik lipitleri, aspartat aminotransferaz/alanin aminotransferaz düzeylerini azaltarak, alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı üzerinde koruyucu etki bıraktığı da belirtilmektedir (Jasmine ve ark., 2016).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmanın bulgularına göre SPX'in, egzersizle birlikte obez diyabetik sıçanlarda tiroit fonksiyonlarını iyileştirmede de etkili olduğu bildirilmektedir. Bu etkilerini anti-inflamatuvar, antioksidan, anti-endoplazmik retikulum stresi, hipolipidemik ve antiapoptotik mekanizmalarla ve GALR2 reseptörü aracılığıyla sağlamaktadır (Rızk ve ark., 2024).

Bu bulgular ışığında SPX'in iştah ve enerji dengesinde güçlü bir inhibitör, lipit metabolizmasında düzenleyici ve metabolik bozukluklara karşı potansiyel koruyucu bir rol oynadığı düşünülmektedir (Lv ve ark., 2019).

Lipit Metabolizması

Serum SPX düzeylerinin total safra asitleri ve TC ile ters ilişkili olduğu bilinmektedir (Lin ve ark., 2018a). Dahası SPX ile TG düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir ilişkiye de rastlanmıştır (Lin ve ark., 2018b). Kadınları baz alan bir çalışmada SPX düzeyinin yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterol dışında lipit profili ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Al-Daghri ve ark., 2018). Metabolik sendrom (MetS) hastalarında ise SPX seviyelerinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ek olarak düşük SPX seviyelerinin yüksek TG ve düşük HDL-kolesterol ile ters ilişkili olduğu ifade edilmiştir. T2DM hastalarında da SPX düzeylerinin düşük olduğu, TG, LDL-C ile negatif korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Al-Daghri ve ark., 2018b). Fakat diyabetik hastalarda SPX ile

lipitler arasında anlamlı ilişki gözlenmeyen bir çalışma da mevcuttur (Karaca ve ark., 2019).

Hayvan çalışmalarında SPX'in adipogenezi engellediği, pro-adipogenik genlerin mRNA ekspresyonunu azalttığı ve hormon duyarlı lipaz fosforilasyonunu artırmak suretiyle lipolizi uyardığı belirlenmiştir (Kołodziejcki ve ark., 2018b). SPX'in lipogenez ve glikoz alımını baskıladığı da bilinmektedir (Zheng ve ark., 2017). SPX ile yapılan tedavide karaciğerde uzun zincirli yağ asidi alımının %70 oranında baskılandığı, hepatik lipitleri %60 oranında azalttığı ve karaciğer enzimlerinde düşüşe neden olduğu da raporlar arasında bulunmaktadır (Jasmine ve ark., 2016). Sıçanlarda uzun süreli SPX tedavisinin vücut ağırlığı artışını yavaşlattığı ve TBA düzeylerini azalttığı ifade edilmektedir (Lin ve ark., 2018a).

Bu bulgular, speksinin lipit metabolizmasında önemli bir rol oynadığını ve serum SPX düzeylerinin total kolesterol, TG, LDL ve HDL gibi lipit parametreleriyle ilişkili olduğunu göstermektedir (Lin ve ark., 2018a; Al-Daghri ve ark., 2018, 2018b; Kołodziejcki ve ark., 2018b). SPX, adipogenezi baskılayarak lipolizi artırmakta ve hepatik lipit birikimini azaltmakta, böylece metabolik bozukluklarda potansiyel koruyucu bir faktör olarak değerlendirilebileceği ifade edilmektedir (Jasmine ve ark., 2016; Zheng ve ark., 2017).

Böbrek Fonksiyonları

Kronik böbrek hastalığı, tüm dünyada yaygın bir sağlık sorunu olmakla birlikte (Major ve ark., 2018), başlıca risk faktörleri arasında diyabet, hipertansiyon, obezite, otoimmün hastalıklar, idrar yolu enfeksiyonları, böbrek taşları ve inflamasyon yer almaktadır (Sarnak ve ark., 2019). Nadir yapılan çalışmaların birinde yüksek yağlı diyet ile metabolik sendrom oluşturulan sıçanlarda, SPX tedavisi uygulandığında serum ürik asit düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (Said ve ark., 2023). Ayrıca SPX tedavisinin, böbrek dokusunda tübüler dilatasyon, inflamatuvar infiltrasyon, nekroz, apoptoz ve fibrozis gibi hasar göstergelerinde azalma sağladığı ifade edilmektedir (El-Saka ve ark., 2023). Böbrek yetmezliği oluşturulan model çalışmada, SPX uygulandığında fibrozis sürecinde rol oynayan doku inhibitörü metaloproteinaz-1, böbrek hasar molekülü-1 ve metaloproteineaz-2 düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (Yazgan ve ark., 2021). Elde edilen bu bulgular SPX'in böbrek hasarında

kullanılabilecek koruyucu bir ajan olabileceği yönündedir (Türkel ve ark., 2022).

Kardiyovasküler Fonksiyonlar

Obezite, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynar. Özellikle obezitede miyokard infarktüsü riskinin arttığı belgelenmiştir (Manson ve ark., 1990; Ingelsson ve ark., 2007). Bu durumda SPX'in obezite, T2DM ve metabolik bozukluklarla ilişkisi göz önüne alındığında, kardiyovasküler hastalıklar için de bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (Walewski ve ark., 2014; Kumar ve ark., 2016; Chen ve ark., 2019; Bitarafan ve ark., 2019; Ceylan ve ark., 2020; Behrooz ve ark., 2020; Khadir ve ark., 2020). SPX'in düşük düzeyleri, BMI, kan basıncı, TG, TC, LDL-C gibi bazı kardiyovasküler risk faktörleriyle negatif ilişkilidir (Chen ve ark., 2019; Khadir ve ark., 2020). Normal kilolu bireylerde diyastolik kan basıncı SPX düzeyleri için belirleyici olmaktadır (Khadir ve ark., 2020). Ergenlik öncesi obez çocuklarda da SPX düzeyleri ile sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve TG arasında negatif bir ilişki tespit edilmiştir (Chen ve ark., 2019).

Yüksek duyarlılıklı C-reaktif protein (hs-CRP), kardiyovasküler durumları öngörmede önemli bir faktördür (Yousuf ve ark., 2013). Bu sebeple inflamatuvar yolları üzerinden SPX'in kardiyovasküler hastalıklar riskine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Özellikle SPX'in interlökin-1 beta (IL-1 β) ve interlökin-10 (IL-10) ile de pozitif ilişkide olduğu bulunmuştur (Al-Daghri ve ark., 2018 ; Bacopoulou ve ark., 2019; Behrooz ve ark., 2000).

MetS olan erişkinlerde SPX düzeylerinin düşük olduğu ve bu ilişkinin yaş ve BMI'dan bağımsız olduğu belirtilmiştir (Al-Daghri ve ark., 2018b). Çocuklarda yapılan çalışmalarda da yüksek sistolik kan basıncı ve yağ kütlesi ile düşük SPX düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Behrooz ve ark., 2021).

SPX'in hipoksiye maruz bırakılan neonatal sıçan ventrikül miyositlerinde, mitokondriyal enerji homeostazisini koruduğu belirtilmiştir (Liu ve ark., 2020). Obez farelere SPX tedavisi uygulandığında tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), IL-1 β , IL-6 ekspresyonunu azaltmış, IL-10 ve mannaz reseptörü (CD206) düzeyleri artmıştır (Gambaro ve ark., 2020). Tüm bu bulgular ışığında mitokondriyal koruyucu ve anti-inflamatuvar etkiler, SPX'in

kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde hedef olabileceğine işaret etmektedir (Kumar ve ark., 2021).

Endokrin Sistem Homeostazisi

SPX insan pankreatik hücre hattında işlenip salınmaktadır (Mirabeau ve ark., 2007). Dolayısıyla normal SPX fonksiyonu pankreasın işleyişinin korunması açısından önemlidir (Sassek ve ark., 2018). İnsülin hormonu hem enerji metabolizmasında hem de merkezi sinir sisteminde iştah baskılama görevi ile önemli bir faktördür (Begg ve ark., 2013). Deneysel çalışmalarda SPX'in, insülin ile birlikte beta hücrelerinde lokalize olduğu tespit edilmiştir (Adeghate ve ark., 2022). Bu sebeple insülin ile SPX arasında karşılıklı etkileşim bulunduğu düşünülmektedir. SPX, glikoz seviyelerine bağlı olarak hem in vitro hem de in vivo koşullarda insülin sekresyonunu düzenler (Sassek ve ark., 2018).

Literatürde yer alan hayvan çalışmalarında SPX sekresyonunun glikoz seviyelerine duyarlı olduğu ve glikoza yanıt olarak insüline de bağımlı olduğu ifade edilmektedir. Kısa süreli glikoz maruziyeti ile SPX salınımının arttığı, fakat insülinin SPX salınımını baskıladığı raporlanmıştır. İlave olarak SPX ile insülin arasında iki yönlü negatif geri bildirim bulunmaktadır. Bu geri bildirim insülinin SPX sekresyonunu inhibe etmesi, SPX'in ise insülin sekresyonunu baskılaması yönündedir. Fakat SPX insülinin gen ekspresyonunu etkilemez sadece insülin sekresyonunu etkilemektedir (Sassek ve ark., 2019). Sıçanlarda SPX'in pankreas ve duodenum homeobox1 (Pdx1) genini etkileyerek beta hücre olgunlaşmasını ve insülin gen ekspresyonunu düzenlediği bildirilmiştir. SPX, Pdx1 gen ekspresyonunu azaltsa da yüksek glikoz konsantrasyonlarında insülin salgılayan hücrelerin canlılığını artırır ve proliferatif bir etki yaratır (Sassek ve ark., 2018). Sonuçta SPX, insülin ve glikoz arasında yakın bir etkileşim bulunmaktadır. Glikoz ve insülin SPX ekspresyonunu düzenler, SPX ise insülin sekresyonunu modüle eder. Dolayısıyla bu iki yönlü etkileşim nedeniyle SPX'in endokrin düzenleyici rolü gözler önüne serilmektedir (Sun ve ark., 2023).

Üreme Fonksiyonları

Hipotalamus hipofiz gonad aksı, canlılarda üremenin düzenlenmesinde önemli yere sahiptir. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve Gonadotropin inhibe edici hormon (GnIH), tüm omurgalılarda gonadotropik

aksı aktive eden temel düzenleyicilerdir. Özellikle hipofiz ön lobundaki gonadotropik hücrelerin uyarılmasıyla luteinleştirici hormon (LH) ve folikül stimüle edici hormon (FSH) sentez ve salınımını sağlayarak, ergenlik başlangıcı, folikül gelişimi ve gamet olgunlaşmasını düzenler (Marques ve ark., 2024). SPX'in de hipotalamusta GnRH salınımını baskılayarak, negatif bir düzenleyici rolüyle üreme fonksiyonlarına etki edebileceği düşünülmektedir. Ek olarak SPX nöron ve reseptörlerinin GALR2a ve GALR2b'nin, çeşitli balık türlerinde, preoptik bölgede bulunduğu belirlenmiştir. Bu bulgu da SPX'in üreme aksında rollere sahip olabileceğini düşündürmektedir (Lim ve ark., 2020; Cohen ve ark., 2020).

Üreme mevsimi dışında reprodüktif hareketlilik için uzun fotoperiyoda maruz bırakılan kazlarda yapılan çalışmanın bulgularına göre, uzun süreli ışık maruziyeti hipotalamusta SPX ekspresyonunu azaltarak, GnRH ekspresyonunu artırmıştır. Böylece SPX ve GnRH arasındaki ilişki de doğrulanmıştır (Liu ve ark., 2020). Balıklarda gerçekleştirilen bir çalışmada SPX ile GnRH/GnIH nöronları arasında etkileşim olduğu kaydedilmiştir (Paullada-Salmerón ve ark., 2023).

SPX'in üreme fonksiyonu hakkında yapılan ilk çalışmanın bulgularına göre, altın balığı hipofiz hücrelerinden LH salınımının hem kültür ortamında (in vitro) hem de canlılarda (in vivo) baskılandığı belirlenmiştir. Goldfish üzerindeki bir çalışmanın bulgularında, intraperitoneal SPX-14a enjeksiyonunun serum LH düzeylerini düşürdüğü, hipofizden de LH salınımını belirgin biçimde azalttığı kaydedilmiştir (Liu ve ark., 2013). Ayrıca Nil tilapiasında yapılan bir başka çalışmada SPX enjeksiyonlarının LH ve FSH salınımını azalttığı bildirilmektedir (Cohen ve ark., 2020). Dolayısıyla SPX gonadotropin salınımı üzerinde baskılayıcı bir inhibitör olarak etki göstermektedir (Mohd Zahir ve ark., 2022).

SPX reseptörleri preoptik bölgede bulunduğu için, SPX'in üremeyle ilgili nöronları doğrudan etkileyebileceği düşünülmektedir. Balıklar üzerinde yapılan çalışmada beyindeki SPX ekspresyonunun, üreme mevsiminde düşük, gelişim ve ergenlik dönemlerinde ise yüksek olduğu ifade edilmektedir (Liu ve ark., 2013; Li ve ark., 2016). Bu bulgu ışığında üreme döneminde SPX'in baskılanarak gonadal hormonların aktifliği neticesinde üreme fonksiyonlarının kolaylaştığı düşünülmektedir. Nitekim östradiol tedavisinin SPX ekspresyonunu azalttığı da belirlenmiştir (Liu ve ark., 2013; Deng ve ark.,

2018). Ovariektomi yapılan dişi goldfishlerin hipotalamuslarında SPX seviyelerinde ciddi bir artış belirlenmiştir. Bu balıklara daha sonra östradiol enjeksiyonu yapıldığında ise SPX seviyelerinin düştüğü gözlenirse de ameliyat öncesi seviyelerine tam olarak ulaşamamıştır (Liu ve ark., 2013). Üreme bozukluğu olan polikistik over sendromu hastalarında da dolaşımdaki SPX düzeylerinin, düzenli menstrual döngüye sahip kadınlara nazaran daha düşük olduğu kaydedilmiştir (Guler ve ark., 2021).

Bu bulgular, SPX'in hipotalamus-hipofiz-gonad aksında negatif düzenleyici bir rol oynadığını ve gonadotropin (LH ve FSH) salınımını baskılayarak üreme fonksiyonlarını modüle ettiğini göstermektedir (Liu ve ark., 2013; Cohen ve ark., 2020; Mohd Zahir ve ark., 2022). Ayrıca, SPX ekspresyonunun üreme mevsimi, östradiol seviyesi ve gonadal hormon aktivitesi ile değişmesi, SPX'in üreme dönemi ve hormon regülasyonunda önemli bir inhibitör olarak işlev gördüğünü desteklemektedir (Liu ve ark., 2013; Li ve ark., 2016; Deng ve ark., 2018).

Gastrointestinal Fonksiyonlar

SPX mRNA'sının mide fundusunda ve fare özofagusunun submukozal tabakasında lokalize olduğu bilinmektedir. Sıçan mide eksplantlarında yapılan deneylerde, SPX'in mide kas tabasında kasılmalara neden olduğu ve gastrointestinal motilitenin düzenlenmesinde potansiyel bir rolü olabileceğini düşündürdüğü bildirilmiştir (Mirabeau ve ark., 2007). İntraperitoneal SPX uygulaması yapılan farelerde, intestinal geçiş hızının arttığı bildirilmiş olup ek olarak in vitro çalışmalarda da SPX'in bağırsak ve kolon dokusunda kasılmaları uyardığı gösterilmiştir. Özellikle bu etkilerin GALR2 reseptörleri vasıtasıyla ve L-tipi voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aktivasyonu ile gerçekleşmektedir (Lin ve ark., 2015). Bu bulgular ışığında SPX'in bağırsak motilitesi üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Tarwani ve ark., 2025).

Davranış

Depresyon: SPX'in galanin reseptörlerine bağlı olarak etkilerini gerçekleştirdiği göz önüne alındığında ayrıca galanin ve reseptörlerinin depresyon ve anksiyete üzerindeki etkin rolleri olduğu düşünüldüğünde, SPX'in depresyon üzerindeki potansiyel rolü dikkat çekicidir. Nitekim sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada serotonin geri alım inhibitörü olan essitalopram ile tedavi neticesinde, SPX gen ekspresyonunun beyin bölgelerine göre farklılık

gösterdiği belirlenmiştir. Hipokampus ve striatumda artış gözlenmesinin yanı sıra hipotalamusta azalma saptanması, SPX hakkında duygu durumun nörobiyolojik düzenlenmesine katılabileceği düşüncesini doğurmuştur (Pałasz ve ark., 2016). Antenatal depresyon tanısı konulan annelerden alınan plasenta örneklerinde SPX gen ekspresyonunun anlamlı olarak azaldığı, antidepresan tedavisi uygulandığında ise bu seviyelerin normale döndüğü ifade edilmiştir (Olivier ve ark., 2015). Benzer şekilde kortikosteron peleti implante edilmiş depresyon modelinde, SPX temelli bir galanın reseptör 2 agonisti (SG2A)'nın merkezi ya da intranasal yolla verilmesi ile hem antidepresan etki oluşturulmuş hem de hayvanların vücut ağırlıklarını da normale döndürdüğü gözlenmiştir (Yun ve ark., 2019).

Kronik stres altında tutulan farelerde hipokampüste SPX mRNA düzeylerinin belirgin biçimde azaldığı, ek olarak kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF) mRNA ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. CRF, hipokampus içine doğrudan uygulandığında hipokampus dahil olmak üzere hipofiz ve hipotalamusta da SPX ekspresyonu baskılanmıştır (Zhuang ve ark., 2020). Dolayısıyla SPX'in stres yanıtı esnasında baskılandığı belirlenmiştir (Tarwani ve ark., 2025).

Serotonin (5-HT) lifleri ile SPX1a nöronlarında, serotonin reseptörlerinin (5-HT2B) birlikte eksprese edildiği keşfedilmiştir. Bu doğrultuda serotoninin, SPX1a'nın aktifleşmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Lim ve ark., 2023). Tüm bu bilgi ve bulgular göz önüne alındığında SPX ekspresyonunun antidepresan tedaviye yanıt olarak beyin bölgeleri arasında değişkenlik göstermesi ve SPX temelli tedavilerin hızlı antidepresan etki oluşturması, SPX'in depresyon tedavisinde umut verici bir hedef olduğuna işaret etmektedir (Tarwani ve ark., 2025).

Endişe: SPX kaygının düzenlenmesinde de işlev gösteren bir nöropeptittir (Zhuang ve ark., 2020). Merkezi sinir sisteminde yüksek düzeyde eksprese edilmesi sebebiyle SPX'in, bir nörotransmitter veya nöromodülatör olarak işlev görebileceğini ve kaygı ile ilişkili davranışların düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Özellikle balıklar (Jeong ve ark., 2019) ve memeliler (Reyes-Alcaraz ve ark., 2016; Zhuang ve ark., 2020) üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar bu düşüncelere temel oluşturmuştur (Tarwani ve ark., 2025). Balıklar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada SPX'in, rafe çekirdeklerinde 5-HT ilişkili genlerin aktivasyonunu teşvik ettiğine ve

serotonerjik sistem üzerinde etkili olabileceğine değinmektedir. Transgenik zebra balıklarında, dorsal habenulada SPX1 geninin aşırı ekspresyonunun sağlanmasıyla, yabani tip balıklara kıyasla anksiyolitik davranışlar gözlenmiştir (Jeong ve ark., 2019).

Sıçan amigdalasındaki SPX mRNA düzeylerinin kronik klorpromazin tedavisinden sonra arttığı belirlenmiştir. Amigdalanın kaygı düzenlenmesindeki merkezi rolü göz önüne alındığında bu bulgu SPX'in anksiyete düzenleyici etkilerde görev alabileceğini düşündürmektedir (Pałasz ve ark., 2018). Ek olarak SG2A'nın intrasebroventriküler veya intranazal uygulanmasının, dorsal rafe çekirdeklerinde 5-HT nöronlarının aktivasyonunu sağlayarak anksiyolitik benzeri etki gösterdiği başka bir çalışma ile de desteklenmiştir (Yun ve ark., 2019). SG2A uygulaması amigdala, prefrontal korteks ve dentat girusta nöronal aktiviteyi hızlandırarak kaygı ve korku gibi duyguları düzenleyen sinir devrelerinde etkili olmaktadır (Yun ve ark., 2019).

Stres: SPX beyinde Barrington çekirdeği, paraventriküler çekirdek ve lokus coeruleus bölgelerinde lokalize olmaktadır (Sonmez ve ark., 2009). Bu beyin bölgeleri stres yanıtlarının düzenlenmesinde ortak bir rol oynamaktadır (Sved ve ark., 2002). Nitekim SPX ekspresyonunun strese duyarlılık gösterdiği bilinmektedir. Nil tilapialarında kronik sosyal yenilgi stresi, plazma kortizol düzeylerini yükseltmekte ve kontrol grubuna kıyasla orta beyin, hipotalamus ve optik tektumda SPX1a ve SPX1b gen ekspresyonunu artırmaktadır (Lim ve ark., 2020a). Ek olarak farelerde kronik öngörülemez stres ve CRF uygulaması ile, hipokampus, hipofiz ve hipotalamusta SPX gen ekspresyonunu azaltmaktadır. Dolayısıyla artan CRF seviyeleri, azalan SPX ekspresyonu ve kaygı benzeri davranışların eşlik ettiği bir tablo oluşmaktadır (Zhuang ve ark., 2020). Anatomik çalışmalar, SPX1a nöronlarının semisirküler torustaki serotonerjik projeksiyonlarla yakın bir bağlantı içinde olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, serotonerjik sistemin kronik sosyal yenilgi durumunda SPX'i yukarıdan düzenleyen bir mekanizma gibi davrandığını ve stresle ilişkili fizyolojik süreçleri etkilediğini düşündürmektedir (Lim ve ark. 2023). Tüm bu veriler, SPX'in stres yanıtını düzenleyen beyin bölgelerinde yer aldığını, stres ve CRF maruziyeti ile birlikte ekspresyonunun değiştiğini ve serotonerjik sistemle etkileşim içinde stres ve kaygı tepkilerinin kontrolünde önemli bir rol üstlenebileceğini ortaya koymaktadır (Tarwani ve ark., 2025).

Öğrenme ve Hafıza: Farelerde uygulanan Pavlovyan korku koşullandırması modelinde SG2A uygulaması hem bağlamsal hem de işitsel korku hafızasının pekişmesini azaltır. Ayrıca edinilmiş korku hafızasının sönme sürecini hızlandırmıştır. Fakat tanıma hafızası ya da doğuştan gelen korku tepkilerini etkilememiştir (Yun ve ark., 2019). Sıçanlarda hipokampal CA3 bölgesine uygulanan SPX ile, kastrasyona tabi tutulan hayvanlarda hafızanın pekiştiği ve hatırlamanın ise arttığı gözlenmiştir. Bu etki sham-operasyonlu kontrol gruplarına kıyasla daha belirgin olarak göze çarpmıştır (Taherianfard ve Shahmoradi, 2018). Dolayısıyla elde edilen bilgiler ışığında, SG2A ve SPX'in korku hafızasının pekişmesi ve sönmesi üzerinde etkili olduğu fakat tanıma hafızası ya da doğuştan gelen korku tepkileri üzerinde etkili olmadığı kanısına varılmaktadır (Tarwani ve ark., 2025).

Ağrı: SPX benzeri immünoreaktivitenin, nosiseptif iletimle yakından ilişkili yapılar (Moazen ve ark., 2018), olduğu bilinen beyin sapı ve trigeminal gangliyonlar da dahil olmak üzere çeşitli beyin bölgelerinde bulunduğu bilinmektedir (Porzionato ve ark., 2010). Sıçanlar üzerinde gerçekleştirilen deneylerde, hipokampal CA3 bölgesine SPX enjeksiyonu ile deri altı progesteron uygulaması yapıldığında ve bu deney formalin testi ile değerlendirildiğinde ağrı duyarlılığında belirgin bir azalma kaydedilmiştir (Moazen ve ark., 2018). Dişi sıçanlarda hipokampal CA1 bölgesine SPX uygulandığında ve yine formalin testi uygulandığında tonik ağrıya karşı anlamlı bir analjezik etki gözlenmiştir (Pałasz et al. 2016).

Lateral beyin ventrikülüne enjekte edilen SPX, serebral gri madde bölgesinde GALR3 ve adenil siklaz 4 (Adcy4) gen ekspresyonunu artırmış; ayrıca Fos proteini aracılığıyla kappa opioid reseptörü ve dinorfinin mRNA ve protein düzeylerini yükselterek tonik inflamatuvar ağrıya karşı inhibitör bir etki oluşturmuştur. Visceral ağrı modelinde SPX'in ağrı azaltıcı etkisi, GALR2 ve Adcy1 genlerinin ekspresyonunun artmasıyla başlamış ve bunun sonucunda POMC ile opioid reseptör Mu 1'in mRNA düzeyleri yükselmiştir (Lv ve ark., 2019b). SPX'in ventrikül içine uygulanmasının sıcak suda kuyruk çekme testinde de anlamlı bir antinoseptif etki oluşturduğu bildirilmiştir (Toll ve ark., 2012). Yapılan çalışmaların bulguları, özellikle hipokampal bölgelere uygulanan SPX'in ağrı duyarlılığını azalttığını ve çeşitli gen ve proteinlerin aktivasyonu aracılığıyla analjezik etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Tarwani ve ark., 2025).

KAYNAKÇA

- Adeghate, E., D'Souza, C., Ali, I. I., Saeed, Z., Alharthi, S. H., Alhadhrami, Z. K., ... & Tariq, S. (2022). Spexin Co-localizes with Insulin in Pancreatic Islet Cells of Normal and Diabetic Rats. *The FASEB Journal*, 36.
- Akbas, M., Koyuncu, F. M., Mete, T. O., Taneli, F., Ozdemir, H., & Yilmaz, O. (2019). Serum levels of spexin are increased in the third trimester pregnancy with gestational diabetes mellitus. *Gynecological Endocrinology*.
- Al-Daghri, N. M., Al-Hazmi, H. A., Al-Ajlan, A., Masoud, M. S., Al-Amro, A., Al-Ghamdi, A., ... Alokail, M. S. (2018). Associations of spexin and cardiometabolic parameters among women with and without gestational diabetes mellitus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 710–714.
- Al-Daghri, N. M., Sabico, S., Al-Hazmi, H., Alenad, A. M., Al-Amro, A., Al-Ghamdi, A., ... Alokail, M. S. (2019b). Circulating spexin levels are influenced by the presence or absence of gestational diabetes. *Cytokine*, 113, 291–295.
- Al-Daghri, N. M., Wani, K., Yakout, S. M., Al-Hazmi, H., Amer, O. E., Hussain, S. D., ... Clerici, M. (2019a). Favorable changes in fasting glucose in a 6-month self-monitored lifestyle modification programme inversely affects spexin levels in females with prediabetes. *Scientific Reports*, 9(1), 9454.
- Bacopoulou, F., Apostolaki, D., Mantzou, A., Doulgeraki, A., Pałasz, A., Tsimaris, P., ... Efthymiou, V. (2019). Serum spexin is correlated with lipoprotein (a) and androgens in female adolescents. *Journal of Clinical Medicine*, 8(12), 2103.
- Begg, D. P., Mul, J. D., Liu, M., Reedy, B. M., D'Alessio, D. A., Seeley, R. J., & Woods, S. C. (2013). Reversal of diet-induced obesity increases insulin transport into cerebrospinal fluid and restores sensitivity to the anorexic action of central insulin in male rats. *Endocrinology*, 154(3), 1047-1054.
- Behrooz, M., Vaghef-Mehrabany, E., & Ostadrahimi, A. (2020). Different spexin level in obese vs normal weight children and its relationship with obesity related risk factors. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 30(4), 674–682.

- Behrooz, M., Vaghef-Mehrabany, E., Moludi, J., & Ostadrahimi, A. (2021). Are spexin levels associated with metabolic syndrome, dietary intakes and body composition in children?. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 172, 108634.
- Bitarafan, V., Esteghamati, A., Azam, K., Yosae, S., & Djafarian, K. (2019). Comparing serum concentration of spexin among patients with metabolic syndrome, healthy overweight/obese, and normal-weight individuals. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 33, 93.
- Ceylan, H. İ., Saygın, Ö., & Özel Türkçü, Ü. (2020). Assessment of acute aerobic exercise in the morning versus evening on asprosin, spexin, lipocalin-2, and insulin level in overweight/obese versus normal weight adult men. *Chronobiology International*, 37(8), 1252–1268.
- Chen, T., Wang, F., Chu, Z., Sun, L., Lv, H., Zhou, W., ... Hou, M. (2019). Circulating spexin decreased and negatively correlated with systemic insulin sensitivity and pancreatic β cell function in obese children. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 74(2), 125–131.
- Cohen, Y., Hausken, K., Bonfil, Y., Gutnick, M., & Levavi-Sivan, B. (2020). Spexin and a novel cichlid-specific spexin paralog both inhibit FSH and LH through a specific galanin receptor (Galr2b) in tilapia. *Frontiers in endocrinology*, 11, 71.
- Deng, S. P., Chen, H. P., Zhai, Y., Jia, L. Y., Liu, J. Y., Wang, M., ... Li, G. L. (2018). Molecular cloning, characterization and expression analysis of spexin in spotted scat (*Scatophagus argus*). *General and Comparative Endocrinology*, 266, 60–66.
- El-Saka, M. H., Abo El Gheit, R. E., El Saadany, A., Alghazaly, G. M., Marea, K. E., & Madi, N. M. (2023). Effect of spexin on renal dysfunction in experimentally obese rats: potential mitigating mechanisms via galanin receptor-2. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 129(4), 933-942.
- Fang, P., Ge, R., She, Y., Zhao, J., Yan, J., Yu, X., ... Zhang, Z. (2022a). Adipose tissue spexin in physical exercise and age-associated diseases. *Ageing Research Reviews*, 73, 101509.
- Fang, P., Guo, W., Ju, M., Huang, Y., Zeng, H., Wang, Y., ... Zhang, Z. (2022b). Exercise training rescues adipose tissue spexin expression and secretion in diet-induced obese mice. *Physiology & Behavior*, 256, 113958.

- Fang, P., He, B., Yu, M., Shi, M., Zhu, Y., Zhang, Z., & Bo, P. (2018a). Central galanin receptor 2 mediates galanin action to promote systemic glucose metabolism of type 2 diabetic rats. *Biochemical Pharmacology*, 156, 241–247.
- Fang, P., Yu, M., Shi, M., Bo, P., & Zhang, Z. (2020). Galanin peptide family regulation of glucose metabolism. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 56, 100801.
- Fang, P., Zhang, L., Yu, M., Sheng, Z., Shi, M., Zhu, Y., ... Bo, P. (2018b). Activated galanin receptor 2 attenuates insulin resistance in skeletal muscle of obese mice. *Peptides*, 99, 92–98.
- Farooqi, I. S., Matarese, G., Lord, G. M., Keogh, J. M., Lawrence, E., Agwu, C., ... O’Rahilly, S. (2002). Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(8), 1093–1103.
- Gambaro, S. E., Zubiría, M. G., Giordano, A. P., Portales, A. E., Alzamendi, A., Rumbo, M., & Giovambattista, A. (2020). Spexin improves adipose tissue inflammation and macrophage recruitment in obese mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1865(7), 158700.
- Ge, F., Walewski, J. L., & Berk, P. D. (2015, October). Regulation of hepatocellular fatty acid uptake in mouse models of fatty liver disease with and without functional leptin signalling: Roles of NF-κB and Srebp-1c. In *Hepatology*, 62, 686A–687A. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Gu, L., Ding, X., Wang, Y., Gu, M., Zhang, J., Yan, S., ... & Peng, Y. (2019). Spexin alleviates insulin resistance and inhibits hepatic gluconeogenesis via the FoxO1/PGC-1α pathway in high-fat-diet-induced rats and insulin resistant cells. *International journal of biological sciences*, 15(13), 2815.
- Gu, L., Ma, Y., Gu, M., Zhang, Y., Yan, S., Li, N., ... Peng, Y. (2015). Spexin peptide is expressed in human endocrine and epithelial tissues and reduced after glucose load in type 2 diabetes. *Peptides*, 71, 232–239.
- Guler, A., & Demir, İ. (2021). Decreased levels of spexin are associated with hormonal and metabolic disturbance in subjects with polycystic ovary syndrome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 41(3), 408–413.

- Guo, L., He, B., Fang, P., Bo, P., & Zhang, Z. (2021). Activation of central galanin receptor 2 mitigated insulin resistance in adipocytes of diabetic rats. *Journal of Endocrinological Investigation*, 44(3), 515–522.
- Hodges, S. K., Teague, A. M., Dasari, P. S., & Short, K. R. (2018). Effect of obesity and type 2 diabetes, and glucose ingestion on circulating spexin concentration in adolescents. *Pediatric Diabetes*, 19(2), 212–216.
- Ingelsson, E., Sullivan, L. M., Fox, C. S., Murabito, J. M., Benjamin, E. J., Polak, J. F., ... & Vasan, R. S. (2007). Burden and prognostic importance of subclinical cardiovascular disease in overweight and obese individuals. *Circulation*, 116(4), 375–384.
- Jasmine, F. G., Walewski, J. L., Anglade, D., & Berk, P. D. (2016). Regulation of hepatocellular fatty acid uptake in mouse models of fatty liver disease with and without functional leptin signaling: roles of NfKB and SREBP-1C and the effects of spexin. In *Seminars in liver disease* (Vol. 36, No. 04, pp. 360–372). Thieme Medical Publishers.
- Jeong, B., Kim, K. K., Lee, T. H., Kim, H. R., Park, B. S., Park, J. W., ... & Lee, B. J. (2022). Spexin regulates hypothalamic leptin action on feeding behavior. *Biomolecules*, 12(2), 236.
- Jeong, I., Kim, E., Seong, J. Y., & Park, H. C. (2019). Overexpression of spexin 1 in the dorsal habenula reduces anxiety in zebrafish. *Frontiers in Neural Circuits*, 13, 53.
- Karaca, A., Bakar, F., & Ersoz, G. N. (2018, May). Decreased spexin levels in patients with type 1 diabetes. In *Endocrine Abstracts* (Vol. 56). Bioscientifica.
- Karaca, A., Bakar-Ates, F., & Ersoz-Gulcelik, N. (2019). Decreased spexin levels in patients with type 1 and type 2 diabetes. *Medical Principles and Practice*, 27(6), 549–554.
- Khadir, A., Kavalakatt, S., Madhu, D., Devarajan, S., Abubaker, J., Al-Mulla, F., & Tiss, A. (2020). Spexin as an indicator of beneficial effects of exercise in human obesity and diabetes. *Scientific Reports*, 10(1), 10635.
- Kim, D. K., Yun, S., Son, G. H., Hwang, J. I., Park, C. R., Kim, J. I., ... Seong, J. Y. (2014). Coevolution of the spexin/galanin/kisspeptin family: Spexin activates galanin receptor type II and III. *Endocrinology*, 155(5), 1864–1873.

- Kolakowski Jr, L. F., O'Neill, G. P., Howard, A. D., Broussard, S. R., Sullivan, K. A., Feighner, S. D., ... O'Dowd, B. F. (1998). Molecular characterization and expression of cloned human galanin receptors GALR2 and GALR3. *Journal of Neurochemistry*, 71(6), 2239–2251.
- Kołodziejski, P. A., Pruszyńska-Oszmałek, E., Korek, E., Sassek, M., Szczepankiewicz, D., Kaczmarek, P., ... Strowski, M. Z. (2018a). Serum levels of spexin and kisspeptin negatively correlate with obesity and insulin resistance in women. *Physiological Research*, 67(1), 45–56.
- Kołodziejski, P. A., Pruszyńska-Oszmałek, E., Micker, M., Skrzypski, M., Wojciechowicz, T., Szwarckopf, P., ... & Strowski, M. Z. (2018b). Spexin: A novel regulator of adipogenesis and fat tissue metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(10), 1228–1236.
- Kumar, S., Hossain, J., Nader, N., Aguirre, R., Sriram, S., & Balagopal, P. B. (2016). Decreased circulating levels of spexin in obese children. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(7), 2931–2936.
- Kumar, S., Hossain, M. J., Inge, T., & Balagopal, P. B. (2018b). Roux-en-Y gastric bypass surgery in youth with severe obesity: 1-year longitudinal changes in spexin. *Surgery for Obesity and Related Diseases*, 14(10), 1537–1543.
- Kumar, S., Hossain, M. J., Javed, A., Kullo, I. J., & Balagopal, P. B. (2018a). Relationship of circulating spexin with markers of cardiovascular disease: A pilot study in adolescents with obesity. *Pediatric Obesity*, 13(6), 374–380.
- Kumar, S., Mankowski, R. T., Anton, S. D., & Babu Balagopal, P. (2021). Novel insights on the role of spexin as a biomarker of obesity and related cardiometabolic disease. *International Journal of Obesity*, 45(10), 2169–2178.
- Li, S., Liu, Q., Xiao, L., Chen, H., Li, G., Zhang, Y., & Lin, H. (2016). Molecular cloning and functional characterization of spexin in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 196, 85–91.
- Lim, C. H., Lee, M. Y. M., Soga, T., & Parhar, I. (2019). Evolution of structural and functional diversity of spexin in mammalian and non-mammalian vertebrate species. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 379.

- Lim, C. H., Soga, T., & Parhar, I. S. (2023). Social stress-induced serotonin dysfunction activates spexin in male Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(3), e2117547120.
- Lim, C. H., Soga, T., Levavi-Sivan, B., & Parhar, I. S. (2020). Chronic social defeat stress up-regulates spexin in the brain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Scientific reports*, 10(1), 7666.
- Lin, C. Y., Huang, T., Zhao, L., Zhong, L. L., Lam, W. C., Fan, B. M., & Bian, Z. X. (2018b). Circulating spexin levels negatively correlate with age, BMI, fasting glucose, and triglycerides in healthy adult women. *Journal of the Endocrine Society*, 2(5), 409-419.
- Lin, C. Y., Zhang, M., Huang, T., Yang, L. L., Fu, H. B., Zhao, L., ... Bian, Z. X. (2015). Spexin enhances bowel movement through activating L-type voltage-dependent calcium channel via galanin receptor 2 in mice. *Scientific Reports*, 5(1), 12095.
- Lin, C. Y., Zhao, L., Huang, T., Lu, L., Khan, M., Liu, J., ... & Bian, Z. X. (2018a). Spexin acts as novel regulator for bile acid synthesis. *Frontiers in physiology*, 9, 378.
- Liu, R. (2020). 248-LB: Spexin promotes insulin secretion and β -cell proliferation. *Diabetes*, 69(Supplement_1), 248-LB.
- Liu, Y., Li, S., Qi, X., Zhou, W., Liu, X., Lin, H., ... & Cheng, C. H. (2013). A novel neuropeptide in suppressing luteinizing hormone release in goldfish, *Carassius auratus*. *Molecular and cellular endocrinology*, 374(1-2), 65-72.
- Liu, Y., Sun, L., Zheng, L., Su, M., Liu, H., Wei, Y., ... & Li, Y. (2020). Spexin protects cardiomyocytes from hypoxia-induced metabolic and mitochondrial dysfunction. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 393(1), 25-33.
- Lv, S. Y., Cui, B., Yang, Y., Du, H., Zhang, X., Zhou, Y., ... Wang, Y. D. (2019b). Spexin/NPQ induces FBJ osteosarcoma oncogene (Fos) and produces antinociceptive effect against inflammatory pain in the mouse model. *The American Journal of Pathology*, 189(4), 886–899.
- Lv, S. Y., Zhou, Y. C., Zhang, X. M., Chen, W. D., & Wang, Y. D. (2019a). Emerging roles of NPQ/spexin in physiology and pathology. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 457.

- Lv, S., Zhou, Y., Feng, Y., Zhang, X., Wang, X., Yang, Y., & Wang, X. (2020). Peripheral spexin inhibited food intake in mice. *International Journal of Endocrinology*, 2020(1), 4913785.
- Ma, A., Bai, J., He, M., & Wong, A. O. (2018). Spexin as a neuroendocrine signal with emerging functions. *General and Comparative Endocrinology*, 265, 90–96.
- Ma, A., He, M., Bai, J., Wong, M. K., Ko, W. K., & Wong, A. O. (2017). Dual role of insulin in spexin regulation: functional link between food intake and spexin expression in a fish model. *Endocrinology*, 158(3), 560-577.
- Major, R. W., Cheng, M. R., Grant, R. A., Shantikumar, S., Xu, G., Oozeerally, I., ... & Gray, L. J. (2018). Cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 13(3), e0192895.
- Manson, J. E., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., Willett, W. C., Rosner, B., Monson, R. R., ... & Hennekens, C. H. (1990). A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *New England journal of medicine*, 322(13), 882-889.
- Marques, P., Lages, A. D. S., Skorupskaite, K., Rozario, K. S., Anderson, R. A., & George, J. T. (2024). Physiology of GnRH and gonadotrophin secretion. *Endotext [internet]*.
- Mills, E. G., Izzi-Engbeaya, C., Abbara, A., Comninou, A. N., & Dhillon, W. S. (2021). Functions of galanin, spexin and kisspeptin in metabolism, mood and behaviour. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(2), 97–113.
- Mirabeau, O., Perlas, E., Severini, C., Audero, E., Gascuel, O., Possenti, R., ... Gross, C. (2007). Identification of novel peptide hormones in the human proteome by hidden Markov model screening. *Genome Research*, 17(3), 320–327.
- Moazen, P., Taherianfard, M., Ahmadi Soleimani, M., & Norozpor, M. (2018). Synergistic effect of spexin and progesterone on pain sensitivity attenuation in ovariectomized rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 45(4), 349–354.
- Mohd Zahir, I., Ogawa, S., Dominic, N. A., Soga, T., & Parhar, I. S. (2022). Spexin and galanin in metabolic functions and social behaviors with a focus on non-mammalian vertebrates. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 882772.

- Namsolleck, P., Kofler, B., & Moll, G. N. (2023). Galanin 2 receptor: A novel target for a subset of pancreatic ductal adenocarcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(12), 10193.
- Olivier, J. D., Åkerud, H., Skalkidou, A., Kaihola, H., & Sundström-Poromaa, I. (2015). The effects of antenatal depression and antidepressant treatment on placental gene expression. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8, 465.
- Pałasz, A., Pałka, M., Filipczyk, Ł., Menezes, I. C., Rojczyk, E., Worthington, J. J., ... Wiaderkiewicz, R. (2018). Effect of long-term treatment with classical neuroleptics on NPQ/spexin, kisspeptin and POMC mRNA expression in the male rat amygdala. *Journal of Neural Transmission*, 125(7), 1099–1105.
- Pałasz, A., Suszka-Świtek, A., Filipczyk, Ł., Bogus, K., Rojczyk, E., Worthington, J., ... Wiaderkiewicz, R. (2016). Escitalopram affects spexin expression in the rat hypothalamus, hippocampus and striatum. *Pharmacological Reports*, 68(6), 1326–1331.
- Paullada-Salmerón, J. A., Wang, B., & Muñoz-Cueto, J. A. (2023). Spexin in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*: Characterization, brain distribution, and interaction with GnRH and GnIH neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 531(2), 314–335.
- Porzionato, A., Rucinski, M., Macchi, V., Stecco, C., Malendowicz, L. K., & De Caro, R. (2010). Spexin expression in normal rat tissues. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 58(9), 825–837.
- Reyes-Alcaraz, A., Lee, Y. N., Son, G. H., Kim, N. H., Kim, D. K., Yun, S., ... Seong, J. Y. (2016). Development of spexin-based human galanin receptor type II-specific agonists with increased stability in serum and anxiolytic effect in mice. *Scientific Reports*, 6(1), 21453.
- Rizk, F. H., Barhoma, R. A., El-Saka, M. H., Ibrahim, H. A., El-Gohary, R. M., Ismail, R., ... & Hegab, I. I. (2024). Exercise training and Spexin ameliorate thyroid changes in obese type 2 diabetic rats: the possible interlaying mechanisms. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 327(3), E313–E327.
- Roh, E., Song, D. K., & Kim, M. S. (2016). Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Experimental & Molecular Medicine*, 48(3), e216.

- Said, M. A., Nafeh, N. Y., & Abdallah, H. A. (2023). Spexin alleviates hypertension, hyperuricaemia, dyslipidemia and insulin resistance in high fructose diet induced metabolic syndrome in rats via enhancing PPAR- γ and AMPK and inhibiting IL-6 and TNF- α . *Archives of physiology and biochemistry*, 129(5), 1111-1116.
- Sarnak, M. J., Amann, K., Bangalore, S., Cavalcante, J. L., Charytan, D. M., Craig, J. C., ... & Conference Participants. (2019). Chronic kidney disease and coronary artery disease: JACC state-of-the-art review. *Journal of the American College of Cardiology*, 74(14), 1823-1838.
- Sassek, M., Kołodziejski, P. A., Strowski, M. Z., Nogowski, L., Nowak, K. W., & Mackowiak, P. (2018). Spexin modulates functions of rat endocrine pancreatic cells. *Pancreas*, 47(7), 904–909.
- Sassek, M., Kołodziejski, P. A., Szczepankiewicz, D., & Pruszyńska-Oszmałek, E. (2019). Spexin in the physiology of pancreatic islets—mutual interactions with insulin. *Endocrine*, 63(3), 513-519.
- Sonmez, K., Zaveri, N. T., Kerman, I. A., Burke, S., Neal, C. R., Xie, X., ... & Toll, L. (2009). Evolutionary sequence modeling for discovery of peptide hormones. *PLoS computational biology*, 5(1), e1000258.
- Sun, X., Yu, Z., Xu, Y., Pu, S., & Gao, X. (2023). The role of spexin in energy metabolism. *Peptides*, 164, 170991.
- Sved, A. F., Cano, G., Passerin, A. M., & Rabin, B. S. (2002). The locus coeruleus, Barrington's nucleus, and neural circuits of stress. *Physiology & behavior*, 77(4-5), 737-742.
- Taherianfard, M., & Shahmoradi, D. (2018). Effect of intrahippocampal CA3 injection of spexin on passive avoidance learning and memory in normal and castrated rats. *Archives of Neuroscience*, 5(2).
- Tarwani, R. S., Shirasath, K. R., Awathale, S. N., Goyal, S. N., & Nakhate, K. T. (2025). Spexin (Neuropeptide Q): Distribution, Functional Roles, and Emerging Therapeutic Perspectives. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 31(2), 22.
- Toll, L., Khroyan, T. V., Sonmez, K., Ozawa, A., Lindberg, I., McLaughlin, J. P., ... & Kapusta, D. R. (2012). Peptides derived from the prohormone proNPQ/spexin are potent central modulators of cardiovascular and renal function and nociception. *The FASEB journal*, 26(2), 947.

- Türkel, İ., Memi, G., & Yazgan, B. (2022). Impact of spexin on metabolic diseases and inflammation: An updated minireview. *Experimental Biology and Medicine*, 247(7), 567-573.
- Walewski, J. L., Ge, F., Lobdell IV, H., Levin, N., Schwartz, G. J., Vasselli, J. R., ... & Berk, P. D. (2014). Spexin is a novel human peptide that reduces adipocyte uptake of long chain fatty acids and causes weight loss in rodents with diet-induced obesity. *Obesity*, 22(7), 1643-1652.
- Wang, S., Wang, B., & Chen, S. (2018). Spexin in the half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*): molecular cloning, expression profiles, and physiological effects. *Fish physiology and biochemistry*, 44(3), 829-839.
- Wong, M. K., Chen, Y., He, M., Lin, C., Bian, Z., & Wong, A. O. (2021). Mouse spexin: (II) functional role as a satiety factor inhibiting food intake by regulatory actions within the hypothalamus. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 681647.
- Wong, M. K., Sze, K. H., Chen, T., Cho, C. K., Law, H. C., Chu, I. K., & Wong, A. O. (2013). Goldfish spexin: solution structure and novel function as a satiety factor in feeding control. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 305(3), E348–E366.
- Wu, H., Lin, F., Chen, H., Liu, J., Gao, Y., Zhang, X., ... Li, Z. (2016). Ya-fish (*Schizothorax prenanti*) spexin: Identification, tissue distribution and mRNA expression responses to periprandial and fasting. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(1), 39–49.
- Yavuzkir, S., Ugur, K., Deniz, R., Ustebay, D. U., Mirzaoglu, M., Yardim, M., ... Aydin, S. (2020). Maternal and umbilical cord blood subfatin and spexin levels in patients with gestational diabetes mellitus. *Peptides*, 126, 170277.
- Yazgan, B., Avcı, F., Memi, G., & Tastekin, E. (2021). Inflammatory response and matrix metalloproteinases in chronic kidney failure: Modulation by adropin and spexin. *Experimental Biology and Medicine*, 246(17), 1917-1927.
- Yousuf, O., Mohanty, B. D., Martin, S. S., Joshi, P. H., Blaha, M. J., Nasir, K., ... & Budoff, M. J. (2013). High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular disease: a resolute belief or an elusive link?. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(5), 397-408.

- Yu, M., Ju, M., Fang, P., & Zhang, Z. (2022). Emerging central and peripheral actions of spexin in feeding behavior, leptin resistance and obesity. *Biochemical Pharmacology*, 202, 115121.
- Yun, S., Reyes-Alcaraz, A., Lee, Y. N., Yong, H. J., Choi, J., Ham, B. J., ... Seong, J. Y. (2019). Spexin-based galanin receptor type 2 agonist for comorbid mood disorders and abnormal body weight. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 391.
- Zeng, B., Shen, Q., Wang, B., Tang, X., Jiang, J., Zheng, Y., ... & Lv, H. (2024). Spexin ameliorated obesity-related metabolic disorders through promoting white adipose browning mediated by JAK2-STAT3 pathway. *Nutrition & metabolism*, 21(1), 22.
- Zhang, Z., Sheng, S., Guo, L., Li, G., Zhang, L., Zhang, L., ... Zhu, Y. (2012). Intracerebroventricular administration of galanin antagonist sustains insulin resistance in adipocytes of type 2 diabetic trained rats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 361(1–2), 213–218.
- Zheng, B., Li, S., Liu, Y., Li, Y., Chen, H., Tang, H., ... & Cheng, C. H. (2017). Spexin suppress food intake in zebrafish: evidence from gene knockout study. *Scientific reports*, 7(1), 1-9.
- Zhuang, M., Lai, Q., Yang, C., Ma, Y., Fan, B., Bian, Z., ... Zeng, G. (2020). Spexin as an anxiety regulator in mouse hippocampus: Mechanisms for transcriptional regulation of spexin gene expression by corticotropin releasing factor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(2), 326–333.

BÖLÜM 6

VETERİNER CERRAHİDE İNDOSİYANİN YEŞİLİ YAKIN KIZILÖTESİ FLORESANSIN (ICG-NIRF) KULLANIMI

Dr. Ümit Koray CAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410055>

¹ Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ/TÜRKİYE,
Orcid ID: 0000-0002-3272-6311, e-mail: koraycan23@gmail.com

GİRİŞ

Veteriner cerrahi, modern görüntüleme teknolojilerinin entegrasyonu sayesinde son yıllarda büyük bir dönüşüm yaşamaktadır. Özellikle intraoperatif görüntüleme yöntemleri, cerrahların operasyon sırasında anlık karar verme yeteneğini artırmış ve cerrahi güvenliği yükseltmiştir (Smith, 2021). Bu bağlamda, İndosiyanin Yeşili (ICG) kullanılarak gerçekleştirilen Yakın Kızılötesi Floresans (NIRF) görüntüleme hem beşerî hem de veteriner tıpta hızla gelişen bir yöntem olmuştur.

ICG, 1950'lerde insan tıbbında anjiyografide kullanılmak üzere geliştirilmiş olup, güvenli kullanım geçmişi sayesinde veteriner tıba da adapte edilmiştir (Tanaka, 2022). Yakın kızılötesi spektrumunda floresans özellik göstermesi, düşük toksisiteye sahip olması ve damar içi uygulandığında hızlı dağılım göstermesi, ICG'yi intraoperatif görüntüleme için ideal bir ajan haline getirmiştir (Lopez, 2024).

ICG, yaklaşık 835 nm'de ışık yayan, 750–810 nm dalga boyundaki yakın kızılötesi ışık ile uyarıldığında floresan veren bir siyanin boyasıdır (Griffin, 2024). İntravenöz olarak uygulanan ICG, hepatositler tarafından seçici olarak tutulur ve metabolizmaya, enterohepatik dolaşıma veya renal atılıma uğramaksızın safra yoluyla atılır. Beşerî tıpta, yakın zamanda yapılan çalışmalar, ICG kullanılarak gerçekleştirilen NIRF görüntülemenin çeşitli uygulamaları olduğunu göstermiştir. Bunlar arasında hepatoselüler karsinomun intraoperatif tanımlanması ve tam rezeksiyonunun değerlendirilmesi (Kim, 2025; Wan, 2021; Oblak, 2024); meme, mide, akciğer ve özofagus kanserleri gibi çeşitli kanserlerde sentinel lenf düğümlerinin belirlenmesi (Sakurai, 2022; Sakurai, 2023; Larose, 2024); ve koroner arter hastalığında greft açıklığının değerlendirilmesi yer almaktadır (Verhaar, 2025).

Veteriner hekimlikte, ICG-NIRF özellikle küçük hayvan cerrahisinde üç ana amaca yönelik olarak öne çıkmaktadır.

- Tümör cerrahisi ve lenfatik haritalamada sentinel lenf nodunun (SLN) belirlenmesi
- Bağırsak anastomozları, deri flepleri ve organ rezeksiyonlarında perfüzyonun objektifleştirilmesi
- Hepatobiliyer ve üroendokrin cerrahide kritik yapıların tanımlanması ve iatrojenik yaralanma riskinin azaltılması (Sakurai, 2022; Nolff, 2023; Eiger, 2024; Kim, 2024; Yu, 2024; Kim, 2025; Fisher, 2025).

ICG-NIRF yöntemi, altı köpekte 12 hepatoselüler karsinom nodülünün tanımlanmasında (Mullen, 2024), şilotoraksı olan 15 köpekte torasik kanalın belirlenmesinde (Verhaar, 2024), altı av köpeğinde intraoral sentinel lenf düğümünün incelenmesinde (Chung, 2023), üç melez köpekte epitel cisimlerinin intraoperatif tanımlanmasında (Korpita, 2022), iki kedide kaudal auriküler fleplerde vasküler yapıların görselleştirilmesinde (Ubiali, 2025) ve sekiz köpekte normal oküler fundusun anjiyografik olarak incelenmesinde (Fransvea, 2024) kullanılmıştır. Bununla birlikte, bildirilen çalışmaların görece az sayıda olması ve küçük örneklem büyüklükleri nedeniyle ICG-NIRF görüntülemesinin bazı yönleri hâlen belirsizliğini korumaktadır.

Bu bölümde, ICG-NIRF'nin farmakolojik ve görüntüleme temelleri, veteriner cerrahideki klinik kullanım alanları, güncel kanıtlar, avantajlar ve sınırlılıklar ile gelecekteki potansiyeli ele alınmıştır.

1. ICG-NIRF'NİN FARMAKOLOJİK VE GÖRÜNTÜLEME TEMELLERİ

1.1. İndosiyenin Yeşili'nin (ICG) Kimyasal Özellikleri

ICG, moleküler formülü $C_{43}H_{47}N_2NaO_6S_2$ olan, suda çözünebilir, aniyonik, 775 Da molekül ağırlığına sahip, trikarboniyen boyar madde sınıfına giren bir floresan ajandır. Molekül yapısında iki uçta bulunan sülfonat grupları, su içinde çözünürlüğü artırırken, poliaromatik iskeleti yakın kızılötesi (NIR) ışığı absorbe edebilmesini sağlayıp 750–810 nm altında floresans yayar. Damar içine uygulandığında plazma proteinlerine %95'ten fazla oranda bağlanır ve bu özelliği sayesinde vasküler ve lenfatik sistemin görüntülenmesinde yüksek duyarlılık sağlar (Smith, 2021).

ICG, steril su veya serum fizyolojik içinde çözünebilir; ancak çözeltide ışığa, ısıya ve pH değişimlerine karşı oldukça hassastır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda kendi kendine agregat oluşturma eğilimi vardır; bu da floresan şiddetinde azalmaya neden olabilir. Bu nedenle klinik uygulamalarda hazırlanan çözeltilerin kısa sürede kullanılması önerilir (De Lorenzi, 2021).

ICG'nin kimyasal stabilitesi sınırlı olsa da düşük toksisiteye sahiptir. Çoğunlukla güvenli kabul edilir ve terapötik değil, diagnostik amaçlı kullanılır. Ancak iyot içeriği nedeniyle iyot hipersensitivitesi olan bireylerde dikkatle uygulanmalıdır (Wan, 2021).

- Dağılım: Uygulama sonrası dakikalar içinde tüm vücuda dağılır.

- Metabolizma: Karaciğer tarafından hızlı şekilde metabolize edilir.
- Atılım: Safra yoluyla eliminasyon gerçekleşir, böbreklerden atılım yok denecek kadar azdır.
- Yarı Ömrü: Ortalama eliminasyon yarı ömrü 3–5 dakikadır.

Bu farmakokinetik profil, ICG'yi intraoperatif kısa süreli görüntüleme için ideal hale getirmektedir (Tanaka, 2022).



Şekil 1: ICG (Anonim 1, 2022)

1.2. Görüntüleme Teknolojileri

ICG uygulamasından sonra floresan ışımayı algılayabilmek için özel yakın kızılötesi kameralar kullanılmaktadır. 2020 sonrası dönemde, teknolojik ilerlemeler sayesinde:

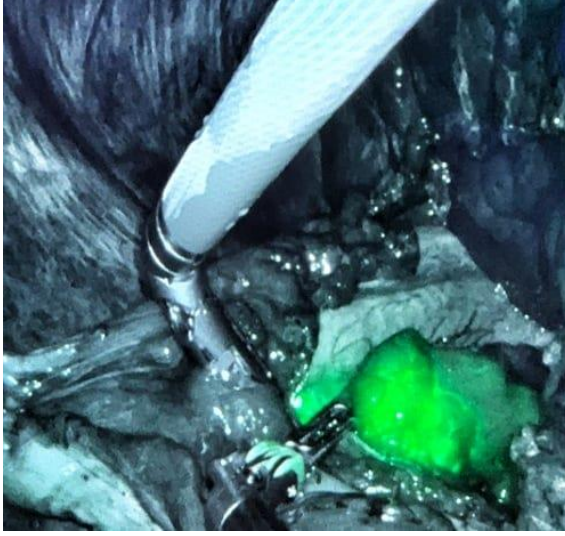
- Yüksek çözünürlüklü kameralar
- 3D görüntüleme sistemleri
- Robotik cerrahi platformlarıyla entegre cihazlar geliştirilmiştir.

Bu cihazlar sayesinde cerrah, gerçek zamanlı olarak hedef dokuların perfüzyonunu, tümör sınırlarını veya lenfatik akışı görebilmektedir (Nakamura, 2023).



Şekil 2: IC-Flow Görüntüleme Cihazı (Anonim 2, 2024)

- **İndosiyenin yeşili anjiyografi (ICG Angiography);** ICG'nin hızlı intravasküler dağılımı sayesinde retina ve koroid damarlarının görüntülenmesi sağlanır. Kullanım alanları, oftalmolojide koroid damar yapılarının değerlendirilmesi, makula dejenerasyonu, koroid neovaskülarizasyonu ve tümör vaskülaritesidir. Avantajı, floresan anjiyografiye göre daha derin doku penetrasyonu ve daha net damar görüntüsü sunar (Nakamura, 2023).
- **Intraoperatif floresan görüntüleme;** modern laparoskopik ve robotik cerrahi sistemlerinde (örn. da Vinci® cerrahi robotu) NIRF kamera modülleri entegre edilmiştir. Kullanım alanları, karaciğer rezeksiyonlarında tümör lokalizasyonu ve segmental anatomi tayini, safra yollarının tanımlanması (cholecystectomy sırasında safra kaçağını önleme) ve vasküler cerrahide kan akımının değerlendirilmesidir. Cerrah, beyaz ışık ve NIRF modları arasında gerçek zamanlı geçiş yaparak operasyon sırasında daha güvenli diseksiyon yapabilmektedir (Nakamura, 2023).



Şekil 3: Robotik cerrahi ile birlikte uygulanan ICG-NIRF görüntüleme (Fransvea, 2024)

2. VETERİNER CERRAHİDEKİ KLİNİK KULLANIM ALANLARI

2.1. Sentinel Lenf Nodu (SLN) Haritalama ve Lenfatik Yol İzleme

ICG-NIRF, köpek onkolojisinde SLN'nin gerçek zamanlı olarak belirlenmesinde en çok çalışılan uygulamalardan biridir. 2020'lerden itibaren farklı tümör tiplerinde (mast hücreli tümör, oral tümörler, meme tümörleri, anal kesenin apokrin bez adenokarsinomu [AGASACA]) ICG ile intraoperatif lenfografi; önceden yapılan bilgisayarlı tomografi lenfografi (CTL) ve/veya metilen mavisi (MB) ile kombine yaklaşımlarla değerlendirilmiştir. Örneğin AGASACA için Griffin ve ark. yayımladığı prospektif bir çalışmada preoperatif CTL + intraoperatif MB ve ICG birlikteliği SLN haritalamada etkili bulunmuş; çoklu modalite yaklaşımının cerrahi hedeflemeyi ve evrelemeyi iyileştirdiği bildirilmiştir (Griffin, 2024a).

Meme tümörleri için Kim ve ark. yayımladığı bir çalışmada, farklı ICG konsantrasyonlarını karşılaştırmış; 1,0 mg/mL ICG uygulamasının en yüksek lenf düğümü floresansı ve daha kısa operasyon süresi sağladığını, ayrıca yanlış-negatif oranının %0 olduğunu rapor etmiştir (n=18). Bu, köpek meme

tümörlerinde ICG-NIRF'nin SLN seçimini optimize ederek daha doğru evreleme ve daha hedefli biyopsi sağlayabileceğini düşündürmektedir (Kim, 2025).

Oral tümörlerde, Wan ve ark. tarafından 14 köpek üzerinde yapılan bir çalışmada CTL ile intraoperatif ICG+MB lenfografinin SLN saptamadaki uyumu incelenmiş; intraoperatif floresans (veya MB) gösteren düğümlerin SLN olarak kabul edildiği protokol tanımlanmıştır. Bu çalışma, kombine yöntemle yüksek oranda uyum sağlanabileceğini ve tek bir yöntemle bağımlı kalmamanın hatayı azalttığını göstermiştir (Wan, 2021).

2.2. Tümör Lokalizasyonu ve Cerrahi Sınır Değerlendirmesi

ICG-NIRF, primer tümörlerin yerini ve ilişkili lenf düğümlerini bulmada yardımcı olabilir; ancak rezeksiyon sınırı yeterliliğini değerlendirmede sonuçlar heterojendir. Oblak ve ark. tarafından yayımlanan bir klinik çalışmada, kötü huylu köpek akciğer tümörlerinde ICG floresansının tümör ve metastatik lenf düğümü lokalizasyonunda yararlı olabileceğini, fakat tam rezeksiyonu doğrulama açısından sınırlı olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, karaciğer kitlelerinde NIRF'nin kitle tanımlama ve sınır belirginleştirmede klinik fayda sağlayabildiğine dair veriler bulunmakla birlikte, standart histopatolojik sınır doğrulamasının yerini tek başına alamaz (Oblak, 2024).

2.3. Gastrointestinal Anastomozlarda ve Organ Viabilitesinde Perfüzyon

ICG-NIR floresans anjiyografi, anastomoz hattı perfüzyonunu ve organ viabilitesini (dokusunun canlı, kanlanması yeterli ve işlev görebilir durumda olması) gerçek zamanlı gösterebildiğinden karar destek aracı olarak öne çıkar. 2024'te GDV (mide dilatasyon-volvulus) olgularında yapılan vaka-kontrol çalışması, intraoperatif floresansla mide viabilitesinin değerlendirilmesinin mümkün olduğunu ve karar süreçlerini desteklediğini gösterdi; 2023 kongre özetleri de akut GDV cerrahisinde ICG-anjiyografinin perfüzyonu etkin biçimde değerlendirdiğini bildirdi. Bu bulgular, şüpheli segmentlerde rezeksiyon/konservasyon kararlarını daha objektif kılabilir (Mullen, 2024).

2.4. Rekonstrüktif Cerrahide Flep Dolaşımı

2024'te üç farklı aksiyal patern flebin vaskülarizasyonunu tanımlayan bir vaka serisi, ICG-NIR anjiyografinin flep perfüzyon haritasını çıkarmada ve

riskli alanları ortaya koymada yardımcı olduğunu bildirmiştir. Bu sayede flep tasarımının modifikasyonu, pedikül seçimi ve gerilim azaltma stratejileri daha güvenle planlanabilir (Larose, 2024).

2.5. Floresan Kolanjiyografi ve Safra Yolu Güvenirliği

Son yıllarda köpeklerde yakın kızılötesi floresan kolanjiyografi (NIR-FC), özellikle kolesistektomi sırasında safra yolu anatomisinin belirginleştirilmesi ve koledok açıklığının intraoperatif değerlendirilmesi amacıyla çalışılmıştır. 2023-2024'te normal beagle köpeklerinde yapılan doz-zamanlama çalışması, ICG'nin doz ve uygulama zamanlamasının görüntü kalitesini anlamlı etkilediğini göstermiş; ardından 2024'te 27 köpekte (17'si safra kesesi mukoseli) yapılan klinik çalışma, 0.25 mg/kg iv ICG'nin en az 45 dk önce uygulanmasıyla kolanjiyogram kalitesinin ve koledok açıklığının güvenilir biçimde değerlendirilebildiğini rapor etmiştir. Bu veri seti, veteriner cerrahide NIR-FC'nin standartlaştırılabilir bir protokolle güvenli uygulanabileceğini göstermektedir (Larose, 2024)

2.6. Karaciğer ve Pankreas Cerrahileri

Hepatik kitlelerde ICG, tümör-parankim kontrastını artırarak kitle lokalizasyonu ve yüzeysel sınır belirginleştirme sağlayabilir. Bununla birlikte, derin yerleşimli lezyonlarda penetrasyon sınırı nedeniyle duyarlılık azalır ve histopatolojik sınır doğrulaması şarttır. Sakurai ve ark. yapmış olduğu klinik çalışmada, kanin hepatik kitlelerde NIRF'nin klinik etki yaratabildiğine dair kanıt sunmuştur. Pankreas cerrahilerinde veteriner veri sınırlı olup, insan verileri dikkatle ekstrapole edilmelidir (Sakurai, 2022).

2.7. Torasik Cerrahi ve Lenfatik Sistem

İdiopatik şilotoraks tedavisinde torakoskopik torasik kanal (TK) ligasyonu ve ilişkili prosedürlerde TK'nın güvenilir tanımlanması esastır. 2022'de köpeklerde yapılan bir çalışmada, intraoperatif intrahepatik ICG enjeksiyonuyla NIRF altında torasik kanalın görselleştirilebildiğini göstermiştir. Bu, TK varyasyonlarının fark edilmesi ve güvenli ligasyon açısından önemlidir. 2023–2025 yılları arasında insan cerrahisi literatürü de (özellikle özofajektomi ve torasik prosedürler) inguinal lenf düğümü içine ICG enjeksiyonuyla intraoperatif TK lenfografisinin güvenli ve uygulanabilir

olduğunu ortaya koymuştur; veteriner cerrahiye uygulama potansiyeli yüksektir (Korpita, 2022).

Köpeklerde malign akciğer tümörlerinde ICG-NIRF, lezyon ve metastatik lenf düğümlerinin intraoperatif lokalizasyonuna yardımcı olabilir; ancak negatif cerrahi sınır doğrulamasında dikkat gerekir. Bu bulgular, torasik onkolojik cerrahide ICG-NIRF'nin "yardımcı" rolünü destekler niteliktedir (Sakurai, 2022).

2.8. Doz, Zamanlama ve Görüntüleme

- Uygulama yolu:
 - IV bolus: Perfüzyon, organ viabilitesi ve kolanjiyografi.
 - İntradermal/subkutan: SLN haritalama ve yüzeysel lenfatik görüntüleme (0.5-1.0 mg/ml) (Kim, 2024).
- Zamanlama:
 - Kolanjiyografide en az 45 dk önce 0.2-0.5 mg/kg IV uygulama, safra yolu kontrastını artırabilir.
 - SLN haritalamada intradermal/subkutan uygulamadan dakikalar sonra görüntüleme başlatılabilir; cerrahi saha manipülasyonu öncesi enjeksiyon lenfatik akışı daha iyi yakalayabilir (Kim, 2024).
- Görüntüleme:
 - Kamera kazanımı, uzaklık, ortam ışığı ve doyma artefaktları sinyal/arka plan oranını etkiler. Yoğun floresan gölgelenmesi altında sınır yanılması gelişebileceği için beyaz ışık ve palpasyonla korelasyon şarttır (Fransvea, 2024).

2.9. Güvenlik ve Yan Etkiler

ICG, veteriner ve insan cerrahisinde düşük toksisite profiline sahiptir; alerjik reaksiyonlar nadirdir (iyot hassasiyeti hariç). Köpeklerde intraoperatif uygulamalarda ciddi advers olay bildirimleri yok denecek kadar azdır; bununla birlikte doz-zamanlama protokollerinin standardizasyonu ve böbrek dışında hepatobilier atılımın klinik etkileri (örn. kolestaz) hasta bazında gözden geçirilmelidir (Bu bölüm, veteriner literatür ve insan cerrahisi derlemelerinin genel sentezine dayalıdır) (Fransvea, 2024).

SONUÇ

ICG-NIRF görüntüleme teknolojisi, veteriner cerrahi alanında son yıllarda hızla önem kazanan ve intraoperatif karar verme süreçlerini zenginleştiren bir yenilik olarak öne çıkmaktadır. Bu teknoloji, başta doku perfüzyonunun değerlendirilmesi, sentinel lenf nodu haritalanması, lenfatik dolaşımın izlenmesi, hepatobilier ve adrenal cerrahide kritik yapıların belirlenmesi ve intestinal anastomozların canlılık kontrolü gibi birçok uygulama alanında umut vaat eden sonuçlar ortaya koymuştur. Gerçek zamanlı geri bildirim sağlaması ve minimal invaziv özellik göstermesi sayesinde, cerrahın intraoperatif güvenliğini artırmakta ve komplikasyon oranlarını azaltma potansiyeli taşımaktadır.

ICG-NIRF uygulamalarının veteriner hekimlikte yaygınlaşmasının en önemli nedenlerinden biri, yüksek güvenlik profili ve düşük advers etki oranıdır. Klinik raporlar, doğru doz aralıklarında uygulandığında ICG'nin ciddi komplikasyonlara yol açmadığını, nadiren geçici alerjik reaksiyonlar görüldüğünü bildirmektedir. Ayrıca teknolojinin öğrenme eğrisinin kısa olması, yeni başlayan cerrahların da kısa sürede adapte olmasını sağlamaktadır. Bu yönüyle yöntem hem akademik eğitim programlarında hem de klinik pratikte yaygın kullanıma elverişlidir.

Sonuç olarak, ICG-NIRF teknolojisi veteriner cerrahlar için güvenilir, kolay uygulanabilir ve etkili bir intraoperatif görüntüleme yöntemi olarak dikkat çekmektedir. Ancak bu teknolojinin en uygun klinik endikasyonlarını tanımlamak, dozaj ve uygulama farklılıklarını netleştirmek ve uzun dönem klinik faydayı gösterebilmek için yüksek kanıt düzeyine sahip prospektif, randomize ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar hem küçük hayvan cerrahisinde hem de büyük hayvan cerrahisinde ICG-NIRF'in gelecekteki standart cerrahi uygulamalara entegre edilmesinde belirleyici rol oynayacaktır.

KAYNAKLAR

- Anonim 1. (2022, Mart). gpng.png [Şekil 1]. <https://bacon.com.ar/wp-content/uploads/2022/03/gpng.png>
- Anonim 2. (2024, 14 Kasım). Система IC-Flow™ помогает врачам-онкологам Центра выполнять малотравматичные операции на молочной железе [Şekil 2]. Niioncologii.ru. https://www.niioncologii.ru/news/sistema_ic_flow_pomogaet_vracham_onkologam_tsentra_vypolnyat_malotravmatichnye_operatsii_na_molochnochno
- Chung, P. H. Y., et al. (2023). ICG fluorescence angiography in surgery for necrotizing enterocolitis (human evidence for perfusion assessment). *Journal of Pediatric Surgery Open*, 5, —. ScienceDirect.
- De Lorenzi, F., Vanni, G., Biffi, R., et al. (2021). Clinical applications of indocyanine green (ICG) in surgery: Review of the literature and future perspectives. *Surgical Oncology*, 37, 101–109.
- Fransvea, P., et al. (2024). A green lantern for the surgeon: Review on the use of ICG in surgery—Benefits, pitfalls, standardization. *Journal of Clinical Medicine*, 13(16), 4895.
- Griffin, M. A., Farina, D., Meneguzzi, G., Brentson, J., Jeglum, K. A., Montinaro, V., et al. (2024). Incorporation of pre- and intra-operative sentinel lymph node mapping in dogs with apocrine gland anal sac adenocarcinoma. *BMC Veterinary Oncology*, 2, Article 5.
- Griffin, M. A., Flesner, B. K., Worley, D. R., et al. (2024a). Incorporation of pre- and intra-operative sentinel lymph node mapping techniques in dogs with apocrine gland anal sac adenocarcinoma. *Veterinary Oncology*, 1, 5. <https://doi.org/10.1186/s44356-024-00005-0>
- Ishizawa, T., Zarrinpar, A., & Kokudo, N. (2018). Fluorescent cholangiography using indocyanine green for biliary anatomy identification. *Annals of Surgery*, 267(1), 114–121.
- Kim, S., Lee, Y., Park, J., & Kim, H. (2025). Utilization of indocyanine green for intraoperative sentinel lymph node mapping in canine mammary tumors. *Scientific Reports*, 15, 92243.

- Kim, S. H., et al. (2024). Determining the patency of biliary tracts in dogs with gallbladder mucocele using intraoperative ICG cholangiography. *PLOS One*, 19, e0300395.
- Korpita, M. F., et al. (2022). Thoracoscopic detection of thoracic ducts after ultrasound-guided intrahepatic injection of ICG in dogs. *Veterinary Surgery*, 51.
- Larose, P. C., et al. (2024). Near-infrared fluorescence cholangiography in dogs: Dose and timing effects. *Veterinary Surgery*, 53.
- Lopez, P., Hernandez, A., & Rivera, M. (2024). Intraoperative assessment of intestinal perfusion using ICG fluorescence in dogs. *Veterinary Medicine and Science*, 10(2), 210–218.
- Mullen, K. M., Regier, P. J., Perez-Rodriguez, V., et al. (2024). Use of near-infrared fluorescence to assess gastric viability in dogs with GDV: A case-control study. *Veterinary Surgery*, 53(4), 684–694.
- Nakamura, H., & Suzuki, T. (2023). Advances in fluorescence-guided surgery in veterinary medicine: A review. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1120.
- Oblak, M. L., Annoni, M., et al. (2024). Comparative aspects of targeted sentinel lymph node mapping in veterinary and human oncology. *Frontiers in Medicine*, 11, 1342456.
- Sakurai, N., et al. (2022). Clinical impact of near-infrared fluorescence imaging with ICG on canine hepatic masses. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 9580212.
- Sakurai, N., et al. (2023). Impact of near-infrared fluorescence imaging with ICG in dogs with pulmonary malignant tumors. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1018263.
- Smith, J. J., Brown, K., & Patel, R. (2021). Use of indocyanine green fluorescence in canine tumor surgery: A prospective study. *Veterinary Surgery*, 50(3), 512–520.
- Tanaka, Y., Mori, T., & Sato, K. (2022). Application of ICG-NIRF for sentinel lymph node mapping in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(5), 345–353.
- Ubiali, A., et al. (2025). Indocyanine green fluorescence lymphography in cat cadavers: Feasibility and predictable patterns. *Animals*, 15.

- Verhaar, N., Reineking, W., Hewicker-Trautwein, M., et al. (2024). Flowmetry and spectrophotometry for reduced intestinal microperfusion in equine colic surgery. *American Journal of Veterinary Research*, 85(10).
- Wan, J., Lee, J., Koo, J., et al. (2021). Determining the agreement between preoperative computed tomography lymphangiography and intraoperative ICG + methylene blue lymphography for SLN detection in dogs with oral tumours. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35.

BÖLÜM 7

KÖPEKLERDE SICAK ÇARPMASI VE YÖNETİMİ

Dr. Öğr. Üyesi Adem ŞAHAN¹

Dr. Öğr. Üyesi İsmail GÜNAL²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410070>

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye. ademsahan@harran.edu.tr, ORCID: 0000-0002-4779-0893

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye. ismailgunal@harran.edu.tr, ORCID: 0000-0003-3679-4132

1. GİRİŞ

Küresel ısınma, şiddetli yağışlar, seller ve orman yangınları gibi doğal afetlerin görülme oranını artırabilir. Ayrıca doğrudan etkisiyle sıcaklıkla ilişkili hastalıkların yaygınlığında da artışa yol açmaktadır (Allan ve ark., 2020). Sıcaklıkla ilişkili hastalıkların en şiddetli biçimi olan sıcak çarpması, köpeklerde önemli bir ölüm nedeni olabilmektedir (Tripovich ve ark., 2023). Köpeklerde hipertermi, günümüzde önemli bir mevsimsel acil durum olarak değerlendirilmektedir (Moon ve ark., 2021). Sıcak çarpması, vücut sıcaklığında pirojenik bir yükselme olmadan dokularda doğrudan termal nedene bağlı olarak hasar gelişimi ile karakterize, akut ve progresif seyirli olan ve yaşamı tehdit ettiği için acilen müdahale edilmesi gereken bir durumdur (Flournoy ve ark., 2003). Sıcak çarpması, oluşan ısının vücuttan yeterince atılamaması sonucu meydana gelir. Köpeklerde, vücut ısısının 41 °C üzerine çıkması ve merkezi sinir sistemi fonksiyon bozukluğu ile karakterizedir. Genellikle sıcak ve nemli bir ortama uzun süre maruz kalma veya yoğun fiziksel egzersiz sonucu ortaya çıkar. Enflamatuar ve hemostatik yolların aktivasyonu, çoğunlukla çoklu organ fonksiyon bozukluğu sendromuna ilerleyen sistemik enflamatuar yanıt sendromunu başlatır (Bruchim, 2018). İklim değişikliği küresel sıcaklıkların yükselmesine neden olurken, köpeklerde ölümcül olabilen sıcaklıkla ilişkili hastalıklar her geçen gün daha da ciddi bir durum hâline gelmektedir (Hall ve ark., 2020). Sıcak çarpması, özellikle nem oranının yüksek olduğu yaz aylarında daha sık meydana gelir. Bu durum köpek ve kedilerin her ikisinde görülse de köpeklerde kedilere nazaran daha sık görülmektedir (Flournoy ve ark., 2003; Holloway, 1992).

2. PREDİSPOZE FAKTÖRLER

Köpeklerde anatomik ve morfolojik özellikler sıcaklıkla ilişkili hastalıkların gelişme riskini artırır. Bunlar arasında çift kat tüy yapısı, yüksek vücut ağırlığı (>15 kg), eşlik eden hastalıklar (örneğin kardiyovasküler) ve ileri yaş bulunur (Tripovich ve ark., 2023; Whitaker ve Ostrander, 2019). Doğal yollarla gelişen sıcak çarpması olgularına dair çalışmalarda genellikle askeri köpekler (örneğin Belçika Malinois) yer alır. Bunun başlıca nedeni, bu köpeklerin büyük vücut ağırlığından ziyade yoğun eğitim altında sıcak ve zorlu ortamlarda çalıştırılmalarıdır. Özellikle yeterli eğitim almadıklarında ve

çevreye uyum sağlayamadıklarında, sıcak çarpması riskinin vücut ağırlığından çok bu etkenlerle ilişkili olduğu kabul edilmektedir (Andress ve Goodnight, 2013; Bruchim ve ark., 2014). Golden ve Labrador Retriever'lerin sıcak çarpmasına daha duyarlı olması özellikle çevresel ısı stresi koşullarında obeziteye yatkınlık ve yüksek aktivite düzeyi gibi nedenlere bağlıdır. Bu ırklarda bildirilen vakaların çoğu egzersiz sırasında gelişir (Aroch ve ark., 2009; Bruchim ve ark., 2017; Segev ve ark., 2015a). Brakisefalik ırk köpeklerde de termoregülasyon yetersiz olduğu için risk daha fazladır. Çünkü bu yapı solunum yoluyla vücut ısısının atılımı yeterli düzeyde olmaz ve oksijen ihtiyacını karşılamak için daha fazla çaba gerektirir (Clark, 2022). Brakisefalik olan ve olmayan köpeklerin yüksek ortam sıcaklığına, bağıl neme ve ısı yüküne verdikleri fizyolojik yanıtları karşılaştıran prospektif bir çalışmada, brakisefalik köpeklerde ısı stresine karşı solunum yanıtı diğer ırklara göre belirgin şekilde daha fazla arttığını göstermiştir (Davis ve ark., 2017).

3. PATOGENEZ

Köpeklerde, normal koşullarda vücut ısısının %70'ten fazlası vücut yüzeyinden radyasyon ve konveksiyonla uzaklaştırılır. Isı stresinin erken evrelerinde, dalak kasılması ve dalak, karaciğer ile sindirim sisteminde sistemik damar direncinin artması kalp debisini yükseltir. Bu durum kan akışının deriye yönlendirerek ısı dağıtımını artırır (Horowitz ve Samueloff, 1988; Miki ve ark., 1983; Wong ve Hollowed, 2017). Çevre sıcaklığı, vücut sıcaklığına yaklaştıkça deriden hava akımı ve ışıınım yoluyla ısı kaybı azalır. Bu durumda, fazla ısının atılmasında önemli bir yol olan ve özellikle nefes alıp verme yoluyla gelişen buharlaşma kilit rol oynar (Hemmelgarn ve Gannon, 2013b). Köpeklerde burun konkaları, nemli mukozal yüzeylerden suyun buharlaşması için geniş bir alan sağlar ve soluma yoluyla ısı dağılımında önemli bir rol oynar. Aşırı salya salgısı da ağız mukozası ve dildeki buharlaşmayı artırarak bu sürecin etkinliğini artırır. Ancak yüksek çevre sıcaklığında ve bağıl nem oranı %35'in üzerine çıktığında, soluma yoluyla ısı kaybı yetersiz hale gelir. Bağıl nem %80'in üzerine çıktığında ise bu vücut soğutma mekanizması köpeklerde tamamen etkisiz hâle gelir (Hemmelgarn ve Gannon, 2013a, 2013b). Ayrıca, vücut sıcaklığındaki sürekli artışla birlikte metabolik bozukluklar ortaya çıkar, kalp debisi azalır ve bu

durum ısı dağılımının başarısız olmasına yol açar, böylece vücuttaki ısı birikimi artar (Lin ve ark., 1997; Miki ve ark., 1983; Zurovski ve ark., 1991). Hipertermi, dehidrasyonla birleştiğinde, deri ve karın içindeki kanın göllenmesi sonucu dolaşımdaki kan hacminde azalma ve hipotansiyon görülür (Miki ve ark., 1983). Karın içi damar genişlemesi ile bağlantılı olduğu düşünülen mekanizmalardan biri de nitrik oksit sentezinin aşırı artışıdır. Bu durum, özellikle sıcak çarpması sırasında damarların kontrolsüz bir şekilde genişlemesine ve sonuç olarak kan akışının bozulmasına yol açmaktadır (Hall ve ark., 2001; Quinn ve ark., 2015). Deneysel olarak sıcak çarpması oluşturulan melez köpeklerde, sıcak çarpması belirtilerinin ortaya çıkması için rektal sıcaklığın 43 °C'yi 40 dakika boyunca aşması gerektiği belirlenmiştir. Sıcak çarpmasının şiddeti hem en yüksek rektal sıcaklıkla hem de bu sıcaklığın ne kadar süre devam ettiğine bağlı olarak artmıştır (Shapiro ve ark., 1973). Bununla birlikte, iyi düzeyde yüksek eforla eğitilmiş ve adaptasyon geliştirmiş askeri köpeklerde yoğun fiziksel aktiviteyi takiben çoğu zaman rektal sıcaklığın >42 °C olması ile hipertermi gelişmesine rağmen bunun sıcak çarpmasına ait klinik ya da laboratuvar bulgularının ortaya çıkmadığı gösterilmiştir. Bu durum yüksek efora adapte olan köpeklerde belirgin sıcak çarpması gelişiminden korunmada önemli bir etken olduğunu göstermiştir (Bruchim ve ark., 2017). Köpeklerde meydana gelen hipertermi ve sıcak çarpması, farklı şiddet ve hızlarda inflamasyon, koagülopati, doku hasarı gibi süreçleri başlatır. İnflamasyon ve koagülopatinin gelişim süreçlerinin tetiklenmesi, genellikle çoklu organ yetmezliği sendromuna evrilen sistemik inflamatuvar yanıt sendromunu (SIRS) başlatır (Bruchim ve ark., 2017; King ve ark., 2017; Lee ve ark., 2018; Leon ve Helwig, 2010a, 2010b). Doğrudan ısıya bağlı hasar, şiddetli hipovolemik ve dağıtıcı şok (Distributive shock), metabolik asidoz, nörolojik bozukluk, endotoksemi ve yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğu (DIC) ile eş zamanlı görülmesi, organlara yeterli kan akışını azaltarak, doku nekrozuna ve kanama eğilimine yol açar. Bu durum, doğal olarak gelişen sıcak çarpmasından ölen köpeklerde yapılan nekropside de ortaya konmuştur (Bruchim ve ark., 2009; Zurovski ve ark., 1991). Köpeklerde sıcak çarpmasının ciddi komplikasyonları arasında rabdomiyolizis (kas dokusu yıkımı), nörolojik hasar ve işlev bozukluğu ile akut böbrek hasarı (AKI), akut respiratorik distres sendromu, karaciğer ve safra yolları hasarı, sepsis, akut pankreatit ve DIC bulunur (Aroch ve ark.,

2009; Bouchama ve ark., 2005; Gerner ve ark., 2002; Ramanathan ve ark., 2015). Köpeklerde sıcak çarpmasına bağlı ölüm, daha çok hemodinamik bozukluklar ile birlikte akciğerlerde gelişen hasardan kaynaklanır (Gerner ve ark., 2002).

4. KLİNİK BULGULAR

Köpeklerde sıcak çarpmasına bağlı olarak gelişen klinik bulgular arasında en sık görülen ağız açık halde hızlı soluk alıp verme ve panting olarak bilinen dilin dışarı çıkarılması hareketidir (Drobatz ve Macintire, 1996; Larson ve Carithers, 1985). Şiddetli dehidrasyondan dolayı mukoz membranlarda kuruluk ve aşırı nefes alıp vermeden dolayı ağız boşluğunda yapışmalar meydana gelir. Sistemik vazodilatasyon sonucu mukoz membranlar koyulaşmış ya da hiperemik görünebilir. Ayrıca periferik vazodilatasyona bağlı kapiller dolum zamanında azalma veya hiç saptanamama durumu görülebilir. Köpeklerde ataksi, bilinç kaybı, kortikal körlük, nöbetler ve hatta koma görülebilir. Beyin sapı refleksleri (göz bebeği, kornea) azalır ya da tamamen ortadan kalkar. Mukoza zarları veya sklerada, yoğun hemoliz veya karaciğer fonksiyon bozukluğu nedeniyle sarılık görülebilir. Sıcak çarpmasının son evrelerinde nörolojik disfonksiyon nedeniyle yüzeysel solunum ve apne meydana gelebilir (Flournoy ve ark., 2003). Mukoza zarları, kulak kepçesi ve vulvanın muayenesi, olası DIC'i düşündüren peteşiyal kanamalar veya ekimozları ortaya koyabilir. Ayrıca, miyoglobiniyi gösteren "makine yağı" veya "kola rengi" olarak tanımlanan koyu renkli idrar çıkışı da görülebilir (Flournoy ve ark., 2003). Sıcak çarpmasının klinik belirtileri arasında derin depresyon, bitkinlik, nefes nefese kalma, taşikardi, hiperemi, mukoz membranlarda kuruma, kapiller dolum zamanında (CRT) uzama, femoral nabızda zayıflama görülür (Flournoy ve ark., 2003; Holloway, 1992). Dolaşım sisteminin muayenesinde nabız açığıyla karşılaşılabilir bu durum ise kardiyak aritmilerin göstergesidir. Ataksi, körlük, nöbet gibi nörolojik anormallikler meydana gelebilir (Flournoy ve ark., 2003). Diğer klinik belirtiler intravenöz (IV) kateter yerleştirmek için kıl ve tüylerin tıraşlanarak uzaklaştırılmasından sonra, kulak kepçesinde veya deride peteşi ve ekimozlara rastlanabilir (Holloway, 1992). Klinik tablo bazen hayvanın yüksek ateşinin pirojenik mi yoksa non-pirojenik mi olduğuna dair ipuçları verebilir. Pirojenik hipertermi, enfeksiyöz ve enfeksiyon dışı sistemik

enflamatuar hastalıkları kapsar. Yüksek ateşle karakterize sistemik inflamatuvar hastalıklar genellikle hayvanlarda nefes nefese kalma ve aşırı salya akmasına yol açmaz (Palley ve Fox, 1992). Pirojenik hayvanlar genellikle yürüyebilirken, sıcak çarpmasına bağlı yüksek ateş geçiren hayvanlar ayağa kalkmak istemez veya hiç kalkamaz (Drobatz ve Macintire, 1996).

5. TEŞHİS

İnsanlarda sıcak çarpmasının tanısı genellikle daha belirginken, doğal sıcak çarpması yaşayan köpeklerde anamnez bilgisi belirsiz olabilir. Çünkü, köpek sahipleri, sıcak hasarına neden olan faktörleri tam olarak fark etmemiş olabilir. Örneğin, köpekler oyun oynarken aniden bayılabilir. Hasta sahipleri açık alanlarda, zorlu ve yüksek sıcaklık koşullarında, su ve gölgeye erişimin kısıtlı olduğu durumları gözden kaçırılabildiği gibi sıcak çarpmasına dair hiçbir bilgi sahibi de olmayabilir. Bu nedenle, köpeklerde sıcak çarpması tanısı her zaman sahiplerinden alınan bilgilere dayansa da detaylı klinik muayene, çevresel koşullar ve bulgular değerlendirilerek sıcak çarpması asla göz ardı edilmemeli veya dışlanmamalıdır (Bruchim ve ark., 2017; Bruchim ve ark., 2009). Sıcak çarpmasının tanısı esas olarak yüksek sıcaklığa ve aşırı fiziksel aktiviteye bağlı gelişen hipertermiye ve nörolojik disfonksiyon bulgularına dayanır (Leon ve Bouchama, 2015). Fiziksel muayenede kuru ve hiperemik müköz membranlar, periferik vazodilatasyona bağlı olarak kısalmış CRT, peteşi, melenas veya hematoşezya (parlak kırmızı renkte dışkılama) gibi kan diskrazilerine işaret eden klinik bulgular ortaya çıkabilmektedir. Daha ileri vakalarda ise nörolojik fonksiyona bağlı ataksi, merkezi reflekslerde azalma, bilinç kaybı, nöbet ve koma tablosu gözlenir (Hall ve ark., 2021). Köpeklerdeki sıcak çarpması, genellikle kaslarda hasara bağlı aktivitesi artan enzimlerin saptanması tanı kapsamında düşünülebilir (Bruchim ve ark., 2016). Bu artışın şiddeti, hücresel kas hasarının derecesi ile kalp ve iskelet kası miyositleri üzerine doğrudan termal hasarın boyutunu yansıtır (Alzeer ve ark., 1997). Kreatin kinaz (CK), aspartat transaminaz (AST) ve alanin transaminaz (ALT) enzimlerinin artmış aktivitesi ile birlikte, muhtemelen miyoglobini varlığı da gözlenebilir (Caldas ve ark., 2022). Köpeklerdeki sıcak çarpmasında belirgin patolojik metarubrositoz (insan tıbbında normoblastemi olarak adlandırılır) oldukça spesifik bir durumdur ve sıcak çarpması

öyküsünün tam olarak anlaşılamadığı durumlarda sıcak çarpmasına işaret etmektedir (Aroch ve ark., 2009). Bu patolojik metarubrositoz, anemi veya polikromazi olmaksızın, çoğunlukla hematokrit, RBC sayısı ve hemoglobin konsantrasyonunda artışla birlikte görülür. Bu nedenle, periferik kanda nRBC'lerin bulunması ve serum kas enzim aktivitesinde (yani CK) artışın birlikte görülmesi önemlidir. Klinik öykü belirsiz olduğunda ve köpekler muayene sırasında normotermik veya hipotermik olduğunda, sıcak çarpmasının teşhis edilmesinde önemli bir ipucu sunar (Aroch ve ark., 2009). Serum alkalen fosfataz (ALP), ALT, AST ve γ -glutamil transferaz (GGT) aktivitelerinin artışıyla belirgin hale gelir (Romanucci ve Salda, 2013). Hipertermik hastalarda hematolojik, biyokimyasal profil, koagülasyon testi, kan gazı, laktat ve idrar analizi yapılması gerekmektedir. Dehidrasyon ve hemokonsantrasyon nedeniyle hematokrit ve toplam solid değerlerin artmasına neden olur ancak gastrointestinal kayıplar, vaskülit ve renal kayıplar ise tam tersine anemiye ve toplam solid maddenin azalmasına neden olabilir. Yaygın damar içi pıhtılaşma bozukluğuna bağlı olarak trombositopeni, pıhtılaşma sürelerinde artış ve fibrin yıkımlanma ürünlerinde artış meydana gelmektedir (Ettinger ve ark., 2017). Klinik laboratuvar bulguları arasında total Solid, HCT (hematokrit), ALT, TBIL (total bilirubin / toplam bilirubin), BUN (kan üre azotu), CREA (kreatinin) ve CK değerlerinde artışlar görülür (Holloway, 1992). Sıvı sağaltımına rağmen kreatinin düzeyinin yüksek seyretmesi mortalite oranı üzerine pozitif korelasyona sahiptir (Drobatz ve Macintire, 1996). Böbrek biyobelirteçlerinin kullanımı, böbrek hasarının erken saptanmasında yararlı olabilir. Sıcak çarpması görülen köpeklerde AKI sıklıkla gelişse de başlangıçta çoğu kez subklinik seyreder; bu nedenle erken glomerüler ve tübüler hasarı yansıtan belirteçlerin kullanımı kritik önemdedir. Böbrek hasarı için yeni idrar biyobelirteçleri arasında nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), C-reaktif protein (CRP), retinol bağlayıcı protein (RBP) ve protein/kreatinin oranı (UPC) yer alır (Caldas ve ark., 2022). Sıcak çarpması geçiren köpeklerde bu biyobelirteçlerin oldukça yüksek değerleri gözlemlenmiş ve bu sayede AKI hasarı ilk evresinde rutin belirteçlere göre daha erken/subklinik tespit edilmesine imkân sağlamaktadır (Segev ve ark., 2015b).

6. TEDAVİ

Sıcak çarpmasına maruz kalan köpeklerde tedavinin birincil basamağını vücut sıcaklığındaki artışın hayati doku ve organlara daha fazla zarar vermeden hızlı bir şekilde düşürülmesi gerekir ancak bu sürecin hipotermiye neden olarak ve ısı üreten mekanizmaları indükleyecek kadar da hızlı olmaması gerekir. Çünkü vücut sıcaklığının aniden düşürülmesi termoregülasyon mekanizmalarını engelleyen ve sıcak kanı merkezi vücut organlarına gönderen periferik vazokonstriksiyona neden olabilir. Sıcak çarpması sonrasında sekonder sekeller meydana gelebilir ve bu durum hastanın prognozunu daha da kötü hale getirebilir. Hasta hekime ilk geldiği süreçten sonraki 24 ile 48 saatlik zaman diliminde sürekli olarak monitörizasyon altında tutulmalıdır (Flournoy ve ark., 2003). Tedavi, hasta sahibinin olay anında ilk yapması gerekenler ve veteriner hekimin yapması gereken müdahaleler olarak 2 aşamadan oluşur (Flournoy ve ark., 2003).

6.1. Hasta Sahipleri Tarafından Alınması Gereken Önlemler

Sıcak çarpması, acil müdahale edilmesi gereken tıbbi bir durumdur. Bu nedenle, hayvan sahipleri hayvanı kademeli olarak normal vücut sıcaklığına soğutmak için doğru adımlar atarak hemen ilk yardım tedavisine başlamalıdır. Mümkünse, hayvan hastanesine nakil öncesinde sahibi köpeğe su püskürterek ilk müdahaleyi yapmalıdır (Flournoy ve ark., 2003).

6.2. Veteriner Hekim Tarafından Yapılması Gereken Müdahaleler

6.2.1. Hava Yolunun Açılması ve Oksijen Sağlanması

Köpeğin ilk muayene sırasında solunum yolunun açık olup olmadığı yönünden hızlı bir şekilde değerlendirilmeli ve her zaman oksijen desteği sağlanmalıdır. Laringeal felçli köpeklerde ya da trakeal entübasyon amacıyla sedasyon gerekebilir. Hipoventilasyon veya solunumun durduğu hastalarda entübasyon ve pozitif basınçlı ventilasyon gereklidir ancak oksijen kafesi ya da oksijen çadırı aşırı ısınmaya yol açabileceğinden dolayı kontrendikedir (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.2. Harici Soğutmanın Sağlanması

Artan ısıнын iç bölgeden deriye sonra ise deriden dış ortama hızlı bir şekilde uzaklaştırılması gereklidir (Bouchama ve Knochel., 2002). Köpeğe su püskürtülmesi veya soğuk su banyosuna daldırılıp vantilatörlerin önüne yerleştirilmesi önemli bir soğutma yöntemidir. Masaj yapılması kan akışını ve vazodilatasyonu artırarak soğumaya yardımcı olabilir. Buzlu su banyosunun yapılması ise kontrendikedir, çünkü vazokonstriksiyona bağlı derideki kan akışının azalmasına ve DIC'ye yol açan kılcal çamurlaşmaya neden olabilmektedir. Buzlu su ayrıca ısı üreten bir mekanizma olan titremelere yol açar. Soğuk su ile yapılan lavman, peritoneal lavaj ve gastrik lavaj gibi uygulamaların yapılması merkezi vücut ısını düşürmeye (Lee-Chiong Jr ve Stitt, 1995) yardımcı olmasına rağmen bu soğutma yöntemleri pratik olmayıp vücut ısının doğru bir şekilde takip edilmesini ve aşırı hipotermiye yol açarak durumu daha da zorlaştırabilir (Flournoy ve ark., 2003; Holloway, 1992). Beynin soğutulmasını hızlandırmak amacıyla birkaç buz parçasını paketleyerek köpeğin baş bölgesine yerleştirilebilir. Hastanın ateşi 39,4 °C'ye ulaştığında agresif soğutma çalışmaları durdurulmalıdır, çünkü hızla düşme devam ederek hipotermiye yol açabilir (Flournoy ve ark.,2003). Antipiretik ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) sıcak çarpmasına maruz kalan hastalarda böbrek perfüzyonunu ve gastrointestinal ülser oluşumuna yol açabileceğinden kullanımı kontrendikedir (Ettinger ve ark., 2017).

6.2.3. Hasta ile İlgili Verilerin Toplanması

Intravenöz kateter yerleştirilmeli ve en azından hematokrit, BUN, kan glukozu ile idrar stripi üzerinden özgül ağırlığı içeren bir temel veri seti elde edilmelidir. Tam kan sayımı, serum biyokimyası, kan gazı ve pıhtılaşma profili için örnekler tedaviye başlamadan hemen önce alınmalıdır (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.4. Damar İçi Sıvı Uygulaması

Uygulanacak sıvıların türü, hızı ve miktarı değerlendirilirken hastaların bireysel ihtiyaçları göz önünde bulundurulmalıdır. Sıcak çarpması olan hastaların çoğu hemokonsantre ve hipovolemiktir (Flournoy ve ark., 2003; Holloway, 1992). Damar içi sıvı tedavisi, vücut iç sıcaklığını düşürmede temel bir bileşendir. Kardiyovasküler şok gelişiminin önüne geçmek amacıyla

oda sıcaklığındaki sıvılarla İV sıvı tedavisine başlanması gerekir. Kristaloid sıvılar (örneğin, dengeli elektrolit çözeltileri), interstisyumu yeniden hidratlama ihtiyacı nedeniyle genellikle ilk tercih edilen sıvılardır. Kolloidler (hidroksietil nişasta, dekstran, plazma) ilk resüsitasyonda kullanılabilir; kısa süre sonra uygun kristaloidler eklenmelidir (Bonagura, 2000). Birlikte uygulandığında kristaloid dozu %40–60 azaltılmalıdır (Kirby ve Rudloff, 1997). Hipoalbüminemik hastalarda uygulanan kolloid sıvıların osmotik basıncı artırması hedeflenir. Sıcak çarpmasına maruz kalan hayvanlarda hipotansiyon ve hipoksi gelişme ihtimalinden dolayı güçlü kolloidal ve oksijen taşıma yeteneği olan polimerize sığır hemoglobin glutamer-200'ün (Oxyglobin; Biopure Corporation) kullanılması anemik ve düşük onkotik basınca sahip bazı köpeklerde faydalı olabilmektedir (Flournoy ve ark., 2003; Harringer ve ark., 1992). Termal stresle kaybedilen sıvı hacmi ilk 24 saat içinde yerine konmalıdır. Hesaplanan sıvı açığının (%50'si) ilk 3–6 saat içinde, kalan kısmının ise sonraki 9 saat içinde verilmesi uygundur. Böylece kısa sürede büyük hacimlerin hızla uygulanmasından kaçınılır (Blois, 2017; Hongjun ve ark., 2015). Hipotansiyon ve hipoperfüzyon belirtileri olan hastalarda, 10-20 ml/kg aralığında bir başlangıç bolusu ile ilk resüsitasyonda dengeli kristaloid solüsyonlar kullanılabilir (Hemmelgarn ve Gannon, 2013a). Bununla birlikte, köpeklerde 90 ml/kg/saat ve kedilerde 60 ml/kg/saat sabit sıvı infüzyonu kontrendikedir; aşırı hacim hipoksemi, pulmoner ve serebral ödem ile kardiyak arrest riski meydana getirebilir (Rabelo, 2012). Hastanın klinik durumu ve hematolojik bulgulara göre kan ve kan ürünlerinin kullanımı endike olabilir. Koagülopatilerde taze donmuş plazma, tam kan veya trombosit açısından zengin plazma kullanımı, anemik hastalarda ise kırmızı kan hücreleri veya tam kan transfüzyonu tercih edilebilir (Tocci, 2010). Farmakolojik öneriler için dozajlar Tablo 1'de listelenmiştir (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.5. Antibiyotik Uygulaması

Antibiyotikler, bağırsak hasarı ve endotoksin salınımı nedeniyle ölümcül klasik sıcak çarpmasında yarar sağladığını ortaya koymuştur. Ancak enfeksiyonun doğrulanmadığı ölümcül olmayan egzersiz kaynaklı sıcak çarpmasında rutin kullanımı önerilmemektedir (Laitano ve ark., 2019). Sıcak çarpmalarında antibiyotik uygulamaları direnç gelişimi ve endotoksemiye

daha da ilerletme potansiyeli nedeniyle tartışmalıdır. Ancak geniş etki spektrumuna sahip bakterisidal etkili parenteral antibiyotiklerin uygulanması önerilmektedir (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.6. Mide Koruyucu Uygulaması

Sukralfat uygulandıktan 1 saat sonra, simetidin veya ranitidin gibi bir H₂ reseptör antagonisti verilebilir. Yutma refleksinin olmadığı ya da zayıf olduğu durumlarda oral ilaçların uygulanması aspirasyon pnömonisine neden olabileceğinden dolayı dikkatli olunmalıdır (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.7. DIC Tedavisi

Yaygın damar içi koagülopatili (DIC) köpeklere taze dondurulmuş plazma verilmelidir (Legendre ve Toal, 2000). Ayrıca taze plazma nakli uygulaması öncesinde plazma heparin ile 30 dakika muameleye tabi tutulmalıdır (Legendre ve Toal, 2000). Aktif kanama olmadıkça parenteral heparin uygulaması yapılabilir (Bonagura, 2000).

6.2.8. Asit-Baz ve Elektrolit Anormalliklerinin Düzeltilmesi

Doku hipoperfüzyonun ortadan kalkması ile birlikte genellikle asidemi derecesinde iyileşme başlar. Buna rağmen yeterli resüsitasyona karşın asidemi sürüyorsa, metabolik asidozu düzeltmek için sodyum bikarbonat verilmelidir (pH <7.2). Hipokaleminin giderilmesi amacıyla, ilk resüsitasyonun ardından idame IV sıvılarla potasyum klorür uygulanmalıdır (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.9. Aritminin İzlenmesi

Hemodinamik bozulma ve ventriküler aritmiler de tedavide müdahale edilmesi gereken bozukluklar arasındadır. Elektrolit dengesizliği varlığında kardiyak aritmilerin yönetimi güçleşebileceğinden, antiaritmik verilmeden önce elektrolit anormallikleri düzeltilmelidir. Elektrolit bozuklukları da aritmiye neden olabileceği için ilk aşamada elektrolit düzeyleri belirlenmeli ve elektrolit dengesizliğinin olmadığına kanaat getirildikten sonra antiaritmik ilaçlarla süreç yönetilmelidir. Bu amaçla Lidokain (%2) 2 mg/kg dozunda ve genellikle yavaş IV olarak uygulanmalı, ardından aritmiler azalıp kontrol altına alınana kadar olarak 66 µg/kg/dk dozunda IV olarak 48 ila 72 saat süre

içerisinde sabit hızlı infüzyon şeklinde uygulanmalıdır (Cassutto ve Gfeller, 2003; Flournoy ve ark., 2003).

6.2.10. İdrar Çıkışının İzlenmesi

Sıcak çarpmasına bağlı olarak akut böbrek yetmezliği gelişebileceğinden dolayı idrar çıkışı mutlaka izlenmelidir. Hastanın rehidratasyonu tam anlamıyla sağlandıktan sonra idrar çıkışı oligoürik hale geldiğinde ($<1-2$ ml/kg/saat), mannitol, dopamin ve furosemid uygulanması düşünülmelidir. Diüretik uygulamasından önce etkin bir renal perfüzyon için hastanın yeterli kan basıncının oluşturulması ve rehidrasyonun sağlanması gerekir. İdrar çıkışı başladıktan sonra sıvı tedavisine 4 ila 6 ml/kg/saat hızında devam edilmeli ve hasta belirli aralıklarla kalp atım hızı, nabız kalitesi, mukoz membranlar ve kapiller dolum süresi, arteriyel kan basıncı ve santral venöz kan basıncı yönünden değerlendirilerek sıvı miktarı azaltılarak kesilmelidir. İdrar sedimenti, BUN ve kreatinin değerleri sık sık kontrol edilmelidir. Kapalı bir idrar toplama sistemi idrar çıkışının ne düzeyde olduğunu ölçmede yardımcı olarak, sıvı tedavisinin yeterli olmasını sağlar ve sürecin yönetimini kolaylaştırır (Flournoy ve ark., 2003).

6.2.11. Akciğer Ödeminin Sağaltımı

Resüsitasyonun ilk aşamasında solunum sesleri sık aralıklarla auskulte edilmelidir. Pulmoner ödemden şüphelenilip radyografiyle doğrulanırsa, santral venöz basınç izlenmeli ve furosemid uygulaması değerlendirilmelidir (Flournoy ve ark., 2003). Deneysel çalışmalar, furosemidin pulmoner vazoaktif etkilerinin, köpeklerde düşük basınçlı pulmoner ödemde şant fraksiyonunun ve ödemin azalmasına yardımcı olduğunu ortaya koymuştur. Akciğer ödemli köpeklerde furosemid (1 mg/kg) tedavisinin uygulanmasının takibinden 2 saat sonra etkili olmaktadır (Ali ve ark., 1979).

6.2.12. Nörolojik Fonksiyonların Takibi

Hipertermi tedavisi sırasında hastanın nörolojik durumunun sürekli izlenmesi gereklidir ve ensefalopatiye yol açan faktörlere (hipertermi, dehidratasyon ve hipoperfüzyon) odaklanılarak hızlı ve etkili bir düzelme için ilaç kullanımı önerilmelidir. İntrakraniyal basınç artışı halinde mannitol veya %7,5'lik hipertonik salin solüsyonu tercih edilebilir; osmotik diürez kaynaklı

dehidratasyon riskini azalttığı için salin solüsyonu daha üstündür. Nöbet gelişmesi durumunda, nöbetler diazepam ile kontrol altına alınmalıdır (Flournoy ve ark., 2003; Hemmelgarn ve Gannon, 2013a).

6.2.13. Hipotansiyonun Düzeltilmesi

Sıvı resüsitasyonundan sonraki süreçte ortalama kan basıncı 60 mmHg'nin altına düşmesi halinde dopamin veya dobutamin hidroklorür düşünülmelidir. Doz ayarlaması kan basıncının izlenmesi ve klinik yanıtı göre yapılmalıdır. Hayvan sıvı resüsitasyonundan sonra hipotansif kalırsa ve septikse, septik şok oluşabileceği göz ardı edilmemelidir (Flournoy ve ark., 2003). Sıcak çarpmasında kortikosteroid kullanımı tartışmalıdır; bununla birlikte kortikosteroidler (prednizolon sodyum süksinat, deksametazon sodyum fosfat) şok yaşayan bazı hastalarda serebral ödemi önleyebilir ve zarları stabilize edebilir. Kortikosteroidler mevcut olan yetersiz perfüze olmuş bir gastrointestinal sistemde gastrik ülserasyonu, immünosupresyonu ve sıcak çarpmasının neden olduğu böbrek hasarının ilerlemesine yol açabilir (Curley, 1996; Stanton ve Bright, 1989). Köpeklerde sıcak çarpması vakalarında dipiron ve flunixin meglumin gibi NSAID'ler, şiddetli hipotermiye, gastrointestinal ülserasyona, kanama sürelerinin uzamasına ve kemik iliği baskılanmasına neden olabileceğinden dolayı için kontrendikedir (Mathews, 2000). Antiprostaglandinler genellikle sadece gerçek ateşi olan köpeklerde vücut ısısını düşürmede etkilidir ve çevresel faktörlerin neden olduğu hipertermi durumunda endike değildir (Flournoy ve ark., 2003).

Tablo1. Sıcak Çarpması (Köpek): Stabilizasyon ve Komplikasyonlara yönelik önerilen farmakolojik tedavideki etken madde ve dozları (Flournoy ve ark., 2003).

Tedavi / Klinik Problem	İlaç	Doz
Sedasyon	Butorfanol	0,2–0,4 mg/kg IV
	Diazepam	0,1–0,5 mg/kg IV
	Propofol	5–7 mg/kg IV
IV sıvılar	Kristaloidler (Laktatlı Ringer, Normosol-R)	İlk resüsitasyonda 90 ml/kg/saat; ardından 2–6 ml/kg/saat. Sodyum >160 mEq/dL ise %0,45 NaCl +

		%2,5 dekstroz kullanın
	Kolloidler (hidroksietil nişasta, plazma)	10–20 ml/kg/gün
	Oxyglobin	10–30 ml/kg; 10 ml/saat
Antibiyotikler	Ampisilin	22 mg/kg 8 saatte bir IV
	Enrofloksasin	5–7 mg/kg, %0,9 NaCl ile 1:1 seyreltilerek 12 saatte bir IV
	Sefazolin	22 mg/kg 8 saatte bir IV
Gİ Koruma	Simetidin	5–10 mg/kg 8 saatte bir IV
	Ranitidin	0,5 mg/kg 12 saatte bir IV
	Sukralfat	Büyük köpek: 1 g PO günde 3 kez; Orta: 1/2 g PO günde 3 kez; Küçük: 1/4 g PO günde 3 kez
DIC Tedavisi	Taze donmuş plazma	10–20 ml/kg 4 saatte bir IV
	Heparin	50–100 Ü/kg 8 saatte bir SC; doz, birkaç günde kademeli azaltılır
Metabolik Asidoz	Sodyum bikarbonat	Hesap: $0,3 \times \text{kg} \times \text{baz açığı (mEq)}$. Hesabın %25–50'si yavaş IV; 30 dk sonra kan gazı tekrar
Hipokalemi	Potasyum klorür (20 mEq/10 ml)	IV infüzyon hızı $\leq 0,5$ mEq/kg/saat
Ventriküler Aritmiler	Lidokain %2	2–4 mg/kg yavaş IV; ardından 50–80 µg/kg/dk IV CRI
	Prokainamid	10–30 mg/kg 6 saatte bir PO; 8–20 mg/kg IV/IM; 25–50 µg/kg/dk IV CRI
Oligürik Böbrek Yetmezliği	Mannitol	0,5–1,0 g/kg IV
	Dopamin	3 µg/kg/dk IV
	Furosemid	2 mg/kg IV; 1 mg/kg/saat
Pulmoner Ödem	Furosemid	2–4 mg/kg IV
Santral Nörolojik Tedavi	Mannitol	1 g/kg IV
	Diazepam	0,5–1,0 mg/kg IV

Şok / Hipotansiyon	Dopamin veya Dobutamin	5–10 µg/kg/dk IV CRI
	Deksametazon Sodyum Fosfat	2–8 mg/kg IV
	Prednizolon Sodyum Süksinat	10–25 mg/kg IV

Not: CRI = sabit hızda infüzyon; IV = intravenöz; PO = ağızdan.

7. PROGNOZ

Köpeklerdeki sıcak çarpmasında erken müdahale, vücut sıcaklığının fizyolojik sınırlara düşürülmesi ve yoğun destekleyici tedaviye rağmen ortaya çıkan şiddetli enflamatuvar ve hemostatik bozuklukları düzeltmek için spesifik bir tedavi bulunmadığından, mortalite oranı insanlarda görülen sıcak çarpması vakalarına benzer şekilde yüksek olup yaklaşık %50 civarındadır (Bruchim ve ark., 2017). Serum BUN ile CREA değerleri renal veya prerenal azoteminin varlığını gösterir ve CREA 132,60 µmol/L'den yüksek konsantrasyonlara ulaştığında prognozun kötü olduğunun bir emaresi olarak kabul edilir (Caldas ve ark., 2022). Sıcak çarpması vakalarında sistemik komplikasyonlar ve mortalite oranları yüksek olduğundan, tedavi süreci zorlu, komplike ve maliyetli olup prognoz belirsizdir (Aroch ve ark., 2009). İnsanlarda olduğu gibi, sıcak çarpması geçiren köpeklerin prognozu, tedaviye başlanmadan önce hipertermi süresine ve şiddetine göre değişkenlik göstermektedir. Ayrıca prognoz, altta yatan herhangi bir bozukluğun olup olmamasına göre farklı olabilir. Hayati tehlike arz eden komplikasyonların gelişme olasılığı yüksektir. Bu nedenle çoğu köpek için prognoz başlangıçta risklidir. Köpek sahipleri, hastaneye gitmeden önce veterinerin etkili soğutma talimatlarını uygulayarak hayatta kalma olasılığını artırabilir. Uygun iklimlendirme, yeterli havalandırma, gölgede tutma ve serin içme suyuna serbest erişim sağlanırsa sıcak çarpması büyük ölçüde önlenabilir (Flournoy ve ark., 2003). Hastanın prognozu çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte mortalite %64'e kadar da çıkabilmektedir ve çoğu durumda da tedaviye başladıktan sonraki ilk 24 saatte ölümler ortaya çıkabilmektedir. İyileşme süresi ise hayvanın ne kadar hızlı yanıt verdiğine bağlı olup komplikasyonların ortaya çıkması durumunda birkaç gün ile birkaç hafta arasında değişiklik gösterebilir. Birçok organın etkilendiği ve belirtileri olmasına rağmen hastanede 72 saatten daha fazla tedavi gören köpeklerin

tamamı hayatta kaldığı belirlenmiştir (Bruchim ve ark., 2006; Drobatz ve Macintire, 1996; Flournoy ve ark., 2003). İyileşen hayvanlar genellikle yüksek sıcaklıklara daha az maruz kalan hayvanlar olduğu belirlenmiş olup ne kadar uzun süre şiddetli hipertermik kalırsa hayati organ sistemlerinde meydana gelen hasar o kadar büyük olur. Hayvan sahipleri böbrek, karaciğer ve kalpte kalıcı hasara neden olabileceği yönünde bilgilendirilmelidir. Sıcak çarpması yaşayan köpeklerde nörolojik bozukluklara neden olabilir ve gelecekte sıcak çarpmasına olan yatkınlık artabilir (Flournoy ve ark., 2003).

8. KORUMA VE KONTROL

Köpeklerde sıcak çarpmasının ilk basamağı patogeneze göz önüne alınarak bu durumun oluşumunun önlenmesi için koruma ve kontrol kapsamında, ilk planda hasta sahiplerinin eğitimi ve farkındalığının artırılmasıyla mümkündür. Köpekler için fiziksel efor gerektiren egzersizler günün belirli saatlerinde ve gölgelik yerlerde yapılmalı, obez hayvanlar ise ısıyı dağıtmakta zorlandıkları için egzersiz yaptırırken dikkatli olunmalıdır (Mann, 2012). Ayrıca açık renkli deri ve tüye sahip hayvanlarda güneşe karşı korunma sağlanmalıdır. Güneşli ve çok sıcak günlerde ise hayvanlar arabada bırakılmamalı, hipertermi durumlarında hayvanları soğutmak için buzlu su veya buz kullanmaktan kaçınılmalı ve hastaneye başvurmadan önceki süreçte hasta sahiplerine ilk yardım konusunda yeterli ve doğru bir şekilde bilgilendirilmelidir (Mann, 2012). Sadece iyi durumdaki hayvanlar, sıcak ortamlarda çok kısa süreli şiddetli aktiviteye maruz bırakılabilir. İnsanların sıcak bir ortama kısmen alışması için gereken süre 7 ile 21 gün arasında olup (Aoyagi ve ark., 1997; Curley, 1996; Senay ve ark., 1976) köpeklerde de benzer bir zaman diliminin gerekli olması muhtemel görünmekte olup hatta bazı köpeklerde tam bir adaptasyonun sağlanabilmesi için 2 ay gibi uzun bir süre de gerekebilmektedir (Shannon ve ark., 2003). Köpeklerde sıcak çarpmasının daha çok yaz aylarının başında görülmesinin nedenleri arasında köpeklerin bulunduğu ortama adaptasyonun yanlış yapılmasından kaynaklanmasıdır (Drobatz ve Macintire, 1996). İş köpeklerinde klinik olarak gölgede yatmak ya da dinlenmek için yer araması, aşırı nefes darlığı ve egzersiz intoleransı gibi sıcaklık stresi belirtilerinin patolojik bozukluklara yol açmadan önce belirlenmesi önemlidir (Gordon, 2017). Ayrıca yeterli havalandırmanın sağlanması, köpeğin doğrudan güneş ışığına maruz

kalmayacağı bir ortamın sağlanması ve taze içme suyuna serbest şekilde erişimin sağlanması ısı çarpmasının önlenmesinde önemli yer tutar (Flournoy ve ark., 2003). Hayvanlar yeterli vücut kondisyonunda tutulmalı, düzenli olarak veteriner hekimler tarafından kontrolleri yapılmalı, gündüzleri sıcakta uzun süre kalmaktan ve direkt güneş ışınına maruziyetinden kaçınılmalıdır. Bu duruma predispoze olacak şartlarda veya ortamlarda bulunan hayvanların vücut ısını düzenli olarak takip edilmesi önem arz etmektedir. Çünkü bazı köpekler komatöz hale gelene kadar yüksek sıcaklıkta yoğun şekilde çalışmaya devam edebilmektedir (Gordon, 2017). Ayrıca, açık havada 30 °C'nin üzerindeki ortam sıcaklıklarında maksimum 15 dakika çalıştırılmalı ve hayvanların çalışma döngüleri arasındaki dinlenme süreleri en az 40 dakika olmalıdır. Bakımları ve sıvı kaybının önlenmesi için yeterli miktarda su (40-60 ml/kg/gün) sağlanarak da hayvan refahı gözetilmelidir (Gordon, 2017).

KAYNAKÇA

- Ali, J., Chernicki, W., & Wood, L. (1979). Effect of furosemide in canine low-pressure pulmonary edema. *The Journal of clinical investigation*, 64(5), 1494-1504.
- Allan, R. P., Barlow, M., Byrne, M. P., Cherchi, A., Douville, H., Fowler, H. J., Gan, T. Y., Pendergrass, A. G., Rosenfeld, D., & Swann, A. L. (2020). Advances in understanding large-scale responses of the water cycle to climate change. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1472(1), 49-75.
- Alzeer, A. H., El-Hazmi, M. A., Warsy, A. S., Ansari, Z. A., & Yrkendi, M. S. (1997). Serum enzymes in heat stroke: prognostic implication. *Clinical chemistry*, 43(7), 1182-1187.
- Andress, M., & Goodnight, M. E. (2013). Heatstroke in a military working dog. *US Army Medical Department Journal*.
- Aoyagi, Y., McLellan, T. M., & Shephard, R. J. (1997). Interactions of physical training and heat acclimation. *Sports Medicine*, 23(3), 173-210.
- Aroch, I., Segev, G., Loeb, E., & Bruchim, Y. (2009). Peripheral nucleated red blood cells as a prognostic indicator in heatstroke in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 23(3), 544-551.
- Blois, S. (2017). Hyper-and hypocoagulable states. *Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and the cat. St. Louis, MO, USA: Elsevier*.
- Bouchama, A., & Knochel, J. P. (2002). Heat stroke. *New England Journal of Medicine*, 346(25), 1978-1988.
- Bouchama, A., Roberts, G., Al Mohanna, F., El-Sayed, R., Lach, B., Chollet-Martin, S., Ollivier, V., Al Baradei, R., Loualich, A., & Nakeeb, S. (2005). Inflammatory, hemostatic, and clinical changes in a baboon experimental model for heatstroke. *Journal of Applied Physiology*, 98(2), 697-705.
- Bruchim, Y. (2018). Management of heat stroke in the dog. *World Small Animal Veterinary Association Congress Proceedings*. Veterinary Information Network.

- Bruchim, Y., Aroch, I., Eliav, A., Abbas, A., Frank, I., Kelmer, E., Codner, C., Segev, G., Epstein, Y., & Horowitz, M. (2014). Two years of combined high-intensity physical training and heat acclimatization affect lymphocyte and serum HSP70 in purebred military working dogs. *Journal of Applied Physiology*, 117(2), 112-118.
- Bruchim, Y., Horowitz, M., & Aroch, I. (2017). Pathophysiology of heatstroke in dogs—revisited. *Temperature*, 4(4), 356-370.
- Bruchim, Y., Kelmer, E., Cohen, A., Codner, C., Segev, G., & Aroch, I. (2017). Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 27(3), 315-324.
- Bruchim, Y., Klement, E., Saragusty, J., Finkeilstein, E., Kass, P., & Aroch, I. (2006). Heat stroke in dogs: a retrospective study of 54 cases (1999–2004) and analysis of risk factors for death. *Journal of veterinary internal medicine*, 20(1), 38-46.
- Bruchim, Y., Loeb, E., Saragusty, J., & Aroch, I. (2009). Pathological findings in dogs with fatal heatstroke. *Journal of comparative pathology*, 140(2-3), 97-104.
- Bruchim, Y., Segev, G., Kelmer, E., Codner, C., Marisat, A., & Horowitz, M. (2016). Hospitalized dogs recovery from naturally occurring heatstroke; does serum heat shock protein 72 can provide prognostic biomarker? *Cell Stress and Chaperones*, 21(1), 123-130.
- Caldas, G. G., da Silva, D. O. B., & Junior, D. B. (2022). Heat stroke in dogs: Literature review. *Veterinarni Medicina*, 67(7), 354.
- Cassutto, B. H., & Gfeller, R. W. (2003). Use of intravenous lidocaine to prevent reperfusion injury and subsequent multiple organ dysfunction syndrome. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 13(3), 137-148.
- Clark, A. E. (2022). Heatstroke and brachycephalic dogs—is there an increased risk? *Veterinary Evidence*, 7(4).
- Curley, F. (1996). Disorders of temperature control: Hyperthermia. *Intensive Care Medicine*.
- Davis, M. S., Cummings, S. L., & Payton, M. E. (2017). Effect of brachycephaly and body condition score on respiratory

- thermoregulation of healthy dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 251(10), 1160-1165.
- Drobatz, K., & Macintire, D. (1996). Heat-induced illness in dogs: 42 cases (1976-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 209(11), 1894-1899.
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., & Cote, E. (2017). *Textbook of Veterinary Internal Medicine-Inkling E-Book*. Elsevier health sciences.
- Flournoy, W. S., Macintire, D. K., & Wohl, J. S. (2003). Heatstroke in dogs: clinical signs, treatment, prognosis, and prevention. *Compendium*, 25(6), 422-431.
- Flournoy, W. S., Wohl, J. S., & Macintire, D. K. (2003). Heatstroke in dogs: pathophysiology and predisposing factors. *Compendium: continuing education for veterinarians*, 25(6), 410-418.
- Gerner, C., Vejda, S., Gelbmann, D., Bayer, E., Gotzmann, J., Schulte-Hermann, R., & Mikulits, W. (2002). Concomitant determination of absolute values of cellular protein amounts, synthesis rates, and turnover rates by quantitative proteome profiling. *Molecular & Cellular Proteomics*, 1(7), 528-537.
- Gordon, L.E. Hyperthermia and Heatstroke in the Working Canine; USAR Veterinary Group: Beverly, MA, USA, 2017; Available online: accessed on 17 August 2025.
- Hall, D. M., Buettner, G. R., Oberley, L. W., Xu, L., Matthes, R. D., & Gisolfi, C. V. (2001). Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(2), H509-H521.
- Hall, E. J., Carter, A. J., Bradbury, J., Barfield, D., & O'Neill, D. G. (2021). Proposing the VetCompass clinical grading tool for heat-related illness in dogs. *Scientific Reports*, 11(1), 1-11.
- Hall, E. J., Carter, A. J., & O'Neill, D. G. (2020). Incidence and risk factors for heat-related illness (heatstroke) in UK dogs under primary veterinary care in 2016. *Scientific reports*, 10(1), 9128.
- Harringer, W., Hodakowski, G., Svizzero, T., Jacobs Jr, E., & Vlahakes, G. (1992). Acute effects of massive transfusion of a bovine hemoglobin blood substitute in a canine model of hemorrhagic shock. *European journal of cardio-thoracic surgery*, 6(12), 649-654.

- Hemmelgarn, C., & Gannon, K. (2013a). Heatstroke: clinical signs, diagnosis, treatment, and prognosis. *Compend Contin Educ Vet*, 35(7), E3.
- Hemmelgarn, C., & Gannon, K. (2013b). Heatstroke: thermoregulation, pathophysiology, and predisposing factors. *Compend Contin Educ Vet*, 35(7), E4.
- Holloway, S. (1992). Heatstroke in dogs. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Hongjun, K., Qing, S., Yan, Z., Liang, P., Hui, L., & Feihu, Z. (2015). Fluid resuscitation and standard drug treatment strategies in heatstroke Chinese patients. *Drug research*, 65(01), 18-23.
- Horowitz, M., & Samueloff, S. (1988). Cardiac output distribution in thermally dehydrated rodents. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 254(1), R109-R116.
- King, M. A., Leon, L. R., Morse, D. A., & Clanton, T. L. (2017). Unique cytokine and chemokine responses to exertional heat stroke in mice. *Journal of Applied Physiology*, 122(2), 296-306.
- Kirby, R., & Rudloff, E. (1997). The critical need for colloids: maintaining fluid balance. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian (USA)*.
- Laitano, O., Leon, L. R., Roberts, W. O., & Sawka, M. N. (2019). Controversies in exertional heat stroke diagnosis, prevention, and treatment. *Journal of Applied Physiology*, 127(5), 1338-1348.
- Larson, R. L., & Carithers, R. (1985). A review of heat stroke and its complications in the canine. *New Zealand Veterinary Journal*, 33(12), 202-206.
- Lee-Chiong Jr, T. L., & Stitt, J. T. (1995). Disorders of temperature regulation. *Comprehensive therapy*, 21(12), 697-704.
- Lee, B. J., Clarke, N. D., Hankey, J., & Thake, C. D. (2018). Whole body precooling attenuates the extracellular HSP72, IL-6 and IL-10 responses after an acute bout of running in the heat. *Journal of Sports Sciences*, 36(4), 414-421.
- Legendre, A., & Toal, R. (2000). Kirk's Current Veterinary Therapy XIII Small Animal Practice.

- Leon, L. R., & Bouchama, A. (2015). *Heat stroke. Compr Physiol* 5: 611–647.
- Leon, L. R., & Helwig, B. G. (2010a). Heat stroke: role of the systemic inflammatory response. *Journal of Applied Physiology*, 109(6), 1980-1988.
- Leon, L. R., & Helwig, B. G. (2010b). Role of endotoxin and cytokines in the systemic inflammatory response to heat injury. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2(3), 916-938.
- Lin, M., Liu, H., & Yang, Y. (1997). Involvement of interleukin-1 receptor mechanisms in development of arterial hypotension in rat heatstroke. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 273(4), H2072-H2077.
- Mann, S. (2012). Canine heat-induced hyperthermia and owner education. *The Veterinary Nurse*, 3(8), 478-484.
- Mathews, K. A. (2000). Nonsteroidal anti-inflammatory analgesics: Indications and contraindications for pain management in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 30(4), 783-804.
- Miki, K., Morimoto, T., Nose, H., Itoh, T., & Yamada, S. (1983). Circulatory failure during severe hyperthermia in dog. *The Japanese journal of physiology*, 33(2), 269-278.
- Moon, K. E., Wang, S., Bryant, K., & Gohlke, J. M. (2021). Environmental heat exposure among pet dogs in rural and urban settings in the Southern United States. *Frontiers in veterinary science*, 8, 742926.
- Palley, L., & Fox, J. (1992). Kirk's current veterinary therapy XI: small animal practice.
- Quinn, C. M., Audet, G. N., Charkoudian, N., & Leon, L. R. (2015). Cardiovascular and thermoregulatory dysregulation over 24 h following acute heat stress in rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 309(4), H557-H564.
- Rabelo, R. (2012). *Emergências em pequenos animais: Condutas clínicas e cirúrgicas no paciente grave*. Elsevier Brasil.
- Ramanathan, M., Pedersen, M., Ramsey, R., & Seetharam, A. (2015). Diagnostic value of coagulation factor and intracranial pressure monitoring in acute liver failure from heat stroke: Case report and review of the literature. *Transplantation Proceedings*, 47(3), 817–819.

- Romanucci, M., & Salda, L. D. (2013). Pathophysiology and pathological findings of heatstroke in dogs. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 1-9.
- Segev, G., Aroch, I., Savoray, M., Kass, P. H., & Bruchim, Y. (2015a). A novel severity scoring system for dogs with heatstroke. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(2), 240-247.
- Segev, G., Daminet, S., Meyer, E., De Loor, J., Cohen, A., Aroch, I., & Bruchim, Y. (2015b). Characterization of kidney damage using several renal biomarkers in dogs with naturally occurring heatstroke. *The Veterinary Journal*, 206(2), 231-235.
- Senay, L., Mitchell, D., & Wyndham, C. (1976). Acclimatization in a hot, humid environment: body fluid adjustments. *Journal of Applied Physiology*, 40(5), 786-796.
- Shapiro, Y., Rosenthal, T., & Sohar, E. (1973). Experimental heatstroke: a model in dogs. *Archives of Internal Medicine*, 131(5), 688-692.
- Stanton, M. E., & Bright, R. M. (1989). Gastroduodenal ulceration in dogs: retrospective study of 43 cases and literature review. *Journal of veterinary internal medicine*, 3(4), 238-244.
- Tocci, L. J. (2010). Transfusion medicine in small animal practice. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(3), 485-494.
- Tripovich, J., Wilson, B., McGreevy, P., & Quain, A. (2023). Incidence and risk factors of heat-related illness in dogs from New South Wales, Australia (1997–2017). *Australian Veterinary Journal*, 101(12), 490-501.
- Bonagura, J. D. (Ed.). (2000). *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII: Small Animal Practice*. W.B. Saunders.
- Whitaker, D. T., & Ostrander, E. A. (2019). Hair of the dog: identification of a cis-regulatory module predicted to influence canine coat composition. *Genes*, 10(5), 323.
- Wong, B. J., & Hollowed, C. G. (2017). Current concepts of active vasodilation in human skin. *Temperature*, 4(1), 41-59.
- Zurovski, Y., Eckstein, L., & Horowitz, M. (1991). Heat stress and thermal dehydration: lactacidemia and plasma volume regulation. *Journal of Applied Physiology*, 71(6), 2434-2439.

BÖLÜM 8

MANDALARDA ÜREME PERFORMANSINI GELİŞTİRME YAKLAŞIMLARI

Öğr. Gör. Dr. Taha GÜRSOY ¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410072>

1

¹ Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Tarım, Hayvancılık ve Gıda Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi (Orcid ID: 0000-0001-8642-2527), tgursoy@mehmetakif.edu.tr

1. Giriş

Manda sütü, yüksek besin değeri ve özgün aroması nedeniyle hem yerel hem de küresel ölçekte artan ekonomik öneme sahiptir. Hindistan ve Pakistan gibi ülkelerde temel gıda maddesi olan manda sütü, ticari talebin artmasıyla birlikte manda varlığı artma eğilimindedir. Ancak, mandalarda fertilite bozuklukları karlılığı etkilemektedir. Zayıf östrus belirtileri, mevsimsel kızgınlık göstermeme, uzun postpartum anöstrus, gecikmiş puberta ve uzayan buzağılama aralıkları gebelik oranlarının düşmesine yol açmaktadır (Marai ve Haebe, 2010). Bu sorunların aşılmasında yardımcı üreme teknolojileri (YÜT) ön plana çıkmaktadır. Özellikle sabit zamanlı suni tohumlama (FTAI), ovulasyon senkronizasyonu yoluyla gebelik oranlarını artırmaktadır (Marin ve ark., 2019; Ciornei ve Roşca, 2023). Bununla birlikte in vitro embriyo üretimi, oosit kriyoprezervasyonu ve somatik hücre nükleer transferi gibi ileri teknikler, yüksek maliyetleri nedeniyle mandalarda yaygın kullanım bulmamaktadır (Chohan, 1998; Yang ve ark., 2012). Genetik ilerlemenin desteklenmesi açısından östrus senkronizasyonu kritik önemdedir. Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), follikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), at koryonik gonadotropin (eCG), insan koryonik gonadotropin (hCG), prostaglandinler (PG'ler), progesteron ve estradiol içeren hormon ilişkilerinin daha kapsamlı araştırılmıştır (De Rensis ve Lopez-Gatius, 2007). Ancak LH dalgalanması ile ovulasyon arasındaki süreye ilişkin bilgiler halen sınırlıdır (Barile ve ark., 2015). Fertiliteyi olumsuz etkileyen diğer önemli faktörler üreme sistemi patolojileridir. Endometrit, metrit, kistik ovaryum, pyometra ve anöstrus gibi hastalıklar doğru tanı ve tedavi yöntemleri ile kontrol altına alınabilmektedir. Genel olarak, manda yetiştiriciliğinde sürdürülebilirlik, fertilite sorunlarının YÜT uygulamaları ve uygun hormonal senkronizasyon protokolleri ile yönetilmesine bağlıdır (Hamouda ve Al-Shabebi, 2020).

2. Mandalarda YÜT Teknolojileri

Suni tohumlama (AI) üreme teknolojilerinde ki güncel çalışmalar ile birlikte kolaylıkla uygulanabilmektedir (Inderjeet ve Balhara, 2016). Manda üreme fizyolojisi, sperm kriyoprezervasyon protokolleri ve östrus senkronizasyonlarının gelişmesi ile daha iyi anlaşılabilir (Longobardi ve ark., 2017; Zullo ve ark., 2016). Zayıf östrus ve mevsime bağlı kızgınlık sorunlarını azaltmak için FTAI yapılmaktadır. Güçlü östrusun dominant

follikülün varlığına bağlı olduğu bildirilmiştir (Purohit ve ark., 2019). Corpus luteum (CL), hem PGF2 α hemde progesteron temelli senkronizasyon protokellerinde gereklidir. Östrus senkronizasyonu (ES), prostaglandin kaynaklı luteoliz sonrası dominant follikülün (DF) ovulasyona ilerlemesi yoluyla veya DF'nin atrezisi ve olgunlaşan yeni bir DF gelişmesi yoluyla çalışır (Perera, 2011).

2.1. Manda İçin Östrus Senkronizasyonu Protokolleri

2.1.1. Ovsynch Protokolü

Mandalarda yaygın olarak kullanılan Ovsynch protokolü (Tablo 1), ovulasyonu senkronize ederek suni tohumlamanın uygun zamanda yapılmasını sağlar (Coman ve ark., 2024). İlk GnRH uygulaması mevcut dominant follikülün ovulasyonunu uyararak yeni bir folliküler dalganın başlamasına yol açar. Ardından, corpus luteum'un (CL) luteolizini başlatmak amacıyla PGF2 α uygulanır. Bunu izleyen 48. saatte ikinci GnRH enjeksiyonu yapılır ve yeni gelişen dominant follikülün ovulasyonu indüklenir. Böylece suni tohumlama için en uygun zamanlama, ikinci GnRH uygulamasından 16–24 saat sonradır (Devkota ve ark., 2022). Protokolün başarısı; ilk GnRH uygulamasındaki folliküler dinamiklere, PGF2 α sonrası CL'nin varlığına ve luteolizin etkinliğine bağlıdır. Ayrıca ikinci GnRH'dan sonraki follikül çapı, östrus ve ovulasyon başarısını etkileyen önemli bir parametredir. Örneğin, yaz mevsiminde Ovsynch sonrası asiklik mandaların %60'ında, siklik mandaların ise %81'inde ovulasyon bildirilmiştir (Karen ve Darwish, 2010). Dominant follikülün 8 mm'den büyük olduğu durumlarda düvelerde %87,5, yetişkin mandalarda ise %100 ovulasyon oranı elde edilmiştir. Bununla birlikte, follikül gelişim evresine bağlı farklılıklar gözlenmiştir; erken dalga döneminde ovulasyon oranı %75 iken, regresyon döneminde %16,7'ye düşmektedir (Purohit, 2014). Ovsynch protokolünde östrus oranları %41,6–91,9, gebelik oranları ise %11,1–68,8 arasında değişmektedir. Üreme sezonunda ise östrus ve gebelik oranlarının belirgin şekilde artmıştır (Purohit, 2014).

Tablo 1: Ovsynch protokolü (Coman ve ark., 2024).

Senkronizasyon Protokolünün Adı	Protokol	Östrus İndüksiyon Oranı %	Fertilite Oranı %
Ovsynch	Gün 0 GnRH Gün 7 PGF2 α Gün 9 GnRH Gün 10 AI	Asiklik mandaların %60'ı, Siklik mandaların %81'i	20 20 – 40
İnsülin Ovsynch Protokolü	Gün 0 GnRH Gün 7 PGF2 α Gün 9 GnRH Gün 10 AI	81,9	66,6 – 40
Double Ovsynch Protokolü	Gün 0 GnRH Gün 7 PGF2 α Gün 9 GnRH Gün 16 PGF2 α Gün 18 GnRH Gün 19 AI	88,3	44,4
Mifepristone Ovsynch Protokolü	Gün 0 GnRH Gün 7 PGF2 α Gün 9 GnRH Gün 10 AI	82,4 – 86,1	45,4
Progesterone Protokolü	0. Gün – 15. Gün PRID	78	60
Prostaglandin Protokolü	Gün 0 PGF2 α Gün 11 PGF2 α 50–96 Saat sonra AI	60 Üreme Sezonunda 60 – 86,6	47,8 – 53
Heatsynch Protokolü	Gün 0 GnRH Gün 7 PGF2 α Gün 9 Östradiol Gün 10 AI	80	62
Estradoublesynch Protokolü	Gün 0 PGF2 α Gün 2 GnRH Gün 9 PGF2 α Gün 11 Östradiol Gün 12 AI	85	64

Son yıllarda protokolün etkinliğini artırmaya yönelik modifikasyonlar geliştirilmiştir. Özellikle insülin ve insülin benzeri büyüme faktörlerinin (IGF) folliküler gelişim üzerindeki düzenleyici etkileri nedeniyle, anöstrus mandalarda kullanılabilirliği araştırılmıştır. İnsülin, hepatik IGF-I salgısını artırarak gonadotropinlerle sinerjik etki gösterir ve folliküler gelişimi destekler (Kumar ve ark., 2013). Modifiye Ovsynch protokollerinde GnRH ve

PGF2 α ile birlikte insülin enjeksiyonu gebelik oranlarını yükseltmiştir. Nitekim insülin veya çift doz GnRH içeren protokollerde gebelik oranları %40'a ulaşırken, standart protokolde bu oran %20'de kalmıştır (Gupta ve ark., 2015). Bununla birlikte, klasik GnRH-PGF2 α -GnRH (G-P-G) protokolünde görülen erken ovulasyon ve sub-fonksiyonel CL (morfolojik olarak var olsa bile, progesteron üretimi az) sorunları mandalarda da gözlenmiştir. Alternatif uygulamalar da umut verici sonuçlar sunmaktadır. Double-Ovsynch protokolü ovulasyon oranını %88,3'e, gebelik oranını %44,4'e yükseltmiştir (Hoque ve ark., 2014). İkinci GnRH ile eşzamanlı mifepiston uygulaması östrus (%82,4), ovulasyon (%94,1) ve gebelik (%47,1) oranlarını artırmıştır (Abulaiti ve ark., 2021). Estradiol temelli Heatsynch ve Estradoblesynch protokollerinde de özellikle Murrah mandalarında yüksek ovulasyon ve gebelik oranları elde edilmiştir (Mirmahmoudi ve ark., 2014; Karuppanasamy ve ark., 2017).

Sonuç olarak, insülin veya estradiol içeren modifiye protokoller, mandalarda üreme performansını artırmakta ve östrus tespitine duyulan ihtiyacı azaltmaktadır. Ancak bu uygulamalar, standart Ovsynch'e kıyasla daha fazla iş gücü ve maliyet gerektirdiğinden, özellikle sıklık mandalarda üreme verimliliğini artırmada alternatif bir seçenek olarak değerlendirilmektedir.

2.1.2. Prostaglandinler

Prostaglandinler, mandalarda östrus senkronizasyonu için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Tablo 1). PG uygulaması, luteolizi tetikleyerek progesteron seviyelerini düşürür ve 50–96 saat içinde östrusu başlatır (Michael ve ark., 2020). Ancak etkinliği, hayvanların sıklık olması ve fonksiyonel bir CL varlığına bağlıdır; çünkü PG yalnızca luteal dokuya etki ederek dominant follikülün olgunlaşmasını ve östrus/ovulasyonu sağlar (Samir ve ark., 2023). Yanıt, uygulama sırasında mevcut CL ve dominant follikülün büyüklüğü ile fizyolojik duruma bağlıdır. Üreme mevsiminde östrus oranları genellikle yüksek olup, gebelik sonuçları buzağılama aralığı, beslenme ve mevsimsel faktörlerden etkilenir. Üreme sezonu dışında östrus oranları %60 civarında iken, üreme sezonunda östrus oranı %86,6 ve gebelik oranları %47,8–53 olarak bildirilmiştir (Honparkhe ve ark., 2008).

İntra-vulvo-submukozal PG uygulaması düşük etkinliği ve yüksek maliyeti nedeniyle sürdürülememiştir (Totewad ve ark., 2009). Bununla birlikte, üreme sezonunda 11–12 gün arayla yapılan çift PG enjeksiyonu, doğal çiftleşme veya FTAI kullanılan iyi yönetilen sürülerde östrus ve gebelik oranlarını artırmıştır (östrus %25–95, gebelik %22,8–83) (Hussain ve Honnappa, 2008; Purohit, 2014). Ancak, PG'nin tek başına kullanımı, sıklık hayvanların önceden belirlenmesini ve östrus tespiti gerektirdiğinden, gonadorelin veya progesteron ile kombine edilen protokollere göre daha az tercih edilmektedir.

2.1.3. Progesteron

Progesteron bazlı protokoller (Tablo 1), mandalarda östrus ve ovulasyonun kontrolünde güvenilir bir yöntem sunar. Bu protokoller, kızgınlık ve ovulasyon arasında öngörülebilir bir süre sağlayarak, özellikle büyük sürülerde kızgınlık tespitini kolaylaştırır. Progesterone Releasing intravaginal Device intravaginal (PRİD), intravaginal progesteron salan preparattır. Progesteron, FSH ve LH salgısını baskılayarak folliküllerin atrezisini tetikler; PRİD çıkarıldığında bu baskı ortadan kalkar, yeni bir folliküler dalga başlar ve ovulasyona hazır dominant follikül gelişir (Suadsong, 2011). Progesteron temelli protokoller, ovulasyon senkronizasyonunu ve follikül gelişimini optimize ederek gebelik oranlarını artırmakta, standart Ovsynch protokolüne kıyasla başarıyı %30'dan %60'a yükseltmektedir (Singh ve ark., 2009; Neglia ve ark., 2020). Progesteron uygulaması intravajinal implant veya enjeksiyonlarla yapılabilir. İmplant kontrollü salınım sağlarken maliyetli olup uzmanlık gerektirir; enjeksiyonlar daha pratik olmasına karşın sık tekrar gerektirdiğinden hayvanlarda stres oluşturabilir (Ghuman ve ark., 2014). Ayrıca intravajinal implantlar vajinal flora üzerinde bozucu etki yaparak enfeksiyon, vajinit ve endometrit riskini artırabilir ve fertilitiyi olumsuz etkileyebilir.

2.2. Suni Tohumlama

Genetik ilerlemeyi hızlandırma, üreme verimliliğini artırma ve bulaşıcı hastalıkları kontrol etme açısından suni tohumlama önemli biyoteknolojik yöntemdir (Rossi ve ark., 2014; Neglia ve ark., 2018). Östrus senkronizasyonu (ES) ve AI uygulamalarına rağmen gebelik oranları genellikle %40–50 civarındadır.

3. Uygun Ovulasyon ve Fertilizasyon İçin Hormonal Müdahaleler ve Protokoller

Mandalarda ovulasyon ve CL oluşumu, çeşitli hormonal uygulamalarla desteklenmektedir. GnRH, LH ve FSH salınımını uyararak ovulasyon ve CL gelişimini indükler ve yaklaşık %80 oranında ovulasyonu tetikler (Carvalho ve ark., 2007). Zaman ayarlı suni tohumlama (TAI) protokollerinin etkinliği, uygulama sırasında follikül büyüklüğü ile doğrudan ilişkilidir; daha büyük folliküller daha büyük CL oluşturarak progesteron seviyelerini artırır ve gebeliğin devamını kolaylaştırır (Monteiro ve ark., 2016; Haider ve ark., 2021). Ancak zayıf östrus belirtileri ve geciken ovulasyon, suni tohumlama başarısını azaltmaktadır. Ovsynch ve progesteron bazlı protokoller bu sorunları minimize etmeye yardımcı olur; örneğin, PRID çıkarıldıktan 65–75 saat sonra ovulasyonun gerçekleşmesi, AI zamanlaması açısından kritik öneme sahiptir (Carvalho ve ark., 2007; Haider ve ark., 2015). LH doğrudan ovulasyonu tetiklerken, hCG LH benzeri etki ile follikül luteinizasyonunu ve uygun CL oluşumunu destekler; eCG ise hem LH hem FSH etkisiyle follikül gelişimini ve ovulasyonu uyarır. Ancak Ovsynch protokolünde son GnRH'nin hCG ile değiştirilmesi plazma progesteron seviyelerini yükseltse de gebelik oranlarını artırmamıştır (Carvalho ve ark., 2007). GnRH ve hCG uygulamaları, özellikle gün ışığı süresinin kısa olduğu dönemlerde benzer etkilere sahip olup, üreme yönetiminde etkili alternatiflerdir (Butani ve ark., 2016).

Suni tohumlama sonrası progesteron desteği, mandaların üreme performansını artırmak için önemlidir. Progesteron, ovulasyon için gerekli hormonal dengeyi sağlar, interferon salgısını ve erken embriyo gelişimini destekleyerek gebelik oranlarını artırabilir. Repeat breeder mandalarda, suni tohumlamadan 4–5 gün sonra uygulanan progesteron, gebelik oranlarını %10–20 artırmıştır (Butani ve ark., 2016). Hafif genital enfeksiyonlar ise intrauterin infüzyonlar veya parenteral antibiyotiklerle kontrol altına alınabilir (Sah ve Nakao, 2010). Bu iki uygulamanın kombinasyonu, CL fonksiyonunu optimize ederek gebeliğin oluşumu ve sürdürülmesine katkı sağlar, ovulasyon zamanlamasını hassas biçimde kontrol eder ve sürülerin genel üreme performansını iyileştirir.

4. Manda Sürülerinde AI ve Buzağılama Aralığının Optimize Edilmesi: Üreme Sistemini Etkileyen Yaygın Fonksiyonel ve İnflamatuvar Patolojilerin Teşhisi ve Tedavisi

Mandalarda fertilite ile ilgili problemlerin belirlenmesinde, klinik muayene ile birlikte ultrasonografi gibi ileri tanı yöntemlerinin birlikte kullanılması gerekmektedir. Hormonal tedaviler, öncelikle ovaryum disfonksiyonlarında uygulanırken; antibiyotikler ve antiinflamatuvar ilaçlar, enfeksiyonlar ve doğum sonrası komplikasyonların tedavisinde etkin biçimde kullanılmaktadır. Bu bölümde, mandalarda en sık rastlanan üreme sistemi patolojileri, tanı yöntemleri, tedavi yaklaşımları ve prognoz açısından ele alınacaktır.

4.1. Anöstrus

Anöstrus, sağmal mandalarda östrus davranışının gözlemlenememesi ile karakterize önemli bir üreme sorunudur. Nepal'in güneyinde yapılan bir saha çalışmasında, 104 anöstrus inek ve 111 düvede, ineklerin %61,4'ünde ve düvelerin %76,6'sında gerçek anöstrus (ovaryum fonksiyon bozukluğu) saptanırken; ineklerin %33,3'ünde ve düvelerin %18,9'unda zayıf ovulasyon gözlenmiştir. Anöstrus süresi genellikle uzamakta ve son çiftleşmeden tanıya kadar geçen süre beş ayı aşabilmektedir (Devkota ve ark., 2013). CL bulunan inek ve düvelerde PGF2 α uygulaması, vitamin-mineral takviyelerine kıyasla 1–2 ay içinde gebelik oranlarını artırmıştır. İnaktif veya dominant follikül taşıyan hayvanlarda GnRH uygulaması da gebelik oranlarını artırmaktadır. Bu bulgular, sağmal mandalarda anöstrusun temel nedeninin inaktif ovaryumlarla ilişkili gerçek anöstrus olduğunu ve bu durumun buzağılama sonrası ve çiftleşme sonrası anöstrus süresini uzattığını göstermektedir (McDougall, 2010; Purkayastha ve ark., 2015).

Gerçek anöstrus vakalarında folliküler dalgalar oluşmasına rağmen dominant follikül genellikle ovulasyona ulaşmadan regrese olur; bu durum, folliküler seçim ve dominans gibi aşamalarda ki aksaklıklardan kaynaklanmaktadır (Ghuman ve ark., 2010; Puranik ve ark., 2010). El-Wishy (2007), anöstrusu dört formda sınıflandırmıştır: gerçek anöstrus, suböstrus, uzamış luteal aktivite ve ovaryum kistleri. Östrus belirtilerinin belirsizliği nedeniyle gerçek anöstrus ile suböstrus arasındaki ayırım zordur. Tek rektal palpasyona dayalı tanı güvenilir değildir.

Fertiliteyi artırmak için hormonal yaklaşımlar geliştirilmiştir. İnsülin uygulaması, hipotalamus-hipofiz-gonadal eksenini uyararak GnRH ve LH salgısını artırmakta, periferik ve follikül içi IGF düzeylerini yükselterek follikül gelişimi ve ovulasyonu desteklemektedir. Anöstrus mandalarda insülin ile östrus oranı %88,9 ve gebelik oranı %66,7 iken, GnRH grubunda östrus %77,8 ve gebelik %55,6 bulunmuştur (Ghuman ve ark., 2010). Bu sonuçlar, insülinin GnRH'ye kıyasla daha yüksek etkinlik sağladığını göstermektedir.

Progesteron temelli uygulamalar da anöstrus tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. PRİD luteal fazı taklit ederek 7–10 gün boyunca progesteron sağlar. İmplant çıkarıldığında östrus ve ovulasyon yeniden başlatılır; uygulama genellikle PGF2 α veya eCG ile desteklenir. Bu protokoller sonrası östrus oranları %60–80, gebelik oranları ise %30–50 arasında değişmekte olup, üreme sezonunda başarı oranları daha yüksek olmaktadır (El-Wishy, 2007; Baruselli ve ark., 2004; Puranik ve ark., 2010).

4.2. Ovaryum Kistleri

Ovaryum kistleri, mandalarda önemli bir üreme patolojisi olup görülme sıklığı %3–30 arasında değişmektedir (Mittal ve ark., 2010). Hipotalamus-hipofiz-ovaryum eksenindeki endokrin dengesizlikler, gonadotropin salgısında değişikliklere yol açarak DF'nin ovule olamamasına neden olmaktadır. Beslenme yetersizlikleri, stres ve genetik yatkınlık da kistik oluşumları tetikleyen diğer faktörlerdir. Kistik ovaryum hastalığı (COD) görülen mandalarda serum FSH düzeyleri genellikle düşük veya normal, LH düzeyleri ise normal veya yüksek; inhibin seviyeleri artmış, ovaryum düzeyinde LH ve FSH reseptörlerinin ise yetersiz olduğu bildirilmiştir (Dixit ve ark., 1998). Ovaryum kistlerinin tedavisinde farklı hormonal yaklaşımlar kullanılmaktadır. GnRH, kistik folliküllerin luteinizasyonunu ve ovulasyonunu uyararak %70 olguda kist boyutunda küçülme ve %60 olguda 21 gün içinde normal östrus siklusuna dönüş sağlamıştır (Noseir ve Sosa, 2015). GnRH ile PGF2 α kombinasyonu %65 oranında başarı sağlanırken, progesteron uygulamalarında %55 oranında başarılı bulunmuştur (Purohit, 2015).

Ultrasonografi, kistlerin yapısal özelliklerini belirleyerek tedavi başarısını öngörmeye kritik öneme sahiptir. İnce duvarlı ve anekojenik

folliküler kistler GnRH tedavisine %75 oranında yanıt verirken, kalın duvarlı ve heterojen luteal kistler %70 oranında PGF2 α 'ya yanıt göstermektedir. GnRH/PGF2 α kombinasyonu özellikle heterojen yapıli kistlerde %80 başarı sağlamaktadır (Mittal ve ark., 2010; Purohit, 2015; AL-Jabri ve ark., 2019). Ovaryumda ki yapıların doğru değeriendirilmesi, tanı doğruluğunu artırmakla kalmayıp, tedavi yöntemlerinin bireyselleştirilmesine olanak vererek ovaryum kisti yönetiminin etkinliğini artırmaktadır.

4.3. Metrit ve Endometrit

Doğum sonrası metrit ve endometrit, mandalarda fertilitenin düşmesine ve ekonomik kayıplara yol açan önemli üreme patolojileridir. Metrit, doğum sonrası akut endometriyum iltihabı ile karakterize iken, endometrit kronik ve kalıcı olabilen bir inflamasyondur (Azawi ve ark., 2008). Metrit genellikle plasentanin atılamaması ve puerperal komplikasyonlarla ilişkilidir; başlıca etkenler *Escherichia coli* (E. Coli), *Archanobacterium pyogenes* (A. Pyogenes), *Bacteroides fragilis* ve *Fusobacterium necrophorum* (F. Necrophorum)' dur. Özellikle A. pyogenes ve F. necrophorum şiddetli uterus iltihaplarında patojenler olarak öne çıkar (Azawi ve ark., 2008). Metrit tedavisinde PGF2 α ile birlikte sistemik oksitetrasiklin kullanımı, gebelik oranlarını anlamlı şekilde artırmaktadır ancak uterus içi oksitetrasiklin infüzyonunun, sistemik uygulamaya göre daha fazla bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (Malinowski ve ark., 2011). PGF2 α , klinik iyileşme oranlarını yükselterek doğum sonrası tedavide önemli rol oynar (Azawi, 2013). Endometrit, infertiliteye neden olabilen ciddi bir durumdur. Plasentanin atılamaması ve bakteri kolonizasyonu (E. coli, A. pyogenes, *Staphylococcus aureus*) predispozan faktörlerdendir. Tanı, vajinoskopi, transrektal palpasyon ve uterus akıntısının sitogenetik değeriendirmesi ile yapılmakta, polimorfonükleer hücre (PMN) sayısı ve biyokimyasal göstergeler (kreatin kinaz ve aspartat aminotransferaz) inflamasyon şiddetini yansıtmaktadır. Tedavide oksitetrasiklin ve tilosin'in lokal veya sistemik kullanımı, klinik iyileşme ve gebelik oranlarını artırmaktadır; östradiol uygulamasının belirgin etkisi gözlenmemiştir (Azawi, 2008).

Antibiyotik duyarlılık testleri, A. pyogenes'in amoksisilin/klavulanik asit, basitrasin, seftiofur ve sefapirin'e yüksek duyarlılık gösterdiğini, E. coli'nin ise norfloksasin, marbofloksasin, gentamisin ve

amoksisilin/klavulanik asit ile en etkili yanıt verdiğini ortaya koymuştur. Ancak oksitetrasiklin direnci dikkat çekicidir (Malinowski ve ark., 2011). Puerperal metrit tedavisinde, povidon-iyot intrauterin infüzyonu, sistemik sefoperazon ve tek doz kloprostenol kombinasyonu %94,4 klinik iyileşme sağlamış ve sırasıyla %52,9, %35,3 ve %5,8 oranlarında ilk, ikinci ve üçüncü suni tohumlamalarda gebelik elde edilmiştir (Verma ve ark., 2021). Mevcut bulgular, doğru tanı ve hedefe yönelik antibiyotik kullanımının önemini vurgulamakta olup, gelecekte doğal ve alternatif tedavi yaklaşımlarının araştırılması önerilmektedir.

4.4. Retensiyo Sekundinarum

Retensiyo Sekundinarum (RS), mandalarda doğum sonrası plasentanın atılamaması durumudur ve tedavi maliyeti, uterus involüsyonundaki gecikme, östrus aralığının uzaması, doğurganlıkta düşüş ve buzağılama aralıklarının artması nedeniyle ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Normalde sığır ve mandalarda plasenta, doğumdan 0,5–8 saat içinde atılır (Oresnik, 1995). RS insidansı mandalarda genellikle %10–15 arasında olup bazı çalışmalarda %16–18 olarak bildirilmiştir (Kunbhar ve lah Memon, 2011). Görülme sıklığı parite, ikizlik, erken doğum ve sürü koşullarına göre değişiklik göstermektedir; ortalama plasenta atılma süresi 3,33–4,93 saat arasındadır (Afridi ve ark., 2009; Channa ve ark., 2006).

RS vakalarında sıklıkla plasenta elle çıkarılmakta ve sonrasında antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır; vakaların %69,56'sında bu yöntem tercih edilmiştir (Saraswat ve Purohit, 2016; Dabas ve ark., 2011). Tedavi protokolleri genellikle oksitosin, kalsiyum ve antibiyotik uygulamaları ile desteklenmektedir. Alternatif olarak üç gün boyunca günde 40 mL intrauterin oksitetrasiklin uygulanmış ve akıntıların 3–5 gün içinde ortadan kalkmasını sağlayarak iyileşmeyi hızlandırmış ve süt verimini arttırdığı bildirilmiştir (Kumar ve Singh, 2009). Ayrıca streptopenisilin, meloksikam ve klorfeniramin maleat gibi ilaçların sistemik kullanımı; kas içi/damar içi ve vitamin infüzyonlarıyla birlikte uygulandığında RS ve ilişkili komplikasyonları etkin biçimde kontrol edebilmektedir.

RS'nin yönetiminde zamanında müdahale ve bütüncül yaklaşım, tedavi başarısı açısından kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte, son yıllarda RS terapötik yönetimine yönelik çalışmalar sınırlı kalmıştır. Alternatif ve güvenli

yaklaşımlar arasında mineral taş, müshil, astringent ve diğer doğal bileşenlerin dikkatli formülasyonları yer almakta olup, bu yöntemler antibiyotik kullanımını azaltarak süt ürünlerinde kalıntı riskini minimize etme potansiyeline sahiptir. Böylece hem hayvan sağlığı korunmakta hem de ekonomik kayıplar azaltılabilmektedir (Coman ve ark., 2024).

4.5. Repeat Breeder

Repeat breeder (RB) sendromu, düzenli östrus siklusu olmasına rağmen hayvanın üç veya daha fazla üst üste suni tohumlama veya doğal çiftleşme sonrası gebe kalamaması durumunu ifade eder. Sorun; düşük sperm kalitesi, uygun olmayan tohumlama zamanlaması, uterus enfeksiyonları ve yetersiz beslenme gibi çok sayıda faktörle ilişkilidir (Kumar ve Singh, 2009). İnsidans %0,7–30 arasında değişmekte olup mevsimsel etkiler önemli rol oynar; özellikle ilkbahar ve kış buzağılama dönemlerinde RB daha sık görülmektedir (Mohyuddin, 2019). Parite, peripartum hastalıklar ve sağım gibi predispozan faktörler de tabloyu etkiler. Etiyolojide en yaygın nedenler fertilite başarısızlığı ve erken embriyo ölümleridir (Modi ve ark., 2011). Mandalarda ovulasyon bozuklukları ve ovaryum kistleri nadiren klinik belirti gösterir. Erken embriyo ölümleri genellikle üreme sezonunun geç dönemlerinde ortaya çıkar ve düşük luteal progesteron düzeyleriyle ilişkilidir. Tanı yöntemleri vajinoskopi, transrektal muayene, uterus sitolojisi ve ultrasonografi/histeroskopi gibi ileri görüntüleme tekniklerini içerir, ancak kesin tanı zordur (Purohit, 2008). RB'nin ekonomik etkileri büyüktür; uzayan kuru dönemler, geciken gebelikler ve artan buzağılama aralıkları verimliliği düşürür. Bu kayıplar, infertilite ve kısırlık ile birleşerek yüksek maliyete ve hayvanların erken sürüden çıkarılmasına yol açabilir (Modi ve ark., 2011). Mevsimsel etkiler, periparturient bozukluklar ve metabolik dengesizlikler tablonun olumsuzluğunu artırmaktadır.

Tedavi ve yönetimde doğru östrus tespiti, embriyo transferi ve hormonal uygulamalar kritik öneme sahiptir. GnRH uygulaması, tekrar tohumlanan ineklerde gebe kalma oranlarını %7,6–25 artırmakta; suni tohumlamadan sonra yapılan hCG uygulamaları ise çoklu CL gelişimi, plazma progesteron seviyeleri ve 28., 45. ve 90. günlerdeki gebelik oranlarını anlamlı şekilde yükseltmektedir (Singh ve ark., 2000; Santos ve ark., 2001; Deka ve ark., 2021). Ayrıca, AI ile doğal çiftleşmenin kombine kullanımı, yalnızca tek

yönteme dayalı uygulamalara göre daha yüksek fertilitite sağlamaktadır (Purohit ve ark., 2014). Senkronizasyon protokolleri ve kapsamlı yönetim uygulamaları, özellikle ilk tohumlamadan sonra gebe kalmayan ineklerde, GnRH uygulaması ve yaklaşık 10 gün sonra yeniden tohumlama ile gebelik oranlarını artırmakta ve aralıkları kısaltmaktadır (Singh ve ark., 2000). Sonuç olarak, RB sendromunun azaltılmasında uygun zamanlama, doğru tohumlama teknikleri, hormonal destek ve etkin yönetim stratejileri mandalarda üreme performansının korunmasında temel yaklaşımlardır.

5. Sonuçlar

Suni tohumlama, mandalarda yaygın olarak kullanılan bir biyoteknolojik yöntemdir. Ancak özel yönetim koşulları nedeniyle genellikle östrus senkronizasyonu ile birlikte uygulanmaktadır. Bu kapsamda en sık tercih edilen protokol Ovsynch olup, bazı modifikasyonlarda GnRH yerine insülin de kullanılmaktadır. Öte yandan, anöstrus ve repeat breeder (RB) gibi üreme sorunları, bu süreçte aşılması gereken başlıca sorunlardır. Bu durum, mandalarda üreme performansının artırılması ve suni tohumlama başarısının optimize edilmesi için araştırma yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır. Gelecekte, uygulayıcıların fertilitiyi artırmak ve suni tohumlama süresini kısaltmak amacıyla, hormonal ve antibiyotik tedavilere olan bağımlılığı azaltacak doğal alternatif yöntemlere odaklanmaları önemlidir.

KAYNAKÇA

- Abulaiti, A., El-Qaliouby, H.S., El Bahgy, H. E., Naseer, Z., Ahmed, Z., Hua, G., Yang, L., 2021. GPGMH, a new fixed timed-AI synchronization regimen for swamp and river crossbred buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 646247.
- Afridi, G.S., Ishaq, M., Ahmad, S., 2009. Estimation of costs and returns and factor productivity in livestock enterprise in northern areas, Pakistan. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 7(1), 43-51.
- AL-Jabri, K.M.S., Al-Jubouri, A.A.K., AL-Hamary, A.K., Jasim, H.M., 2019. Relationship between hormonal change and ovarian cyst in buffalo. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(5), 2042-2047.
- Azawi, O.I., 2013. Pathogenesis of postpartum metritis in buffaloes: a review.
- Azawi, O.I., Omran, S.N., Hadad, J. J., 2008. A study on postpartum metritis in Iraqi buffalo cows: bacterial causes and treatment. *Reproduction in domestic animals*, 43(5), 556-565.
- Barile, V.L., Terzano, G.M., Pacelli, C., Todini, L., Malfatti, A., Barbato, O., 2015. LH peak and ovulation after two different estrus synchronization treatments in buffalo cows in the daylight-lengthening period. *Theriogenology*, 84(2), 286-293.
- Baruselli, P.S., Reis, E.L., Marques, M.O., Nasser, L.F., Bó, G.A., 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Animal reproduction science*, 82, 479-486.
- Butani, M.G., Dhami, A.J., Shah, R.G., Sarvaiya, N.P., Killedar, A., 2016. Management of repeat breeding in buffaloes under field conditions using hormonal and antibacterial therapies. *Buffalo Bulletin*, 35(1), 83-92.
- Carvalho, N.A.T., Nagasaku, E.M., Vannucci, F.S., Toledo, L.M., Baruselli, P.S. 2007. Ovulation and conception rates according intravaginal progesterone device and hCG or GnRH to induce ovulation in buffalo during the off breeding season. *Italian Journal of Animal Science*, 6(sup2), 646-648.

- Channa, A.A., Kunbhar, H.K., Samo, M.U., Mirbahar, K.B., Kaka, I., 2006. Treatment of retention of placenta and its effect on subsequent fertility rate in buffaloes.
- Chohan, K.R., 1998. Estrus synchronization with lower dose of PGF₂ α and subsequent fertility in subestrous buffalo. *Theriogenology*, 50(7), 1101-1108.
- Ciornei, S.G., Roşca, P., 2023. Upgrading the fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol in Romanian buffaloes. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1265060.
- Coman, S., Berean, D.I., Cimpean, R., Ciupe, S., Coman, I., Bogdan, L.M., 2024. Clinical modalities for enhancing reproductive efficiency in buffaloes: a review and practical aspects for veterinary practitioners. *Animals*, 14(18), 2642.
- Dabas, V. S., Chaudhari, C. F., Chaudhari, N. F., Modi, L. C., 2011. Retained placenta and its management in buffaloes. *Indian Buffalo J*, 9, 36-37.
- De Rensis, F, Lopez-Gatius, F., 2007. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review. *Theriogenology*, 67(2), 209-216.
- Deka, R.P., Magnusson, U., Grace, D., Randolph, T.F., Shome, R., Lindahl, J.F., 2021. Estimates of the economic cost caused by five major reproductive problems in dairy animals in Assam and Bihar, India. *Animals*, 11(11), 3116.
- Devkota, B., Nakao, T., Kobayashi, K., Sato, H., Sah, S.K., Singh, D.K., Yamagishi, N., 2013. Effects of treatment for anestrus in water buffaloes with PGF₂ α and GnRH in comparison with vitamin-mineral supplement, and some factors influencing treatment effects. *Journal of Veterinary Medical Science*, 75(12), 1623-1627.
- Devkota, B., Shah, S., Gautam, G., 2022. Reproduction and fertility of buffaloes in Nepal. *Animals*, 13(1), 70.
- Dixit, V.D., Singh, B., Singh, P., Georgie, G.C., Galhotra, M.M., Dixit, V.P., 1998. Circadian and pulsatile variations in plasma levels of inhibin, FSH, LH and testosterone in adult Murrah buffalo bulls. *Theriogenology*, 50(2), 283-292.
- El-Wishy, A.B., 2007. The postpartum buffalo: II. Acyclicity and anestrus. *Animal Reproduction Science*, 97(3-4), 216-236.

- Ghuman, S., Honparkhe, M., Singh, J., 2014. Comparison of ovsynch and progesterone-based protocol for induction of synchronized ovulation and conception rate in subestrous buffalo during low-breeding season. *Iranian journal of veterinary research*, 15(4), 375.
- Ghuman, S.P.S., Jagir Singh, J.S., Honparkhe, M., Dadarwal, D., Dhaliwal, G.S., Singh, S.T., 2010. Fate of dominant follicle in summer anestrus buffaloes.
- Gupta, K.K., Shukla, S.N., Inwati, P., Shrivastava, O.P., 2015. Fertility response in postpartum anoestrus buffaloes (*Bubalus bubalis*) using modified Ovsynch based timed insemination protocols. *Veterinary world*, 8(3), 316.
- Haider, M.S., Hassan, M., Khan, A.S., Husnain, A., Bilal, M., Pursley, J. R., Ahmad, N., 2015. Effect of timing of insemination after CIDR removal with or without GnRH on pregnancy rates in Nili-Ravi buffalo. *Animal reproduction science*, 163, 24-29.
- Haider, S., Chishti, G.A., Mehmood, M.U., Jamal, M. A., Mehmood, K., Shahzad, M., Tahir, M.Z., 2021. The effect of GnRH administration/insemination time on follicular growth rate, ovulation intervals, and conception rate of Nili Ravi buffalo heifers in 7-day-CIDR Co-synch. *Tropical Animal Health and Production*, 53(6), 558.
- Hamouda, M., Saber, A., Al-Shabebi, A., 2020. Incidence of infertility in female buffaloes due to some reproductive disorders. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 8(11), 1188-1193.
- Honparkhe, M., Singh, J., Dadarwal, D., Dhaliwal, G.S., Kumar, A., 2008. Estrus induction and fertility rates in response to exogenous hormonal administration in postpartum anestrous and subestrous bovines and buffaloes. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(12), 1327-1331.
- Hoque, M.N., Talukder, A.K., Akter, M., Shamsuddin, M., 2014. Evaluation of ovsynch protocols for timed artificial insemination in water buffaloes in Bangladesh. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 38(4), 418-424.
- Hussain, P.M., Honnappa, T.G., 2008. Synchronization of estrus in bovines.
- Inderjeet Singh, I.S., Balhara, A.K., 2016. New approaches in buffalo artificial insemination programs with special reference to India.

- Karen, A.M., Darwish, S.A., 2010. Efficacy of Ovsynch protocol in cyclic and acyclic Egyptian buffaloes in summer. *Animal reproduction science*, 119(1-2), 17-23.
- Karuppanasamy, K., Sharma, R.K., Phulia, S.K., Jerome, A., Kavya, K.M., Ghuman, S.P.S., Krishnaswamy, N., 2017. Ovulatory and fertility response using modified Heatsynch and Ovsynch protocols in the anovular Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 95, 83-88.
- Kumar, P.R., Shukla, S.N., Shrivastava, O., Mishra, A., Purkayastha, R.D., 2013. Therapeutic management of true anoestrus in dairy buffaloes (*Bubalus bubalis*) using PMSG with metabolic hormone.
- Kumar, R., Singh, R., 2009. Incidence of repeat breeding in buffaloes under rural conditions. *Indian Journal of Animal Sciences*, 79(4), 442-44.
- Kunbhar, H.K., Iah Memon, A.U., 2011. Incidence of placental retention in Kundhi buffalo around Tandojam Pakistan. *Pak J Life Soc Sci*, 9, 21-23.
- Longobardi, V., Zullo, G., Salzano, A., De Canditiis, C., Cammarano, A., De Luise, L., Gasparrini, B., 2017. Resveratrol prevents capacitation-like changes and improves in vitro fertilizing capability of buffalo frozen-thawed sperm. *Theriogenology*, 88, 1-8.
- Malinowski, E., Lassa, H., Markiewicz, H., Kaptur, M., Nadolny, M., Niewitecki, W., Zięta, J., 2011. Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *The Veterinary Journal*, 187(2), 234-238.
- Marai, I.F.M., Haebe, A.A.M., 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress—A review. *Livestock Science*, 127(2-3), 89-109.
- Marin, D.F.D., Souza, E.B.D., Brito, V.C.D., Nascimento, C.V, Ramos, A.S., Rolim, S.T., Ohashi, O.M., 2019. In vitro embryo production in buffaloes: from the laboratory to the farm. *Animal Reproduction*, 16, 260-266.
- McDougall, S., 2010. Effects of treatment of anestrous dairy cows with gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin, and progesterone. *Journal of dairy science*, 93(5), 1944-1959.
- Michael, J.D., Ghuman, S.S., Neglia, G., Della Valle, G., Baruselli, P.S., Zicarelli, L., Campanile, G., 2020. Exogenous and endogenous factors in seasonality of reproduction in buffalo: A review. *Theriogenology*, 150, 186-192.

- Mirmahmoudi, R., Sourı, M., Prakash, B.S., 2014. Comparison of endocrine changes, timing of ovulations, ovarian follicular growth, and efficacy associated with Estradoublesynch and Heatsynch protocols in Murrah buffalo cows (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 82(7), 1012-1020.
- Mittal, D., Garg, U. K., Jatav, G. P., Shukla, S., Sharda, R., 2010. Prevalence of different pathological affections of ovaries in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Malwa region of Madhya Pradesh. *Buffalo Bull*, 29(1), 39-42.
- Modi, L.C., Patel, P.A., Patel, S.P., Patel, G.G., Joshi, A.H., Suthar, D.N., 2011. Prevalence of reproductive problems in buffalo in Mehsana milk-shed area of Gujarat. *IJAVMS*, 5(4), 424-428.
- Mohyuddin, S.G., 2019. Prevalence of repeat breeding in buffalo and its effective possible future strategies. *Pakistan Journal of Science*, 71(4).
- Monteiro, B.M., de Souza, D.C., Vasconcellos, G. S. F. M., Corrêa, T. B., Vecchio, D., de Sá Filho, M.F., Baruselli, P.S., 2016. Ovarian responses of dairy buffalo cows to timed artificial insemination protocol, using new or used progesterone devices, during the breeding season (autumn–winter). *Animal Science Journal*, 87(1), 13-20.
- Neglia, G., Capuano, M., Balestrieri, A., Cimmino, R., Iannaccone, F., Palumbo, F., Campanile, G., 2018. Effect of consecutive re-synchronization protocols on pregnancy rate in buffalo (*Bubalus bubalis*) heifers out of the breeding season. *Theriogenology*, 113, 120-126.
- Neglia, G., de Nicola, D., Esposito, L., Salzano, A., D'Occhio, M.J., Fatone, G., 2020). Reproductive management in buffalo by artificial insemination. *Theriogenology*, 150, 166-172.
- Noseir, W.M.B., Sosa, G.A.M., 2015. Treatment of ovarian cysts in buffaloes with emphasis to echotexture analysis. *J. Dairy Vet. Anim. Res*, 2(2), 1-2.
- Oresnik, A., 1995. Effect of health and reproductive disorders on milk yield and fertility in dairy cows. *The Bovine Practitioner*, 43-45.
- Perera, B.M.A.O., 2011. Reproductive cycles of buffalo. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 194-199.

- Puranik Prahalad, P.P., Rao, K.S., Raju, K.S., 2010. Effect of GnRH, PMSG and Placentrex on reproductive performance of postpartum true anestrus murrah buffaloes.
- Purkayastha, R.D., Shukla, S.N., Shrivastava, O.P., Kumar, P.R., 2015. A comparative therapeutic management of anoestrus in buffaloes using insulin and GnRH. *Veterinary World*, 8(6), 804.
- Purohit, G.N., 2008. Recent developments in the diagnosis and therapy of repeat breeding cows and buffaloes. *CABI Reviews*, (2008), 1-34.
- Purohit, G.N., 2014. Ovarian and oviductal pathologies in the buffalo: Occurrence, diagnostic and therapeutic approaches. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 3(2), 156-168.
- Purohit, G.N., 2015. Ovarian pathologies in the buffalo. *Bubaline Theriogenology International Veterinary Information Service*, Ithaca NY ([www. ivis. org](http://www.ivis.org)), Last updated.
- Purohit, G.N., Gaur, M., Shekher, C., 2014. Infertility Management in Female Buffaloes. Last updated.
- Purohit, G.N., Thanvi, P., Pushp, M., Gaur, M., Saraswat, C.S., Arora, A. S., Gocher, T., 2019. Estrus synchronization in buffaloes: Prospects, approaches and limitations. *The Pharma Innovation Journal*, 8(2), 54-62.
- Rossi, P., Vecchio, D., Neglia, G., Di Palo, R., Gasparrini, B., D'Occhio, M. J., Campanile, G., 2014. Seasonal fluctuations in the response of Italian Mediterranean buffaloes to synchronization of ovulation and timed artificial insemination. *Theriogenology*, 82(1), 132-137.
- Sah, S.K., Nakao, T., 2010. A clinical study of anestrus buffaloes in Southern Nepal. *Journal of Reproduction and Development*, 56(2), 208-211.
- Samir, H., El-Sherbiny, H.R., Ahmed, A.E., Ahmad Sindi, R., Al Syaad, K.M., Abdelnaby, E.A., 2023. Administration of estradiol benzoate enhances ovarian and uterine hemodynamics in postpartum dairy buffaloes. *Animals*, 13(14), 2340.
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Pool, L., Overton, M.W., 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of

- high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*, 79(11), 2881-2894.
- Saraswat, C.S., Purohit, G.N., 2016. Repeat breeding: Incidence, risk factors and diagnosis in buffaloes. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(2), 87-95.
- Singh, J., Ghuman, S.P.S., Honparkhe, M., Singh, N., 2009. Investigations on dominant follicle development, estrus response, ovulation time and fertility in PRID--Treated anestrous buffalo heifers. *Indian Journal of Animal Sciences*, 79(8), 773.
- Singh, J., Nanda, A.S., Adams, G.P., 2000. The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. *Animal reproduction science*, 60, 593-604.
- Suadsong, S., 2011. Control of oestrus and ovulation in cows. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41, 95.
- Totewad, G.D., Dhoble, R.L., Sawale, A. G., Naik, P.M., Ambore, M.N., 2009. Induction of Oestrus using Cloprostenol by Intra vulvo-sub mucosal route in Sub-Oestrus Buffalo. *Veterinary World*, 2(10).
- Verma, A.K., Upadhayay, S., Bhordia, A., Singh, A., Kumar, A., 2021. Clinical Intervention of Puerperal Metritis in Indian Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Meerut, Uttar Pradesh. *Int. J. Appl. Res. Vet. Med*, 19, 33-38.
- Yang, C.Y., Pang, C.Y., Yang, B.Z., Li, R.C., Lu, Y.Q., Liang, X.W., 2012. Optimization of cryopreservation of buffalo (*Bubalus bubalis*) blastocysts produced by in vitro fertilization and somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology*, 78(7), 1437-1445.
- Zullo, G., Albero, G., Neglia, G., De Canditiis, C., Bifulco, G., Campanile, G., Gasparrini, B., 2016. L-ergothioneine supplementation during culture improves quality of bovine in vitro-produced embryos. *Theriogenology*, 85(4), 688-697.

BÖLÜM 9

KEDİ VE KÜÇÜK RUMİNANLARDA GÖRÜLEN TOKSOPLAZMOZ ENFEKSİYONLARINDA TEŞHİS STRATEJİLERİ VE GÜNCEL GELİŞMELER

Dr. Öğr. Üyesi Bünyamin İREHAN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17410091>

¹ Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye. birehan@harran.edu.tr, ORCID: 0000-0002-1745-2535

1. GİRİŞ

Yaygın bir şekilde görülen ve zorunlu bir apikompleksan protozoan parazit olan *Toxoplasma gondii*, insanlar, çiftlik hayvanları ve deniz canlıları dahil olmak üzere çeşitli türlerde Toksoplazmoz adı verilen hastalığa yol açmaktadır (Dubey, 2010). Toksoplazmoz, EFSA (European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından insanlarda yüksek insidansa sahip parazitik bir zoonoz olarak kabul edilmiştir (Andreoletti vd., 2007). Yetişkin insan nüfusunun yaklaşık üçte birinin bu parazite maruz kaldığı bildirilmektedir (Weiss & Dubey, 2009; Robert-Gangneux & Dardé 2012) ve dünyanın farklı bölgelerindeki iklim, beslenme, sosyal alışkanlıklar ve sosyoekonomik düzeylerle ilişkili olarak enfeksiyonun prevalansı, %0 ila %100 arasında değişmektedir (Tenter, 2000). Çoğu *T. gondii* enfeksiyonu herhangi bir klinik belirti göstermez (asemptomatiktir). Bununla birlikte, bu patojen, bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde ve hamilelik esnasında ilk enfeksiyonu kapalı annelerin doğuştan enfekte olmuş fetüslerinde ciddi hastalıklara yol açma potansiyeline sahiptir. Fetal enfeksiyonun hem gelişme olasılığı hem de şiddeti, hamile kadının enfeksiyonu ne zaman kapıldığına bağlıdır. Gebelik süresi ilerledikçe fetüsün enfekte olma riski yükselir; ancak klinik belirtilerin ciddiyeti bu süreçte azalma eğilimi gösterir. Bu nedenle, fetal enfeksiyonlar intrauterin ölüm ve spontan abortusla veya retinokoroidit, hidrosefali, intrakraniyal kalsifikasyonlar ve fetal büyüme geriliği gibi ciddi belirtilerle sonuçlanabilir (Montoya & Liesenfeld, 2004). Ayrıca, primer *T. gondii* enfeksiyonu veya AIDS hastaları gibi bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda kronik enfeksiyonun yeniden aktivasyonu, ensefalitin önemli bir nedenidir.

T. gondii'nin nihai konakçıları, evcil kediler de dahil olmak üzere Felidae familyasına ait üyelerdir ve bu hayvanlar ookistleri dışkıları aracılığıyla dışarı atarak çevrenin kontamine olmasına neden olurlar. Buna karşılık, memeliler ve kuşlar ise parazitin ara konakçısı rolünü üstlenirler (Tenter, 2000). *T. gondii* yaşam döngüsü, kedigillerin yırtıcı doğası sayesinde devam etmektedir (Mendoza Roldan & Otrant, 2023) ve bu durum, dışarıda tutulan kedilerde anti-*T. gondii* antikor prevalansının iç mekanlara göre önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalarla doğrulanmaktadır (Sroka vd., 2018a). Kemirgenlerin, sürüngenlerin, böceklerin ve kuşların predasyonu yaygın olarak gerçekleşir ve bu nedenle parazitik bulaşma yolunu oluşturur. Toksoplazmoz soğukkanlı hayvanlarda oluşmasa dahi, bu hayvanların vücut yüzeyinde veya

geçici olarak bağırsaklarında ookist taşıyıcısı olarak rol aldıkları bildirilmiştir (Saitoh vd., 1990; Omata vd., 2005; Ferreira vd., 2020) ve parazit bulaşma zincirinde rol oynamaktadır. Parazit, kesin konakçıların bağırsak sisteminde eşeyli üreme gerçekleştirdikten sonra sporlanmış ookistler üretir. Bu ookistler, genellikle sebzelerin, meyvelerin, suyun, toprağın ve otlakların kirlenmesi (kontaminasyonu) yoluyla insanları, otçulları, kuşları ve kemirgenleri doğrudan enfekte eder. Ara konaklarda *T. gondii*, parazitin takizoit ve bradizoit olmak üzere iki morfolojik evresinin bulunduğu iki eşeysiz gelişim evresinden geçer. Başlangıç enfeksiyonunun erken evresi, çeşitli konakçı hücre tiplerinde hızla çoğalma kapasitesine sahip olan takizoitlerin varlığıyla karakterize edilir. Bu takizoitler zamanla, yavaş üreyen bradizoitleri içeren doku kistlerinde bulunan ve latent kronik fazın göstergesi olan yapılara dönüşür (Carruthers, 2002). İnsanlar ve evcil hayvanlar gibi enfekte olmuş ara konaklarda bu doku kistleri, canlının ömrü boyunca beyin ve diğer organlar (göz, iskelet ve kalp kasları gibi) dahil olmak üzere vücutta kalır. Evcil hayvanlardan insanlara bulaşan enfeksiyonun ana kaynağı, doku kistlerinin içindeki bu bradizoitlerdir (Tenter vd., 2000). Et amaçlı yetiştirilen çiftlik hayvanlarında, *T. gondii* doku kistlerine en yaygın olarak enfekte domuz, koyun ve keçilerin dokularında rastlanır; enfekte kanatlılar, tavşanlar ve atlarda ise bu durum daha seyrek gözlemlenir (Montoya & Liesenfeld, 2004). Sığırlarda doku kistlerine nadiren rastlansa da, sığır dokularında net bir yerleşim tercihi saptanmamıştır (Burrells vd., 2018). Ayrıca, bazı konakçılarda takizoitler anneden yavruya süt yoluyla da bulaşabilir (Tenter vd., 2000; Ossani vd., 2017). Takizoitlerle parazit kan transfüzyonu, organ nakli veya pastörize edilmemiş keçi veya koyun süt ürünlerinin tüketilmesiyle de bulaşabilir (Robert-Gangneux & Dardé, 2012; Tenter vd., 2000). Bununla birlikte, 20 yıldan daha uzun bir süre önce, çok sayıda çalışma, insan *T. gondii* enfeksiyonu ile ilişkili en önemli risk faktörünün aslında çiğ veya az pişmiş et tüketme tercihi olduğunu bildirmiştir (Baril vd., 1999; Cook vd., 2000; Kapperud vd., 1996). Küçük ruminant ürünlerinin, özellikle koyun ve keçi etinin rutin olarak tüketildiği veya az pişmiş et tüketiminin kültürel ve geleneksel bir alışkanlık olduğu bölgelerde veya ülkelerde önemli bir Toksoplazmoz kaynağı olması dikkat çekicidir (Kijlstra & Jongert, 2008). Örneğin, çeşitli ülkelerde kuzu etinin çoğunlukla az pişmiş olarak tüketildiği göz önüne alındığında, doku kistlerinde yer alan bradizoitlerin neredeyse tüm yenebilir küçükbaş hayvan dokularında mevcut olduğu bilinmektedir (Dubey,

2010). Bu yönü ile, keçi ve koyun cinsi hayvanların *T. gondii* etkenleri ile oluşacak enfeksiyonlara karşı aşırı duyarlı olduklarını belirtmek gerekmektedir. Çok sayıda epidemiyolojik veri kaynağı, dünya çapında küçük ruminantlarda *T. gondii* antikorlarının bulunduğunu göstermektedir; ancak seropozitiflik oranı (%3-%92), ortamdaki ookistlerin varlığına ve iklim koşullarına bağlı olarak büyük ölçüde değişmektedir (Tenter vd., 2000; Dubey vd., 2020a; Dubey vd., 2020b).

T. gondii enfeksiyonu farklı bölgelerde yaygındır ve küçük ruminantlarda abort veya konjenital hastalığa neden olduğu için Veteriner Hekimlik açısından önemi büyüktür. Ek olarak, küçük geviş getirenlerde (ruminantlarda) görülen enfeksiyon, sadece ciddi üreme kayıplarına yol açmakla kalmaz; enfekte etlerin tüketilmesi zoonotik geçişi hızlandırabileceğinden, halk sağlığı açısından da sonuçlar doğurur. Tüm bu sebeplerden ötürü, koyun ve keçi popülasyonlarında *T. gondii* enfeksiyonunun belirlenmesi hayati bir öneme sahiptir.

Bu bölüm, *T. gondii*'nin koyunlarda ve kedilerde uygulanan çeşitli teşhis yöntemlerindeki durum, moleküler hedefleri içeren moleküler yöntemler ve farklı rekombinant antijen formlarının kullanılarak yapılan serolojik metodlara odaklanmaktadır.

2. KÜÇÜK RUMİNANTLARDA *T. GONDII* ENFEKSİYONU

Hartley ve arkadaşları (1954; 1957), ilk kez *T. gondii*'yi koyunlarda önemli bir patojen olarak bildirmiş ve abort yapan koyunlardan alınan plasental ve fetal dokularda etkeni tespit etmişlerdir (Hartley vd., 1954; Hartley vd., 1957). Yaklaşık otuz yılın ardından, Avustralya, İngiltere ve Avrupa genelinde koyunlarda bu hastalığa benzer durumların ortaya çıktığını bildiren ek raporlar da yayımlanmıştır (Dubey & Beattie, 1988).

Koyun ve keçiler, kesin konakçıların dışkılarıyla atılan ookistlerle kontamine olmuş yiyecek veya suların sindirim yolu ile alınması veya transplasental olarak bulaşma sonucu enfekte olurlar (Tenter vd., 2000; Innes vd., 2009). Ookistlerle kirlenmiş otlaklar, yemler ve içme suyunun küçük gevişgetirenlerde doğum sonrası enfeksiyonun olası kaynakları olduğu kabul edildiğinden, bu hayvanlar çevrenin *T. gondii* ile kirlenme düzeyini gösteren biyolojik belirteçler olarak kabul edilmektedir. Buna ek olarak, çiftlik

ortamındaki kedilerin varlığı ile küçük ruminantların *T. gondii* etkenlerine maruz kalma durumları arasında güçlü bir bağlantı olduğunu gösteren çeşitli raporlar mevcuttur (Esubalew vd., 2020; Selim vd., 2023; Skjerve vd., 1998). Dahası, özellikle dış ortamda yetiştirilen sürülerde, *T. gondii* enfeksiyonu insidansının, hayvanların yaşıyla birlikte arttığı bildirilmektedir (Esubalew vd., 2020; Selim vd., 2023; Skjerve vd., 1998; Gebremedhin vd., 2013). Bu nedenle, bu bilgiler ışığında, küçük ruminantlar (koyun, keçi) için *T. gondii*'nin en önemli bulaş yolunun, çevre ve ortamda bulunan parazite ait ookistler aracılığıyla olabileceğini göstermektedir.

Koyun ve keçilerde *T. gondii* enfeksiyonuna bağlı olarak gelişen klinik hastalık örüntüsü ve patolojik tablolar birbirine benzerdir. Küçük ruminantlardaki enfeksiyonların çoğu asemptomatik olmasına rağmen, gebe dişilerde abortlar, fetal mumyalaşma, ölü doğumlar ve zayıf yavruların doğumu görülebilir (Buxton vd., 2007). Buna ek olarak, parazitin plasenta yoluyla (transplasental) geçişinin meydana geldiği gebelik evresi, klinik tablonun (sonucun) belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Fetal bağışıklık sistemi nispeten olgunlaşmamışken gebe dişilerde ilk *T. gondii* maruziyeti ve enfeksiyonu genellikle fetal ölümle sonuçlanır. Gebeliğin orta döneminde gerçekleşen *T. gondii* enfeksiyonu, küçük, mumyalaşmış bir fetüsün eşlik edebileceği ölü veya zayıf doğmuş bir yavruyla sonuçlanabilir; buna karşın, gebeliğin ilerleyen aşamalarındaki bir enfeksiyon, canlı ancak enfekte yavruların doğmasına yol açabilir (Innes vd., 2009). Dahası, bazı araştırmalar, sadece bir koyunun gebeliği sırasındaki birincil enfeksiyonun değil, aynı zamanda vücudtaki (endojen) bir enfeksiyonun yeniden aktive olmasının da parazitin plasenta yoluyla bulaşmasını tetiklediğini ve bunun koyunlarda doğuştan enfeksiyonun önemli bir yolu olabileceğini öne sürmüştür (Duncanson vd., 2001; Williams vd., 2005; Morley vd., 2008). Ancak, endemik bölgelerde etkenen maruziyetin olabileceği şartlarda, abort veya düşük olayları, çoğunlukla yaşı genç olan koyunlarda gözlemlenebilmektedir. Gebelik döneminde, anneye enfeksiyonun bulaşması için geçen zamana ilaveten, klinik semptomların ortaya çıkışı ve enfeksiyonun şiddeti, immünolojik olarak annenin yeterliliğine ve intrauterin dönemde fetüse geçen parazit etkenlerin miktarına ve virülansına bağlıdır. Doğuştan enfeksiyondan sağ kurtulan kuzular ve oğlaklar genellikle normal bir şekilde büyürler ve bu nedenle insanlar için potansiyel bir *T. gondii* enfeksiyonu kaynağı haline gelebilirler. Buna rağmen,

klinik belirtiler bazı durumlarda şekillenmiş olabilir ve paraziter etken, enfekte olan hayvanların, doku ve organlarında (özellikle böbrekler, karaciğer ve beyin) belirlenebilmektedir (Dubey & Beattie, 1988).

1.1. Küçük Ruminantlarda *T. gondii*'nin Moleküler Tespiti

Nükleik asit çoğaltılmasına (amplifikasyonuna) dayanan moleküler yöntemler, serolojik testlere alternatif olarak veya bu testlerin uygulanamadığı durumlarda kullanılabilir. Bu durumlar; fetüsün immünokompetan olmadığı gebeliğin ilk dönemlerinde, kolostrum almış olan genç hayvanların teşhisinde *T. gondii* etkenlerinin saptanması sayılabilir (Hurtado vd., 2001). Son yıllarda, küçük ruminantlarda parazitik DNA tespitine dayalı Toksoplazmoz tanısı birçok çalışmada rapor edilmiştir.

PCR temelli analizlerdeki saptama gücü, doğrudan doğruya çoğaltılacak olan genetik materyalin başlangıçtaki kopya sayısına bağlıdır. Bu durumun bir sonucu olarak, testlerin duyarlılığını artırmak için genellikle yüksek tekrarlı nükleik asit dizileri moleküler hedef olarak kullanılmaktadır. Farklı *T. gondii* suşları arasında yüksek oranda korunan çok kopyalı dizileri kullanan çeşitli testler geliştirilmiştir. Yapılan PCR analizlerinde, farklı örneklerde farklı gen bölgeleri teşhis için hedeflenmiş ve bu çalışmalar araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Bu bilgiler Tablo 1.'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Koyun ve keçi örneklerinde *Toxoplasma gondii* tespiti için kullanılan PCR tabanlı analizler.

Örnek	Hedef Gen	Primerler (5'-3')	Ürün boyutu (bp)	Kaynak
Koyun ve keçi kalp, karaciğer ve kas	B1	F: GAGACCGCGGAGCCGAAGTGC R: CCTCCTCCTCCCTTCGTCCAAG	469	Yousefvand vd., 2021
Kronik olarak enfekte koyunlarda uterus, ovaryum	18S	1A: AACCTGGTTGATCCTGCCAGT 564R: GGCACCAGACTTGCCCTC	600	Rouatbi vd., 2021
	B1	B22: AACGGGCGAGTAGCACCTGAGGAGA B23: TGGGTCTACGTCGATGGCATGACAAC	114	
Koyun ve keçi karaciğer veya diyafram	B1	External primers Fext: GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG Rext: TCTTTAAAGCGTTTCGTGGTC	193	Bahreh vd., 2021
		Internal primers Fint: TGCATAGGTTGCAGTCACTG Rint: GGCGACCAATCTGCGAATACACC	96	
Keçi kan	ITS1	F: AGTTTAGGAAGCAATCTGAAAGCACATC R: GATTTCATTCAAGAAGCGTGATAGTAT	302	Aziz vd., 2022
Koyun ve keçi kan	B1	External primers Fext: GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG Rext: TCTTTAAAGCGTTTCGTGGTC	193	Khattab vd., 2022
		Internal primers Fint: TGCATAGGTTGCAGTCACTG Rint: GGCGACCAATCTGCGAATACACC	97	
	P30	P30F: TTGCCGCGCCACACTGATG P30R: CGCGACACAAGCTGCGATAG	914	
Seropozitif koyun dokuları (beyin, kalp, akciğer, böbrek, karaciğer ve diyafram)	P43	External primers Fext: CAACCTCTACCATTCCACCC Rext: GCGCGTTGTTAGACAAGACA Internal primers Fint: TCTTGTCGGGTGTTCACTCA Rint: CACAAGGAGACCGAGAAGGA	225	Silva vd., 2022
Koyun fetüslerinde beyin ve kalp dokusu, Seropozitif kuzulardan diafram dokusu ile bioassay yapılan fare beyni	REP529	TOX4: CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG TOX5: CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT	529	Pastiu vd., 2023
Koyun kalp	ITS1	External primers NN1: CCTTTGAATCCCAAGCAAACATGAG NN2: GCGAGCCAAGACATCCATTGCTGA Internal primers Tg-NP1: GTGATAGTATCGAAAGGTAT Tg-NP2: ACTCTCTCTCAAATGTTTCT	227	Mazuz vd., 2023
Keçi kan	B1	External primers Tg1: TGTTCGTCTCTATCGCAACG Tg2: ACGGATGCAGTTCCTTTCTG	580	Ji vd., 2023
		Internal primers Tg3: TCTTCCAGACGTGGATTTC Tg4: CTCGACAATACGCTGCTTGA	531	

Geleneksel PCR'da hassasiyet yalnızca moleküler hedefe değil aynı zamanda numune türüne, DNA ekstraksiyon protokolüne ve amplifikasyon reaksiyon koşullarına bağlı olarak değişir. Gerekli olan hassasiyeti ve özgüllüğü yükseltmek amacıyla, iki aşamalı ardışık PCR reaksiyonu (Nested PCR) sıkça başvurulmuş bir yöntemdir. Bu yöntem, maliyeti, zamanı ve kontaminasyon olasılığını artırması bakımından, nispeten ucuz ve hızlı olan tek tüplü nested PCR testlerinin yapılması tercih edilmektedir. ITS1 bölgesini hedefleyen analiz

Hurtado ve arkadaşları (2001), tarafından geliştirilmiş ve doğal olarak abort yapmış koyunlardan alınan fetal dokularda *T. gondii* etkenlerinin teşhisi için uygulanmıştır. Bu analizlerde, teknik açıdan iki farklı primer çifti kullanılır: Bunlardan ilki, daha yüksek bir erime sıcaklığına sahip olan dış primerlerdir; ikincisi ise, iki amplifikasyon turu arasındaki olası etkileşimi baskılamak amacıyla daha yüksek konsantrasyonda eklenen, erime sıcaklığı daha düşük olan iç primerlerdir. Koyun ve keçi doku DNA'sı içeren örneklerde, bu yöntemin tespit limitinin 1 pg (yaklaşık 20 takizoit) olduğu rapor edilmiştir (Hurtado vd., 2001).

T. gondii takizoitlerinin sayısını ölçmek için Competitive PCR (rekabetçi PCR) testleri geliştirilmiştir (Homan vd., 2000; Lee vd., 1999). Ancak, bu bahsedilen yöntemler uygulaması zor (zahmetli) olmasının yanı sıra, sadece 10^2 ile 10^3 takizoitten oluşan dar bir doğrusal aralıkta (2 ila 3 logaritma) işlevseldir. Buna karşın, kantitatif (nicel) analizler için bir alternatif olarak Gerçek Zamanlı PCR (Real-Time PCR) testleri tercih edilebilir. Araştırmacılar 2000 yılında *T. gondii*'nin tespiti için oldukça hassas ve tekrarlanabilir bir gerçek zamanlı kantitatif PCR analizini, etkenin B1 genine spesifik TaqMan tabanlı testleri uygulamışlardır (Lin vd., 2000). Bu yaklaşımın en önemli avantajları, minimum konsantrasyon ile 6 logaritma (10^0 - 10^6) DNA konsantrasyonu üzerinde uzun bir doğrusal aralığın yanı sıra, reaksiyon yüksek verimli 96 kuyucuklu bir formatta uygulanmakta ve jel elektroforezi gibi PCR sonrası manipülasyonlara gerek kalmamasıdır (Lin vd., 2000).

Kantitatif Ters Transkriptaz PCR (Quantitative reverse transcriptase PCR – (RT-PCR)) yöntemi, mRNA'nın yalnızca metabolik açıdan aktif hücrelerce üretilmesi nedeniyle, parazitlerin canlı olup olmadığını değerlendirmede uygun bir araç olduğu rapor edilmiştir (Travaillé vd., 2016; Ranucci vd., 2020). Canlı olan *T. gondii* etkenlerinin direkt taranması için RT-PCR analizleri, bir yüzey antijen glikoproteinini kodlayan sporlanmış ookistlerde ifade edilen SporSAG genini (Travaillé vd., 2016; Villegas vd., 2010); sporlanmış ve sporlanmamış ookistlerde ifade edilen act1 genini (Villegas vd., 2010) ve takizoitlerin tespiti için SAG1 geninin teşhisi hedeflenerek tanımlanmıştır (Ranucci vd., 2020). PCR temelli yöntemlerin hem canlı hem de ölü hücrelere veya etkenlere ait DNA'yı çoğaltabildiği ve bu durumun, canlı parazit miktarının gerçekte olduğundan yüksek tahmin edilmesine neden olabileceği unutulmamalıdır (Ranucci vd., 2020).

1.1.1 Sütte *T. gondii* DNA'sının Tespiti

İnsan Toksoplazmozu, son 40 yılda yapılan birçok çalışmada epidemiyolojik olarak çığ keçi ve koyun sütü içmekle ilişkilendirilmiştir (Riemann vd., 1975; Sacks vd., 1982; Skinner vd., 1990; Jones vd., 2009; Flatt vd., 2013). Tennessee'deki bir çiftlikte keçilerin %80'inde *T. gondii* antikorları bulunmuştur. Bir çocuk, annesinin çiftlikten temin edilen pastörize edilmemiş keçi sütünü tüketmesi ve hamilelik sırasında Toksoplazmoz enfeksiyonu geçirmesi sonucu vefat etmiştir; ardından parazit, çocuğun beyninden başarıyla izole edilmiştir (Patton vd., 1990). Daha yakın zamanda, Brezilya Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan bir çalışmada, üç yıl boyunca 8000'den fazla gıda kaynaklı hastalık salgınının 337'sinde süt ve süt ürünlerinin patojen etken taşıdığı tespit edilmiştir (Da Silva vd., 2015).

Koyun ve keçi sütünde *T. gondii* DNA'sının varlığı birçok çalışmada araştırılmış ve doğrulanmıştır. *T. gondii*'nin sütteki atılımı düzensiz olduğundan ve parazit türü ve günlük döngü gibi birçok faktöre bağlı olabileceğinden (Sroka vd., 2017; Amairia vd., 2016), PCR tabanlı DNA tespitinin sonuçları ile emziren hayvanların serolojik durumu arasında bir korelasyon bildirilmemiştir (Dubey vd., 2014). Öte yandan hem keçiler hem de koyunlar üzerinde yapılan araştırmalar, kan örneklerinde PCR sonuçları ile süt örneklerinde PCR sonuçları arasındaki ilişki için kappa katsayısının 1 olduğunu göstermiştir; bu da kanda PCR testi pozitif çıkan hayvanların %100'ünün sütlerinde *T. gondii* DNA'sı salgıladığı anlamına gelmektedir (Mancianti vd., 2013; Luptakova, vd., 2014). Süt örneklerinde PCR testi pozitif çıkan tüm hayvanların kanında parazit DNA'sı bulunmadığından, ters korelasyonun gözlenmediğini belirtmek önemlidir.

PCR tabanlı moleküler tanı araçları büyük ölçüde DNA örneklerinin kalitesine bağlıdır. Sütün yüksek yağ içeriği, yaygın olarak kullanılan birçok reaktifin kullanımını kısıtladığı için nükleik asitlerin süttten ayrıştırılmasını (ekstraksiyonunu) zorlaştırmaktadır. Vismarra ve arkadaşları (2017), takizoit ilave edilmiş koyun sütünden DNA elde etmek için üç farklı ön işlem protokolünü değerlendirmeye almıştır. Protokol I, en az bir saat süren ve sadece bir dizi santrifüj işleminden oluşuyordu. Protokol II, DNA ekstraksiyonundan önce kazeinleri gidermeyi hedefliyordu ve yaklaşık 20 dakikada tamamlanıyordu. Protokol III'te ise süt, proteinaz K içeren bir lizis çözeltisine eklenerek bütün gece inkübe edilmiştir. Araştırmacılar, uyguladıkları ön işlem

yöntemlerine bağlı olarak testin duyarlılığında önemli bir fark oluşmadığını bildirmişlerdir. Bu nedenle, Güney İtalya'daki çiftliklerden toplanan 21 saha örneğinin analizi için, en az zaman gerektiren yöntem olan Protokol II'yi tercih etmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR (Real Time PCR) tekniği kullanılarak, parazitin DNA'sı içindeki 529 bp uzunluğundaki Tekrar dizisi hedeflenmiş ve bu analizler sonucunda bir adet pozitif bulguya ulaşılmıştır (Vismarra vd., 2017).

Süt örneklerinde parazite ait DNA'nın tespiti, numunelerdeki paraziter etkenlerin canlı olduğu anlamına gelmemektedir. Dubey ve arkadaşları (2014) fare biyo-tahlili ile deneysel olarak enfekte edilmiş keçilerin pastörize edilmemiş sütünde canlı *T. gondii* etkenlerinin bulunabileceğini ve parazit atılımının aralıklı olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar biyoassay analiz sonuçları ve *T. gondii* DNA'sının PCR tabanlı yöntemler ile belirlenmesi arasında anlamlı bir korelasyon tespit edilmemiştir. Sütte *T. gondii* atılımının en muhtemel sebebi, süt salgılayan hücrelerin enfekte olması ve müteakiben dökülmesidir; bu durum, takizoitlerin atılması için uygun bir aşamayı temsil eder (Dubey vd., 2014). Parazitin bu formu, asidik pH'a genel olarak oldukça duyarlıdır ve bu nedenle etkenin sindirim ve mide yolundan geçişi sırasında hayatta kalabilme şansının düşük olduğu varsayılmaktadır. Yine de yapılan araştırmalar, takizoitlerin pH değeri 5.0 ve 6.0 olan simüle edilmiş mide sıvısı içinde enfektif özelliklerini en az 90 dakika boyunca koruyabildiğini ortaya koymuştur. Midedeki pH düzeyi 1 ile 3 arasında olabilmekte, ancak gıda alımından hemen sonra hızlı bir şekilde 7 civarına yükselmektedir. Dolayısıyla, sütle birlikte alınan takizoitler, midenin asidik içeriğine kıyasla daha yüksek pH seviyeleriyle karşılaşmış olurlar. Bu durum, bazı takizoitlerin mide mukozasına nüfuz etme veya alkali duodenuma ulaşma ve bağırsak kanalındaki hücreleri enfekte etme olasılığını artırmaktadır (Koethe vd., 2017). Alternatif olarak, takizoitlerin enfeksiyonu orofaringeal mukozanın penetrasyonu ile meydana gelebilir (Riemann vd., 1975).

T. gondii ile kontamine olmuş sütte, takizoitlerin sütte birkaç gün hayatta kaldıkları ve 37 °C'ye ısıtılmış süt ortamında 30 dakikaya kadar enfektivitelerini korudukları gösterildiğinden, Toksoplazmoz edinimi için süt, uygun bir risk oluşturmaktadır. (Asgari vd., 2011). Bu nedenle, potansiyel olarak enfeksiyöz takizoitleri ortadan kaldırmak için insan tüketiminden önce sütün pastörize edilmesi önerilmektedir.

Çiğ süttten veya kaynatma işlemine tabi tutulmayan peynir örneklerinde, *T. gondii* etkenlerinin varlığı ve canlılığı da araştırılmıştır. Ranucci ve arkadaşları (2020) RT-PCR ile doğal olarak kontamine olmuş koyun sütünden yapılan peynirin metabolik olarak aktif takizoitler içermediği sonucuna varmıştır; ancak peynir yapımında kullanılan sütteki *T. gondii* miktarına ilişkin veri bulunmamaktadır. Dubey ve arkadaşları (2014) takizoitlerle kasıtlı olarak kontamine edilmiş çiğ keçi sütünün soğuk enzimle muamele edilmesi ve farelere deri altından aşılanması yoluyla yapılan peynirde *T. gondii*'nin hayatta kaldığını bildirmiştir. Çalışmada, buna ilaveten, takizoit ile kontamine edilmiş süt örneklerinden yapılmış olan peynirin, fareleri oral yolla enfekte etmediği bildirilmiştir.

1.2. Küçük Ruminantlarda *T. gondii*'nin Teşhisinde Serolojik Testler

1.2.1. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Serolojik testler, *T. gondii*'ye maruz kalındığını belirlemek için kullanılan temel araçlardır ve bu nedenle farklı hayvan popülasyonlarında yürütülen epidemiyolojik çalışmalarda sıkça kullanılır. Bu dolaylı saptama yöntemi, özellikle bağışıklık sistemi yeterli (immünokompetan) bir konakçıda belirgin bir klinik semptom bulunmadığında, Toksoplazmoz teşhisinde kritik bir öneme sahiptir. *Toxoplasma* etkenlerinin tespitine yönelik seroloji, genellikle IgG ve IgM antikor varlığını tespit etmeye yöneliktir. Spesifik IgM için pozitiflik, bu antikorun günler ile birkaç hafta içinde ortaya çıkması nedeniyle akut enfeksiyonun bir işaretidir. Ancak, IgM antikorlarının belirlenmesi, insanlarda ve hayvanlarda *T. gondii* enfeksiyonlarında, enfeksiyon zamanını tahmin edebilme hakkında bazı sınırlandırmalar içermektedir. Zira, düşük IgM titrasyonları hastalığın akut evresinden çok sonra bile devam edebilir (Del Bono vd., 1989; Liesenfeld vd., 2001; Fricker-Hidalgo vd., 2013; Dhakal vd., 2015; Ybañez vd., 2020a). Bu sebeple, spesifik IgG'nin belirlenmesi, birincil *T. gondii* enfeksiyonunu doğrulamak veya geçmişteki bir maruziyeti göstermek için kritik bir parametredir (Ybañez vd., 2020a). Anti-*T. gondii* IgG antikorlarının seviyesi, enfeksiyonu takiben 1-2 ay içinde genellikle zirveye ulaşır ve farklı oranlarda düşüş gösterir. Ayrıca sayılan antikorlar konaklarda kalıntı (rezidüel) titrasyonlarda yaşam boyu kalıcı olabilmektedir. Yalnızca bu antikor türünün tespit edilmesi, *T. gondii* enfeksiyonlarının erken evrelerini kronik evrelerinden tek başına ayırt edememektedir. Akut enfeksiyonu kronik enfeksiyondan ayırmak amacıyla, insanlarda Toksoplazmozun serolojik

tanısında IgG avidite testi yaygın bir kullanıma sahiptir (Holec-Ga, sior vd., 2022). Yeni oluşacak primer bir *T. gondii* enfeksiyonunda, üretilen IgG antikorlarının düşük avidite sergilediği görülürken, hastalığın kronik evresindeki IgG antikorlarının yüksek aviditeli olduğu saptanmıştır. Koyunlarda, *T. gondii* enfeksiyonlarında IgG avidite testi, akut ve kronik enfeksiyonların ayrımını yapabilmek için çeşitli araştırmalarda kullanılmıştır (Sager vd., 2003; Clementino vd., 2007).

Dünya çapında manuel veya tam otomatik IgG tespitine dayalı birçok farklı analizler mevcuttur ve aglütinasyon, Western blot, immüno floresan analizleri, enzim immünoassayleri ve immünokromatografiye dayalı hızlı tanı testleri (Rapid Test) dahil olmak üzere çeşitli tespit yöntemlerine dayanmaktadır. Bu testler değişken performanslara ve tespit eşiklerine sahiptir; bu nedenle sonuçlarını karşılaştırmak bazen zordur. Farklı serolojik teşhis yöntemleri arasında, ELISA, Toksoplazmoz tanısı için en kullanışlı test olarak kabul edilmekte ve bu nedenle serolojide en sık uygulanan yöntemler arasında yer almaktadır. *T. gondii* enfeksiyonunun serolojik yöntemlerle teşhisinde, Anti-*Toxoplasma* IgG tabanlı testlerin özgüllük ve duyarlılık bakımından önemlidir. Bu analizlerde kullanılacak parametreler, temelinde enfeksiyon sırasında üretilen bireysel antikor sınıflarına, düzeylerine ve serolojik tabanlı testlerde kullanılan antijen tipine bağlıdır. Ticari olarak sunulmuş olan seroloji tabanlı test kitlerinin büyük çoğunluğu, farelerde ve/veya doku kültüründe in vitro (laboratuvar ortamında) olarak üretilmiş takizoit formlarından hazırlanmış olan parazite ait doğal antijenleri kullanır. Ancak, takizoitlerden elde edilen bu tür antijenler, ökaryotik konak hücrelerinden veya kültür ortamından kaynaklanan çeşitli parazitik olmayan maddeler içerebilir. Bu durum, *Toxoplasma* lizat antijenlerine (TLA) dayanan serolojik testlerin standardize edilmesini zorlaştırmakta ve çoğu zaman yetersiz bir özgüllüğe yol açmaktadır. Ayrıca, TLA içeren test kitlerinin üretiminin; pahalı, yoğun emek gerektiren ve zaman alıcı bir süreç olarak kabul edilmektedir. Yirminci yüzyılın ikinci yarısında, moleküler biyoloji ve genetik mühendisliği alanındaki gelişmeler ve ilerlemeler, biyoteknoloji kullanılarak üretilen rekombinant antijenler gibi yeni teşhis amaçlı araçların geliştirilmesine olanak sağlamıştır. Bu antijen preparatları genellikle saf halde bulunur; dolayısıyla bu tür antijenlerin tanı testlerinde kullanılması, antijenik bileşimin kesin olarak belirlenmesi, testte birden fazla antijenin kullanılabilmesi ve yöntemin çok daha kolay standardize edilebilmesi gibi çok sayıda avantaj sunar. Bu nedenlerle, tek proteinler, farklı antijenlerin karışımları veya kimerik proteinler biçimindeki pek çok rekombinant *T. gondii* antijeni, hem insanlarda (Ybañez vd., 2020a; Holec-

Ga, sior 2013) hem de farklı hayvan popülasyonlarında (Ferra vd., 2020) Toksoplazmozun serolojik tanısı için başarıyla kullanılmıştır. Özellikle, *Escherichia coli* hücrelerine dayalı prokaryotik ekspresyon sistemleri kullanılarak rekombinant *T. gondii* antijenleri üretmek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Mevcut olan araştırmaların çoğunluğu, insan serumlarında spesifik antikorların saptanması için çeşitli rekombinant protein formlarının tanısallık kullanımına odaklanmıştır. Ancak, literatürdeki çalışmalarda, bu özel antijenik preparatların küçük geviş getiren hayvanlardaki serolojik testlerde tespit amacıyla kullanıldığına dair raporlar mevcuttur. Çeşitli parazitik proteinler arasında, hücre yüzeyi antijenleri ve parazitin invazyon organelleri olan mikronemler (micronemes), roptriler (rhoptries) ve yoğun granüller (dense granules) gibi salgı organellerinden gelen proteinler, teşhis araçları olarak potansiyelleri nedeniyle odak noktası olmuştur. Literatürdeki ilk çalışmalar, yaklaşık otuz yıl kadar önce, rekombinant proteinlerin küçük ruminantlarda Toksoplazma enfeksiyonunun serolojik tanısında kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Tenter ve arkadaşları (1992), *E. coli*'de glutatyon-S-transferaz (GST) füzyon polipeptitleri olarak ifade edilen iki rekombinant protein olan H4 ve H11'in, IgG ELISA'da spesifik küçükbaş hayvan antikorları ile reaksiyona girdiğini göstermiştir. Bakteriyel ekspresyon sisteminde üretilen bazı diğer tek rekombinant antijenler de köpek ve küçükbaş serum örneklerinde *T. gondii*'ye özgü antikorları saptamada umut verici sonuçlar vermiştir. Ancak, tek bir rekombinant antijeni temel alan IgG ELISA yöntemlerinin duyarlılık oranları arasında önemli ölçüde değişkenlik olduğu tespit edilmiştir. En başarılı sonuçlar, Holec-Ga, sior ve arkadaşları (2014) tarafından üç rekombinant protein (GRA1, P22 ve ROP1) için elde edilmiştir; bu proteinler, koyun serumlarındaki spesifik antikorları GRA1 ve ROP1 için %100 özgüllük ve %100 duyarlılıkla, P22 için ise %98,9 oranında tanımlayabilmiştir. Bazı araştırmalar, *T. gondii*'ye ait rekombinant antijenlerin IgG ELISA testlerinde ikili veya üçlü protein grupları şeklinde kullanıldığını göstermiştir. Doğru şekilde belirlenmiş rekombinant antijenlerin karıştırılarak kullanılması, antikor bazlı bu analizlerin hassasiyetini önemli ölçüde yükseltmiştir. Örneğin, yukarıda bahsedilen üç farklı antijenin kombinasyonu, bir IgG ELISA'da tam (%100) bir hassasiyet ve özgüllük sunmuştur (Holec-Ga, sior vd., 2014). Benzer bir başarı, Ferra ve arkadaşları (2015), tarafından SAG2, GRA1 ve ROP1 olmak üzere üç rekombinant proteinin karışımı için de rapor edilmiştir. Buna ek olarak, son yıllarda serolojik araştırmalarda multivalent kimerik proteinler kullanılmaya başlanmıştır. Bu antijenik preparatlar, insan serumlarındaki spesifik antikorları tespit etmek için başarıyla kullanılan yeni bir tür teşhis

aracıdır (Holec-Ga,sior 2013; Ferra vd., 2015; Holec-Ga,sior vd., 2012a; Holec-Ga,sior vd., 2012b; Drapała, vd., 2015; Ferra vd., 2019). Dikkatle belirlenmiş farklı *T. gondii* antijenlerinden türetilen çeşitli immünoreaktif epitoplar, tek bir rekombinant ve çok değerli (multivalan) kimerik proteinin yapısında birleştirilmiştir. Sonuç olarak, bu kimerik preparat, birden fazla rekombinant antijenin karıştırılmasıyla elde edilen karışımın yerine kullanılabilir. Ayrıca, *T. gondii*'nin yaşam döngüsündeki çeşitli evrelerden gelen proteinlerin özenle seçilmiş epitoplarının birleştirilmesi, parazitin antijenik karmaşıklığını aşmak için en etkili yol olarak kabul edilmektedir (Holec-Ga,sior 2013). Bu yaklaşımın doğal bir sonucu olarak, kimerik protein, orijinal antijenlere nazaran daha güçlü bir bağışıklık baskınlığına (immünodominant) sahip bir antijen rolünü üstlenebilir. Ferra ve arkadaşları (2015), doğal olarak enfekte olmuş koyunlardan elde edilen serumlarda spesifik IgG antikorlarını saptamak amacıyla, iyi karakterize edilmiş üç farklı parazit proteininden oluşturulan beş farklı *T. gondii* rekombinant kimerik proteinin faydasını değerlendirmiştir. Bu multivalan kimerik proteinler, genellikle üç rekombinant antijenin karışımlarından daha yüksek bir reaktivite sergilemiştir. Küçükbaş hayvanlarda Toksoplazmoz teşhisi için en başarılı kombinasyonlar, IgG ELISA'da %100 duyarlılık ve özgüllük gösteren test edilmiş şu üç kimerik protein olmuştur: *SAG1L-MIC1-MAG1*, *SAG2-GRA1-ROP1S* ve *SAG2-GRA1-ROP1*. Ayrıca, Holec-Ga,sior ve arkadaşları (2019) ilk kez dört tetravalent kimerik proteinin (AMA1N-SAG2-GRA1-ROP1, AMA1C-SAG2-GRA1-ROP1, AMA1-SAG2-GRA1-ROP1 ve SAG2-GRA1-ROP1-GRA2) IgG ELISA'da küçük ruminant serumlarından spesifik IgG antikorları ile reaktivitesini tanımlamıştır. Denemeye tabi tutulan tüm kimerik proteinlerin özgüllüğü yüksekti (%96,39–%100), ancak en yüksek hassasiyet AMA1-SAG2-GRA1-ROP1 bazlı IgG ELISA testinde elde edildi. Dolayısıyla, son yıllardaki çalışmalar, rekombinant kimerik proteinlerin küçük geviş getirenlerdeki *T. gondii* enfeksiyonunu teşhis etmede başarıyla kullanılabileceğini ve mevcut TLA'nın (*Toxoplasma* Lizat Antijeni) yerini alabilecek potansiyele sahip olduğunu kanıtlamıştır.

Moleküler yöntemler, ruminant sütündeki takizoitlerin tespitinde başarıyla kullanılmıştır. Öte yandan, emziren hayvanlardaki serolojik bulgularla PCR sonuçları arasında herhangi bir korelasyon gözlemlenmemiştir. Diğer yandan, kanda PCR testi pozitif çıkan hayvanların tamamında (%100) *T. gondii* DNA'sı sütte de pozitif olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Dubey ve arkadaşları (2014) deneysel olarak enfekte edilmiş keçilerin sütünde parazitik

DNA tespiti ile fare biyo-tahlil sonuçları arasında bir ilişki olmadığını bildirmiştir. Takizoitlerin emziren gevişgetirenler (ruminantlar) tarafından atılımı konusu hâlâ tam olarak anlaşılamamış bir durumdur ve daha detaylı araştırmalar yapılması zorunludur.

1.3. Küçük Ruminant Toksoplazmozunun Teşhisinde Genel Değerlendirme

Toksoplazmoz, bağışıklık sistemi zayıf bireyler ve konjenital (doğuştan) enfekte olmuş fetüsler açısından ciddi bir tehlike oluşturduğundan, bu hastalığın takibi ve doğru bir şekilde teşhis edilmesi büyük önem arz etmektedir. Doku kistleri barındıran çiğ veya yetersiz pişirilmiş etlerin tüketilmesi, insanlarda Toksoplazmoz gelişimiyle ilişkili en kritik risk faktörü olarak belirlenmiştir. Küçükbaş ve keçi konakçılarının *T. gondii* enfeksiyonuna karşı oldukça hassas olması nedeniyle, özellikle kuzu ve keçi etinin düzenli tüketildiği bölgelerde, küçükbaş hayvan eti ve kurutulmuş et ürünleri hastalığın önemli bir bulaşma kaynağını teşkil eder. Laktasyon dönemi boyunca takizoitlerin koyun ve keçi sütü ile belirli aralıklarla atıldığı bilinmektedir. Ayrıca, pastörize edilmemiş süt veya süt ürünlerinin tüketimi, Toksoplazmoz salgınlarıyla ilişkilendirilmiştir. Toksoplazmozis, hayvanlarda ciddi üreme kayıplarına yol açması sebebiyle Veteriner Hekimlik alanı için de önem taşımaktadır. Yukarıda belirtilen tüm nedenlerden dolayı, küçük ruminantların dokularında ve sütlerinde *T. gondii*'nin hassas ve güvenilir bir şekilde tespit edilmesi zorunludur. Ek olarak, *T. gondii*'nin bir zoonoz etkeni olarak taşıdığı büyük önem, gıda kaynağı olarak değerlendirilebilecek hayvan popülasyonlarında detaylı epidemiyolojik çalışmalara gereksinim olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle, yalnızca parazitin potansiyel bulaşma kaynağını ortadan kaldırmak için değil, aynı zamanda bazı ülkelerde ruhsatlı olan ticari Ovilis ve Toxovax aşısı ile aşılanabilecek sağlıklı hayvanların belirlenmesine yardımcı olmak amacıyla, dünya çapındaki küçük gevişgetiren popülasyonunda kapsamlı teşhis araştırmaları yürütmek kritik bir önem arz etmektedir. Bununla birlikte, canlı zayıflatılmış *T. gondii* S48 suşu takizoitlerini içeren bu aşının koyunlar için mevcut tek kayıtlı aşı olduğu, sınırlı kullanıma sahip olduğu ve yalnızca konjenital enfeksiyona bağlı abort ve neonatal mortalite insidansını azaltılabileceği unutulmamalıdır (Buxton 1993; Buxton vd., 1993). Bu bağlamda, et üretimi için yetiştirilen hayvanların aşılanması, gelecek vaat eden bir önleyici strateji olarak görülmektedir; ancak bu yaklaşım hâlâ deneysel aşamada olup daha ileri düzeyde geliştirilmeye ihtiyaç duymaktadır.

Buna ek olarak, literatürde tüketime yönelik hayvanların etlerinin uygun şekilde test edilmesi ve '*Toxoplasma* içermeyen et' olarak işaretlenmesi gerektiğini öneren bazı raporlar bulunmaktadır (Kijlstra & Jongert 2008, Kijlstra & Jongert 2009). 2007 yılında, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi Biyolojik Tehlike Paneli, koyun, keçi, domuz ve av hayvanlarında hasat öncesi sektörde *Toxoplasma* izleme programlarının başlatılmasını tavsiye etmiştir (Andreoletti vd., 2007). Kijlstra ve Jongert (2009)'a göre, özel olarak tasarlanmış bir izleme programı, *T. gondii* açısından seronegatif olan hayvanları, "Toksoplazma içermeyen et" adı altında pazarlanmak üzere ayırma hedefini taşıyabilir. Ayrıca, pozitif test sonuçlarına sahip etlerin ise ısıl ön işlemden (termal ön işleme) veya dondurma işleminden geçirilebileceğini ve ardından *T. gondii*'den arındırılmış et olarak satılabileceğini ifade etmişlerdir. Dolayısıyla, koyun ve keçilerden alınan çok sayıda biyolojik numunenin hızlı ve pratik bir şekilde ve düşük maliyetle test edilmesini mümkün kılacak çeşitli tanı araçları aracılığıyla küçük ruminantlarda *T. gondii* enfeksiyonunun belirlenmesi alanında büyük gelişmeler yaşanmaktadır. Bu kısım, *T. gondii*'nin saptanmasında kullanılan moleküler ve serolojik teknikler gibi çeşitli tespit imkanlarına odaklanmıştır.

Parazitik DNA'nın tespiti için, serodiagnoz ile birlikte veya serolojik yöntemlerin kullanılmadığı durumlarda, örneğin gebeliğin erken evresinde henüz immünokompetan olmayan fetüslerin veya kolostrum almış genç hayvanların teşhisi gibi, gerçekleştirilebilecek çeşitli moleküler tespit yöntemleri geliştirilmiştir (Hurtado vd., 2001). PCR tabanlı teknikler, farklı *T. gondii* suşları arasında tekrarlanan ve yüksek oranda korunan amino asit dizilerini kullanır. Geleneksel PCR'ın duyarlılığını artırmak amacıyla çalışmaların çoğunda iç içe geçmiş bir teknik (Nested PCR) kullanılmaktadır; ancak bu yaklaşım kontaminasyona karşı oldukça hassastır. Bu dezavantajı gidermek için tek tüplü Nested PCR testleri geliştirilmiştir. Takizoit sayısını ölçmek için yarışmalı PCR (Competitive PCR) testleri tanımlanmıştır; ancak gerçek zamanlı PCR'ın (Real Time PCR) kantitatif analiz için daha iyi bir alternatif olduğu bildirilmektedir. Parazite ait DNA'nın saptanmasının, numunedeki parazitin canlı olduğu anlamına gelmediğini bilmek önemlidir. Bu nedenle, *T. gondii*'nin canlılığını değerlendirme konusunda biyolojik analizlere bir alternatif olarak RT-PCR (Ters Transkriptaz PCR) bildirilmiştir. Ayrıca, bu antijenik preparatların, hızlı lateral akış testi veya lateks aglütinasyon testi gibi immünokromatografik yaklaşıma dayanan diğer tanı testlerinde de kullanılması

mümkündür. Bu tür bir kullanım, küçükbaş hayvan popülasyonlarındaki serolojik taramaları hem geliştirebilir hem de kolaylaştırabilir.

Serolojik tabanlı yöntemlerden, özellikle ELISA testleri epidemiyolojik çalışmalarda en yaygın kullanılan *T. gondii* tespit yöntemidir. Halihazırda piyasada bulunan testlerin büyük çoğunluğu, standardizasyon zorluklarına ve yetersiz özgüllüğe neden olan TLA (*Toxoplasma* Lizat Antijeni) kullanmaktadır. Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen rekombinant proteinler ise alternatif bir tanı aracı olarak öne sürülmüştür. Bunun nedeni, bu proteinlerin tam olarak bilinen bir bileşime sahip olması, daha kolay standardize edilebilmesi ve serolojik testlerin duyarlılığını artırmak için özenle seçilmiş rekombinant antijen karışımlarının kullanılmasına imkan tanınmasıdır. Çeşitli araştırmalar, rekombinant parazitik proteinlerin tanısal faydasını rapor etmiştir; bu çalışmalar özellikle hücre yüzeyi antijenlerine ve salgı organellerinden (mikronemler, roptriler ve yoğun granüller) elde edilen proteinlere odaklanmıştır. Bu yayınlarda bildirilen sonuçların analizi, farklı klonlama stratejilerinin ve rekombinant protein saflaştırma yöntemlerindeki varyasyonların, örneğin, SAG1 veya SAG2 rekombinant antijenleri kullanılarak IgG ELISA'larında elde edilen sonuçlar aynı antijenlerle çalışan çeşitli laboratuvarlarda yürütülen teşhis testlerinde farklı hassasiyet ve özgüllük seviyelerinin elde edilmesine neden olduğunu göstermiştir (Holec-Gaśior & Sołowin'ska 2022; Ferra vd., 2015; Holec-Gaśior vd., 2012a; Drapała vd., 2015; Holec-Gaśior vd., 2019; Tumurjav vd., 2010). Ayrıca, IgG ELISA'larda aynı rekombinant antijenlerin kullanıldığı bazı çalışmalarda, negatif ve pozitif sonuçları belirleme kriterlerinin araştırmacılar arasında farklılık göstermesi nedeniyle, elde edilen bulguları karşılaştırmak güçleşmektedir. Dahası, mevcut serolojik araştırmalar serumlarda spesifik anti- *T. gondii* antikorlarının tespiti için multivalent rekombinant proteinler kullanmaktadır. Birkaç immünodominant protein parçasını tek bir antijende birleştiren bu yaklaşım, protein karışımlarına alternatif olarak kullanılabilir ve *T. gondii*'nin farklı yaşam evreleriyle ilgili parazitin antijen karmaşıklığının üstesinden gelinmesini sağlamanın yanı sıra daha yüksek tekrarlanabilirlik sunar. Bilimsel literatürde bilindiği üzere, B-hücresi epitop haritalaması, kimerik proteinlerin rasyonel tasarım sürecinde mühim bir aşama olarak öne çıkmaktadır. Bu yöntem, oldukça spesifik epitopların belirlenmesini sağlayarak multivalan proteinlerin inşası için uygun parçaların seçilmesine olanak tanır. Peptit mikrodizileri, lineer

B-hücresi epitoplarının haritalanmasında en yaygın kullanılan tekniktir; aynı anda binlerce peptidin analiz edilmesine izin verdiği için hızlı ve ekonomiktir. Bu yaklaşım sayesinde, tam bir antijen dizisi içinde spesifik antikorlar tarafından tanınan dizilerin tespit edilmesi mümkün olur. Dolayısıyla, bu yöntem şu anda tanısal veya immünoprotektif faydası olan yeni proteinleri belirlemeyi amaçlayan birçok araştırmanın temelini oluşturmaktadır (Heiss vd., 2020). Ayrıca, gelecekte serolojik teşhis araçları olarak kullanılabilecek parazitin yeni ve daha etkin antijenik proteinlerinin araştırılması da büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla, protein yapılarını, işlevlerini ve diğer biyolojik özelliklerini tahmin etmek için yaygın olarak kullanılan biyoinformatik çok yararlı hale gelmiştir (Bai vd., 2012).

Dokulardaki parazit enfeksiyonunu tespit etmek için fare biyo-testleri altın standart olarak kabul edilse de biyo-testler zaman alıcı, maliyetli, canlı hayvan kullanımı gerektirmesi ve birçok örneğin taranması için uygun olmadığından klinik tanı seroloji ve/veya moleküler yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. PCR tabanlı teknikler, doku kistlerinin konak dokuda eşit olmayan dağılımı nedeniyle biyoanalizlerden daha az hassastır (Robert-Gangneux & Dardé 2012); bu nedenle, yeni moleküler hedefler ve yeni moleküler prosedürler, test hassasiyetini artırmaya yönelik bir geliştirme odağı olmaya devam etmektedir. DNA amplifikasyonuna dayalı yöntemlerin, kas, kan, beyin, semen, diyafram, kalp, karaciğer, genital organlar ve böbreklerin yanı sıra emziren hayvanların sütü gibi çok sayıda keçi ve koyun dokusunda *T. gondii* enfeksiyonunu tespit etmede etkili olduğu kanıtlanmıştır. Özetlemek gerekirse, bugüne kadar gerçekleştirilen çalışmalar, *T. gondii* rekombinant antijenlerinin farklı protein hazırlama biçimlerinde, küçük gevişgetirenlerin serumlarında parazit enfeksiyonunu saptamada potansiyel tanısal yararını kanıtlamıştır. *T. gondii* enfeksiyonunun serolojik teşhisinde rekombinant proteinlerden yararlanılması, testlerin standardizasyonunu yükseltme ve üretim maliyetlerini düşürme açısından önemli avantajlar sağlayacaktır.

Küçük ruminantlarda *T. gondii* enfeksiyonunun tespiti için çeşitli teşhis yöntemleri kullanılmaktadır. En geçerli sonuçlar için, spesifik antikorların varlığı ve seviyesi test edilen örneklerde parazitik DNA'nın ortaya çıkmasıyla her zaman ilişkili olmadığından, serolojik bir testin ardından PCR analizinin yapılması önerilir. Toksoplazmoz tanısında ilerleme kaydedilmeye devam edilse de, hem moleküler hem de serolojik yöntemlerde üzerinde çalışılması ve

geliştirilmesi gereken ilerlemeler bulunmaktadır. Diğer Apicomplexa tipi parazitler arasındaki genetik benzerlikten kaynaklanabilecek olası yanlış pozitif sonuçlara odaklanmak da önem arz etmektedir. *Neospora caninum*, taksonomik açıdan *T. gondii*'ye en yakın parazittir ve küçük gevişgetirenleri enfekte ettiği doğrulanmıştır (Nayeri vd., 2022). Üstelik, her iki enfeksiyon da benzer klinik belirtiler gösterebilmektedir. Güvenilir serodiagnoz, olası antikör çapraz reaktivitesini dikkate almalı ve herhangi bir yeni rekombinant antijenin, tanısal faydayı göstermek için türe özgü olduğu belirlenmelidir.

3. KEDİLERDE *T. GONDII* ENFEKSİYONU

Toxoplasma gondii'nin neden olduğu Toksoplazmoz enfeksiyonu, dünya çapında en yaygın zoonotik enfeksiyonlardan biridir ve insanlar da dahil olmak üzere neredeyse tüm sıcakkanlı hayvanları etkilemektedir. *T. gondii*, zorunlu hücre içi protozoan etkidir. *T. gondii*'nin yaşam döngüsü, yalnızca kedi bağırsaklarında meydana gelen eşeyli üreme ve ara konaklarda veya kedigillerde gerçekleşen eşeysiz üreme olmak üzere iki temel aşamadan oluşmaktadır. Kediler enfekte avlardan veya kirli sudan doku kistleri veya bulaşıcı ookistler yediğinde, bazı parazitler bradizoitlere dönüşerek kalıcı doku kistleri oluşturur (Fernandes vd., 2023a). Diğerleri ise bağırsak epitel hücrelerini istila ederek eşeyli üremeye geçer ve sporlanmamış ookistler üretir. Bu ookistler salgılanır ve uygun çevre koşulları altında bulaşıcı sporlanmış ookistlere dönüşür (Halonen & Weiss 2013; Attias vd., 2020). *T. gondii*'nin mevcut laboratuvar tanısı, öncelikle, parazitin yaşam döngüsü aşamasına göre değişen salgi antijenlerinin tespitine dayanmaktadır (Ramakrishnan vd., 2019). İnsan Toksoplazmoz, konjenital ve edinilmiş olmak üzere iki ana klinik formda görülür. Konjenital enfeksiyon, gebelik sırasında dikey geçişten kaynaklanır ve düşük, hidrosefali ve ölü doğum gibi ciddi sonuçlara yol açabilir (Wong & Remington 1994). Edinilmiş Toksoplazmoz, genellikle bağışıklık sistemi yeterli bireylerde asemptomatiktir, ancak bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ensefalit, nörolojik bozukluklar, göz lezyonları ve sistemik enfeksiyonlar gibi yaşamı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilir (Aguirre vd., 2019). İnsan enfeksiyonu genellikle kontamine su, gıda veya topraktan sporlanmış ookistlerin yutulması veya doku kistleri içeren az pişmiş etin tüketilmesi yoluyla meydana gelmektedir (López vd., 2022; Fernandes vd., 2023b). Her iki bulaşıcı formun da kedi konaklarına dayanması, kedileri *T.*

gondii'nin çevresel yayılımı için kritik bir rezervuar haline getirmektedir. Bu durum, kedigillerin parazit bulaşma dinamiklerindeki merkezi rolünü ve bu popülasyonlarda hedefli gözetimin gerekliliğini vurgulamaktadır. Epidemiyolojik veriler, *T. gondii* yaygınlığının bölgeler ve konak türleri arasında önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir. Evcil kediler yaklaşık %35'lik (7/20) bir seroprevalans sergilerken, vahşi kedigillerdeki oranlar %59'u (3/5) aşabilmektedir (Montazeri vd., 2020). Dahası, bölgesel araştırmalar Çin anakarasındaki kediler arasında (1991-2015) %24'lük (1/4) bir seroprevalans bildirmiştir; bu, birkaç Avrupa ülkesine benzerken, Japonya gibi ülkeler yaklaşık %5,4'lük (3/50) önemli ölçüde daha düşük oranlar bildirmektedir (Ding vd., 2017). Yapılan bir sistematik inceleme ve meta-analiz çalışmasında, her 50 keden yaklaşık birinin herhangi bir zamanda aktif olarak ookist döktüğünü ve bunun çevre kirliliğine katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur (Hatam-Nahavandi vd., 2021). Kedilerin küresel dağılımı ve Toksoplazmozla ilişkili halk sağlığı riskleri göz önüne alındığında, kedi konakçıları hedef alan iyileştirilmiş gözetim ve tanı önlemleri esastır. Erken teşhis ve etkili önleme stratejileri, çevresel ookist kontaminasyonunu azaltabilir, hem insanlara hem de hayvanlara bulaşma riskini hafifletebilir.

2.1. Kedilerde *T. gondii*'nin Teşhisinde Serolojik Yöntemler

2.1.1. Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)

ELISA, antikorlar ve karşılık gelen antijenler arasındaki spesifik etkileşime dayanan, yaygın olarak kullanılan bir serolojik tekniktir. Algılama sinyalini güçlendirmek için enzim etiketli ikincil antikorlar kullanılır ve bu sayede yüksek hassasiyetli ve spesifik sonuçlar elde edilir. ELISA, etkin maliyet, IgM antikorlarını ölçeklenebilir ve verimli bir şekilde algılama kabiliyeti nedeniyle erken aşama tanıda özellikle değerlidir. Toksoplazmoz dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların klinik tanısında yaygın olarak kullanılır. ELISA, duyarlılığı ve özgüllüğü artırmak için çeşitli rekombinant antijenlerden yararlanarak Toksoplazmoz tanısında yaygın olarak kullanılır. En sık kullanılan antijenler arasında yüzey antijeni 1 (Surface Antigen 1 (SAG1)), yoğun granül antijeni 7 (Dense Granule Antigen 7 (GRA7)), immün haritalı protein 1 (Inhibitory Microneme Protein 1 / Immunogenic Microneme Protein 1 (IMP1)) ve apikal antijenler (Tablo 2) bulunmaktadır (Gao vd., 2023; Dong vd., 2024; Chong vd., 2011; Suwan vd., 2022).

Tablo 2. *T. gondii*'nin farklı antijenik hedefleri için oluşturulan serolojik tanı yöntemleri.

Hedef Gen	Gen ID	ELISA	ICT	GICA	TRFIA	Kaynak
SAG1	TGME49-233460	+	-	-	SAG1- GRA8	Qi vd., 2022; Huertas-López vd., 2022
SAG2	TGME49-271050	+	+	-	+	Lau & Fong 2008; Huang vd., 2004; Huertas-López vd., 2022
SAG3	TGME49-308020	+	+	-	-	Motazedian vd., 2016; Luo vd., 2018
GRA1	TGME49-270250	+	-	-	-	Lecordier vd., 2000
GRA3	TGME49-227280	+	-	-	-	Wang vd., 2023
GRA6	TGME49-275440	+	-	-	-	Lecordier vd., 2000
GRA7	TGME49-203310	+	+	-	+	Qi vd., 2022; Ybañez vd., 2020b; Huertas-López vd., 2022
GRA8	TGME49-254720	+	-	-	SAG1- GRA8	Jirapattharasate vd., 2021; Huertas-López vd., 2022
ROP1	TGME49-309590	+	-	-	-	Aubert vd., 2000
ROP5	TGME49-308090	+	-	-	-	Grzybowski vd., 2015
ROP14	TGME49-315220	-	+	-	-	Yang vd., 2022
ROP18	TGME49-205250	+	-	-	-	Grzybowski vd., 2015
BAG1	TGME49-259020	+	-	-	-	Qi vd., 2022
MAG1	TGME49-270240	+	-	-	-	Holec vd., 2007
AMA1	TGME49-255260	+	-	+	-	Gao vd., 2023
MIC3	TGME49-319560	+	-	-	-	Fatima vd., 2019
IMP1	TGME49-293470	+	-	-	-	Dong vd., 2024

“+”: uygulandı, “-”: uygulanmadı yada raporlanmadı. GICA: Gold immunochromatographic assay strips, TRFIA: Time-resolved fluorescence immunoassay, ICT: Immunochromatographic Test), ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

Serum seyreltme, HRP-konjuge ikincil antikorların konsantrasyonu ve seyrelticiinin bileşimi gibi kritik test parametreleri, performansı en üst düzeye çıkarmak için çeşitli işlemler yapılmaktadır. Bu işlem, spesifik olmayan arka plan sinyallerini etkili bir şekilde azaltarak, tanısal değeri nihai olarak klinik uygulama yoluyla doğrulanması gereken iELISA yönteminin özgüllüğünü ve güvenilirliğini arttırmaktadır. Bugüne kadar, çok sayıda rekombinant *T. gondii* proteini ELISA formatlarında değerlendirilmiş ve bir çok protein yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermiştir (Ferra vd., 2020; Kim vd., 2024). Ancak, hemoliz veya yüksek yağ içeren kan örnekleri, uygun olmayan kullanım durumunda yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlara yol açabilir. Bir diğer faktör ise, antikor üretimi az ise, tespit verimliliği de düşük olabilmekte ve zayıf pozitif olan sonuçlar negatif sonuçlarla kolayca karıştırılabilmektedir. Ayrıca, analizlerden sonraki veri analizi de çok önemlidir (Kim vd., 2024).

2.1.2. Modified Agglutination Test (MAT)

MAT, Toksoplazmozun serolojik tanısı için standart bir deney yöntemi olarak yaygın olarak önerilmektedir. Bu testin prensibi, antijenlerin serumda bulunan antikorlara spesifik olarak bağlanması ve bunun sonucunda antijen-antikor komplekslerinin oluşmasıdır. Bir örnekte spesifik antikorlar mevcut olduğunda, bunlar sabit antijenlere bağlanarak çıplak gözle veya mikroskop altında gözlemlenebilen görünür bir aglütinasyon reaksiyonu oluştururlar (Liyanage vd., 2024).

MAT oldukça hassastır ve düşük konsantrasyonlardaki antikorları tespit edebildiğinden, erken aşamadaki enfeksiyonları tanımlamak için uygundur. Prosedür nispeten basit, hızlı ve klinik kullanım için pratiktir. Ek olarak, aglütinasyonun derecesi yarı kantitatif analiz yapılmasına olanak tanır ve antikor düzeylerinin tahmin edilmesini sağlar. Karşılaştırmalı çalışmalar, kedilerin serumunda *T. gondii* antikorlarını tespit etmek için MAT'ın duyarlılık ve özgüllüğünün İndirekt Floresan Antikor Testi (IFAT) ile karşılaştırılabilir olduğunu göstermiştir (Macri vd., 2009). MAT ayrıca çeşitli konakçılarda mükemmel tanı performansı sergilemiştir. Ancak, tüm serolojik yöntemler gibi, MAT'ın da belirli sınırlamaları vardır. Örneklerin işlenmesi, işleme ve saklama koşulları gibi faktörlerin etkisiyle sıklıkla yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar ortaya çıkabilir. Ayrıca, MAT *T. gondii*'ye karşı antikorların varlığını doğrulayabilir, ancak yakın zamanda ve geçmişte meydana gelen

enfeksiyonları ayırt edemez ve enfeksiyonun spesifik aşamasını belirleyemez. Bu nedenle, referans örnekleri veya tamamlayıcı tanı yöntemleri kullanılarak doğrulayıcı testler yapmak çoğunlukla gereklidir (Hill vd., 2006).

2.1.3. Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT)

IFAT, kedi serumunda *T. gondii*'ye özgü antikorları tespit etmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu teknikte, kedi serumu *T. gondii* antijenleri ile inkübe edilir ve mevcut herhangi bir spesifik antikorun antijenlere bağlanmasına izin verilir. Daha sonra, antijenlere bağlanan birincil antikorlara bağlanan floresan etiketli anti-kedi sekonder antikor eklenir. Bu immün kompleksler oluştuğunda, floresan mikroskobu altında floresan ışımalar görüntülenebilir (Miller vd., 2002).

IFAT, antijen-antikor etkileşimlerinin doğrudan gözlemlenmesini ve floresan yoğunluğuna dayalı yarı kantitatif analiz yapılmasını sağlayan yüksek duyarlılığı ve özgüllüğü ile değerlidir. Ancak, prosedür teknik olarak zordur, titiz bir işlem gerektirir ve değişkenliğe eğilimlidir. Özellikle teknik uygulama veya sonuç yorumlaması optimal olmadığında, yanlış negatif veya yanlış pozitif sonuçlar ortaya çıkabilir. Çalışmalar, IFAT'ın duyarlılığı ve özgüllüğünün, laboratuvar personelinin beceri düzeyi ve deneyimi ile floresan yorumlamasının hassasiyeti gibi çeşitli faktörlerden önemli ölçüde etkilenebileceğini göstermiştir. Bu sınırlamalar, IFAT sonuçlarının tutarlılığını ve tekrarlanabilirliğini etkilemekte olup, testin tüm laboratuvarlarda rutin kullanılması için dezavantajlar oluşturmakta ve uygulama için eğitimli teknisyenler gerektirmektedir (Sarac vd., 2010).

Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, SAG1 tabanlı ELISA, kedilerde *T. gondii* antikorlarını tespit etmede mükemmel bir tanı performansı göstermiştir. Bu yaklaşım, daha basit bir protokol, daha kolay standardizasyon ve yüksek hassasiyet sunarak, büyük ölçekli tarama ve yaygın uygulamalar için ELISA testini IFAT'tan daha pratik hale getirmektedir (Hosseini et al., 2012). IFAT artık birincil tarama yöntemi olmasa da, *T. gondii* tespiti için altın standart olmaya devam etmekte ve özel uygulamalarda benzersiz değerini korumaktadır. ELISA ile birlikte kullanıldığında, tanı verimliliğini daha fazla artırabilir (Garcia vd., 2006; Dubey vd., 1995). *T. gondii* enfeksiyonunun ön taraması için ELISA testinin kullanılması ve ardından IFAT ile ikincil doğrulama yapılması, sadece tespit sürecini optimize etmek ve verimliliği

artırmakla kalmaz, aynı zamanda tespit maliyetini de etkili bir şekilde azaltabilir (Hosseininejad vd., 2009).

2.1.4 Immunochromatographic Test (ICT)

ICT, antijen-antikor bağlanma prensibine dayanır ve sofistike ekipman gerektirmeden hızlı ve kolay patojen tespiti avantajları sunar. Bu testler genellikle sadece birkaç damla örnek gerektirir ve yaklaşık 30 dakika içinde sonuç verebilir, bu durum immunokromatografik testleri, uygulama kolaylığı veya sahada hızlı teşhis için çok uygun hale getirmektedir. Ancak, enfeksiyonun erken aşamalarında antikor üretiminin yetersiz olması nedeniyle, örnek kolayca yanlış negatif olarak değerlendirilebilir ve bu yöntem sadece kalitatif analiz yapmak için uygulanabilir (Hashoosh & Majeed 2014).

Kedilerde *T. gondii* etkenlerinin tespiti bağlamında, ICT genellikle *T. gondii*'ye karşı spesifik antijenleri veya antikorları (genellikle IgM veya IgG) tanımlamak için kullanılır (Chapey vd., 2017). Kan, dışkı veya diğer örnekler bulunan antijenler, test kitinde bulunan spesifik antikora bağlanır ve kromatografik şeritte gözle görülür bir renk değişikliğine yol açar. FASTest® TOXOPLASMA g gibi ticari ICT kitleri, teşhis laboratuvarlarında kullanılan IFAT gibi yerleşik yöntemlerle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Çalışmalar, bu hızlı testlerin tanısal performansının, özellikle duyarlılık ve özgüllük açısından, geleneksel serolojik yöntemlerle karşılaştırılabilir olduğunu ve güvenilirliğini kanıtladığını göstermektedir (Villanueva-Saz vd., 2023). ICT sadece kedilerde *T. gondii* tespiti için uygulanabilir olmakla kalmaz, aynı zamanda diğer hayvanlarda paraziter enfeksiyonların teşhisinde de giderek daha fazla kullanılmaktadır. Örneğin, ELISA antijeni olarak yaygın olarak kullanılan bir yüzey proteini olan SAG3 (Surface Antigen 3), domuzlar için ICT uygulamalarında büyük potansiyel göstermiştir (Luo vd., 2018). ROP14 proteinde (Rhoptry Protein 14) benzer amaçlarla araştırılmıştır (Yang vd., 2022). Özellikle, Ybañez ve Nishikawa (2020), Ybañez ve arkadaşları (2020), kedilerdeki Toksoplazmoz teşhisinde GRA7'yi ICT için bir antijen olarak kullanan ilk kişiler olmuş, araştırmada 100 kedi teste tabi tutulmuş ve sonuçları çoklu antijen iELISA ile karşılaştırmıştır (Ybañez vd., 2020b; Ybañez & Nishikawa, 2020). Bulgular, iki yöntem arasında güçlü bir uyum olduğunu göstermiş ve testin güvenilirliğini doğrulamıştır. Buna ek olarak, *T. gondii* konakçı hücre istilasında rol oynayan önemli bir molekül olan SAG2, şu anda

kedilerde anti- *T. gondii* antikorlarını tespit etmek için hızlı ICT testlerinde antijen olarak kullanılmaktadır (Tablo 2) (Lau & Fong, 2008; Huang vd., 2004). Gelecekte, nanoteknolojideki ilerlemeler ve çoklu *T. gondii* antijenlerini içeren çoklu ICT testlerinin geliştirilmesi, bu yöntemin hassasiyetini ve tanısal doğruluğunu daha da artırabilir ve hem veterinerlik hem de halk sağlığı alanlarında Toksoplazmozun tespiti için daha güçlü araçlar sağlayabilir.

2.1.4.1. Gold immunochromatographic assay strips (GICA)

GICA, antikorları veya antijenleri işaretlemek için altın nanopartiküller kullanan bir tür immünokromatografik tekniktir. Bu nanopartiküller belirgin kolorimetrik değişiklikler gösterir ve test şeridi boyunca hareket ederken sonuçların çıplak gözle doğrudan gözlemlenmesini sağlar. Bu yöntem analiz sonuçlarını dakikalar içinde verebilmekte, bu da özellikle özel laboratuvar ekipmanının bulunmadığı ortamlarda hızlı ve kullanışlı bir tanı aracı olabilmesi için test yöntemini uygun hale getirmektedir. ELISA ile karşılaştırıldığında, GICA daha hızlı sonuç verir ve daha basit bir işlemdir. Son zamanlarda yapılan bir araştırmada, *T. gondii* AMA-1 antijeni kullanılarak geliştirilmiş GICA yöntemi, aynı antijen kullanılmış olan ticari bir ELISA ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Yapılan karşılaştırmada GICA yöntemi ELISA yönteminden daha yüksek duyarlılık ve özgüllük göstermiştir. Antijen seçimi açısından, AMA-1 tabanlı GICA, GRA7 kullanan testlerden daha iyi performans göstererek üstün tanı performansı sergilemiştir (Tablo 2). Ek olarak, AMA1C-GICA platformunun dijital değerlendirme teknolojileriyle entegre edilmesi ile, insan hatası en aza indirgenmiş, testin doğruluğu artırılmış ve daha hassas kantitatif analizlere olanak sağlanmıştır (Fan vd., 2024).

2.1.4.2. Time-resolved fluorescence immunoassay (TRFIA)

TRFIA, zamana bağlı floresan tespiti ile immünoassay prensiplerini birleştiren oldukça hassas bir tekniktir. Floresan ömrü uzun olan ve lantanit iyonu europium gibi geniş sinyal süresine sahip floresan işaretleyiciler kullanır. Algılama sırasında, cihaz önce tüm floresan maddeleri uyararak arka plan floresansının zayıflamasını sağlar, ardından kalan floresan sinyallerini okur. Bu noktada, sinyaller neredeyse tamamen hedef maddelerdeki lantanit işaretleyicilerden gelir, bu da TRFIA'nın arka plan floresans parazitini önemli ölçüde azaltmasını sağlar ve örnekteki antijenlerin veya antikorların daha net

ve daha doğru ölçümlemlerini mümkün kılar (Şekil 2). Huertas-López ve arkadaşları (2022), GRA7, kısmi GRA7, SAG2, kısmi SAG2, SAG1 ve GRA8'in kimerik antijenleri dahil olmak üzere *T. gondii*'nin rekombinant antijenlerini kullanarak çoklu TRFIA yöntemleri geliştirdiler. Bu TRFIA'ların performansı, ticari ELISA ve MAT yöntemleriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiş, sonuçta, SAG1-GRA8 kimerik antijene dayalı TRFIA yönteminin, kedilerde *T. gondii* enfeksiyonunu tespit etmede tek bir antijene göre daha iyi bir tespit performansı sergilediği bildirilmiştir. Tek rekombinant antijenler kullanan testlerle karşılaştırıldığında, kimerik antijenlerle TRFIA daha yüksek hassasiyet ve özgüllük göstermiştir (Huertas vd., 2022) (Şekil 2). Bu bulgular, kimerik antijenlerin GRA7 veya SAG2 bazlı ELISA'lar ve GRA7 bazlı ICT'ler dahil olmak üzere diğer immünolojik testlerde tanı doğruluğunu artırmada avantajlı olabileceğini göstermektedir (Tablo 2) (Ybañez vd., 2020b; Cai vd., 2015).

2.2. Kedilerde *T. gondii*'nin Teşhisinde Antijen ve Moleküler Bazlı Yöntemler

2.2.1. Polymerase Chain Reaction (PCR) ve gelişmiş PCR

PCR, spesifik DNA dizilerinin in vitro amplifikasyonunu sağlayan bir moleküler tekniktir. *T. gondii* enfeksiyonunun tanısında, DNA genellikle kedilerin kanından, dokularından veya diğer biyolojik örneklerinden ekstrakte edilir. B1 geni ve REP-529 gibi tekrarlayan korunmuş bölge ile, *T. gondii* genlerini hedefleyen spesifik primerler, denatürasyon, annealing ve uzama döngülerinin tekrarı yoluyla hedef DNA'yı amplifiye etmek için kullanılır (Veronesi vd., 2017). Elde edilen amplifikasyon ürünleri daha sonra jel elektroforezi veya floresan boyalar kullanılarak tespit edilir ve *T. gondii*'ye özgü DNA'nın varlığı doğrulanır. PCR, yüksek hassasiyet ve özgüllük sunar. Gen spesifik primerlerin kullanılması, tanı doğruluğunu artırır ve yanlış pozitif sonuç olasılığını azaltır. Ayrıca, PCR, *T. gondii* suşları arasında ayırım yapabilir ve hızlı, kesin tespit sağlar; bu, serolojik testlerin kesin sonuç vermediği durumlarda özellikle değerlidir (Sroka vd., 2018b). Örneğin, *T. gondii* enfeksiyonunun ilk aşamasında, kedi serumundaki spesifik antikor seviyeleri düşük kalabilir veya tespit eşiğinin altına düşebilir. Bu gibi durumlarda, doku örneklerinin PCR tabanlı tespiti genellikle daha güvenilir tanı sonuçları sağlar (Lappin, 2010).

Real Time Quantitative PCR (qPCR) ve Nested-PCR gibi gelişmiş PCR teknikleri, hassasiyet ve kantifikasyonu iyileştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Belaz vd., 2015; Zamora vd., 2020; Sroka vd., 2023). Çalışmalar, qPCR'nin özellikle postmortem doku analizinde MAT gibi geleneksel serolojik yöntemlerden daha iyi performans gösterdiğini ortaya koymuştur (Adriaanse vd., 2020). qPCR'nin en önemli avantajlarından biri, *T. gondii*'yi *Hammondia hammondi* gibi yakından ilişkili türlerden ayırt etme yeteneğidir. *T. gondii*'den farklı olarak, *H. hammondi* doku kistleri oluşturmaz, bu da bu ayrımı doğru tanı ve epidemiyolojik çalışmalar için kritik hale getirir. qPCR tabanlı tespitin yüksek özgüllüğü, özellikle doku örneklerinde tanı güvenilirliğini artırır. Son yıllarda, SAG1, MAG1 ve BAG1 gibi rekombinant proteinlere dayalı qPCR tespit sistemi, bu teknolojinin uygulama alanını daha da genişletmiştir (Yu vd., 2013; Khanaliha vd., 2021; Selseleh vd., 2012). Ancak qPCR, özel laboratuvar ekipmanı ve eğitimli personel gerektirmekte, bu da rutin klinik veya saha ortamlarında kullanımını sınırlayabilmektedir. Nested PCR, geleneksel PCR'a göre önemli bir hassasiyet avantajına sahiptir ve çok düşük patojen yüküne sahip klinik örnekleri etkili bir şekilde tespit edebilir. Ancak, bu teknolojinin karmaşık çalışma süreci, uzun süreli kullanım ve yüksek tespit maliyeti gibi sınırlamaları vardır. Şu anda, Nested-PCR, B1 geni, ITS-1 sekansı, GRA6 geni ve GRA7 geni gibi çeşitli *T. gondii* spesifik hedeflerin tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zamora vd., 2020; Fazel vd., 2021; Costa vd., 2016; Burrells vd., 2013). Birçok tespit yöntemi hassasiyet açısından PCR'den üstün olsa da, PCR, *T. gondii* enfeksiyonunu doğrulamak ve parazit suşlarını yüksek hassasiyetle karakterize etmek için hala önemli bir araçtır. Geleneksel PCR yöntemleri genellikle özel aletler ve yüksek eğitimli personel gerektirir. Bu faktörler, PCR'nin yerinde teşhis uygulamalarını sınırlamaktadır.

2.2.2. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

LAMP tekniği, *Toxoplasma gondii* DNA'sının hızlı ve yüksek duyarlılıkla çoğaltılmasını sağlayan izotermal bir amplifikasyon tekniğidir. Bu reaksiyonlar genellikle 60–65°C sabit sıcaklıkta yürütülür ve özel olarak tasarlanmış dört ila altı primer ile Bst DNA polimerazı gibi zincir-ayırıcı (strand-displacing) DNA polimerazlar kullanılır (Notomi vd., 2000). Amplifikasyon süreci, kısa sürede yüksek miktarda DNA üretimiyle sonuçlanır ve elde edilen sonuçlar doğrudan floresan boyalarla ya da oluşan magnezyum

pirofosfatın beyaz çökeltilerinin gözlemlenmesiyle değerlendirilebilir. Alternatif olarak, reaksiyon türbiditesindeki (bulanıklık düzeyindeki) değişimler fotometrik olarak ölçülerek de analiz edilebilir (Tomita vd., 2008). Önceki çalışmalar, *Toxoplasma gondii*'nin tespiti için LAMP yöntemini başarıyla uygulamıştır. Örneğin, bir yaklaşımda *T. gondii*'nin yüksek oranda tekrarlayan 529-bp DNA dizisi hedef alınmış ve tespitin sağlanabilmesi için flüorescein izotiyosiyanat (FITC) ile işaretlenmiş primerler kullanılmıştır. Amplifikasyon ürünleri, lateral akış dipstikleri (LFD, lateral flow dipstick) aracılığıyla görselleştirilmiş ve bu sayede yüksek özgüllük (spesifisite) ve duyarlılığa (sensitivite) sahip bir LAMP-LFD testi geliştirilmiştir. Bu yöntemin dikkat çeken bir sınırlılığı, yalnızca enfeksiyonun erken evrelerinde parazitin saptanabilmesidir; çünkü tespit, dolaşımdaki parazit DNA'sının varlığına dayanır (Xue vd., 2021). Bununla birlikte, son dönemde yapılan çalışmalar, rekombinant proteinlerin (örneğin SAG1 ve SAG2) LAMP teknolojisiyle entegre edilmesiyle yüksek duyarlılık ve özgüllük elde edildiğini göstermiştir. Bu yenilikçi yaklaşım, *T. gondii* enfeksiyonlarının doğru tespiti için umut verici bir strateji sunmaktadır (Lau vd., 2010). Başka bir araştırmada ise, *T. gondii*'nin B1 genini hedef alan renk değişimine dayalı (kolorimetrik) LAMP-RE testi geliştirilmiş ve bu yöntem sayesinde kedi dışkısında parazit DNA'sı başarıyla tespit edilmiştir. Bu uyarlama, LAMP yönteminin saha tanı uygulamalarında esnekliğini ve potansiyelini bir kez daha ortaya koymuştur (Karakavuk vd., 2022). Genel olarak, LAMP yöntemi, özellikle ileri tanı altyapısına erişimin kısıtlı olduğu bölgelerde, kedilerde Toksoplazmozun hızlı ve yerinde (saha koşullarında) tespiti için umut vadeden bir araç olarak değerlendirilmektedir.

2.2.3. RPA–CRISPR/Cas9 Tabanlı Yöntemler

CRISPR/Cas9, bakterilerin adaptif bağışıklık sisteminden türetilmiş, güçlü bir gen düzenleme teknolojisidir. Bu sistem, bir Cas9 endonükleaz enzimi ve Cas9'u belirli bir DNA dizisine yönlendiren bir rehber RNA (gRNA) bileşeninden oluşur; böylece hedef DNA bölgesi yüksek özgüllükle tanınır ve kesilir (Shen vd., 2017). CRISPR-Cas9 sistemi, genetik materyalde kesin ve hedefe yönelik değişikliklerin yapılmasına olanak tanıyarak, örneğin ROP5 veya ROP18 gibi virülansla ilişkili genlerin hedefli olarak susturulması (knockout) yoluyla *Toxoplasma gondii*'de genotip-temelli virülans farklılıklarının araştırılmasına katkı sağlar (Behnke vd., 2015). Bunun yanı sıra,

bu teknoloji moleküler tanı uygulamaları açısından da giderek artan bir potansiyele sahiptir. *T. gondii*'nin tespiti bağlamında, rekombinaz polimeraz amplifikasyonu (RPA) ile CRISPR/Cas9 teknolojisinin birleştirilmesiyle kedi dışkı örneklerinde *T. gondii* DNA'sını saptamaya yönelik yeni bir tanısal yöntem geliştirilmiştir. Bu yaklaşım, *T. gondii*'ye ait yüksek oranda tekrarlayan 529-bp RE (repetitive element) bölgesini hedef almakta ve sonuçlar lateral akış şeritleri (lateral flow strips) aracılığıyla görselleştirilmektedir (Wu vd., 2024). Klasik PCR yöntemleriyle karşılaştırıldığında, RPA tekniği termal döngü sistemine gereksinim duymadan çalışır (Khan & Noordin, 2020; Yin vd., 2017). Bu yöntem, CRISPR/Cas9 sisteminin yüksek özgülüğe sahip DNA kesim aktivitesiyle birleştirildiğinde, *T. gondii*'nin tespiti için hızlı, duyarlı ve saha koşullarında uygulanabilir bir alternatif sunar. Birleşik RPA–CRISPR/Cas9 platformu, özellikle kaynakların sınırlı olduğu bölgelerde veya veteriner hekimlikte nokta-bakım (point-of-care) tanı uygulamaları için büyük bir pratik potansiyel taşımaktadır.

2.2.4. Tanı ve Uygulamalarda Nanoteknoloji

Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi biyobozunur kopolimerler, polilaktik asit ve poliglikolik asitten oluşan, *Toxoplasma gondii* hedefli ilaç ve aşı taşıma sistemleri olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Çeşitli çalışmalarda, rekombinant SAG1 (rSAG1) PLGA nanopartiküllerine başarılı bir şekilde kapsüllenmiş ve intranazal uygulamanın güçlü bir humoral immün yanıt oluşturabildiği gösterilmiştir (Allahyari, 2022). Test edilen farklı antijenler arasında, rSAG1, PLGA tabanlı aşı formülasyonlarında en yaygın olarak incelenen antijen olmayı sürdürmektedir. Ayrıca, ROP18 rhoptry proteini kapsülleyen PLGA nanopartiküllerinin, bağışıklama sonrasında önemli düzeyde koruyucu immün yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (Nabi vd., 2013). Başka bir çalışmada, *T. gondii* oksidoredüktazını kodlayan DNA aşısı, kitosan-PLGA nanopartikül formülasyonu ile taşındığında farelerde hem humoral hem de hücrel immün yanıtı tetiklemiş; yüksek titrede spesifik antikor üretimini sağlamış ve enfeksiyonun etkili şekilde önlenmesine ve kontrolüne katkıda bulunmuştur (Yu vd., 2021). Nanomalzemeler ayrıca tanısal uygulamalar için de araştırılmıştır. Karbon nanofiberler ve altın nanopartiküller kullanan bir tespit platformu, anti- *T. gondii* IgG antikorlarının yüksek duyarlılıkla saptanmasını sağlamıştır. Altın nanopartiküller, biyosensörlerin elektro-

kimyasal sinyali artırmak, *T. gondii* antijenlerini sensör yüzeyine immobilize etmek ve antijen-antikor komplekslerinin oluşumunu kolaylaştırmak suretiyle, *T. gondii* enfeksiyonlarının doğru serolojik tespiti için etkili bir yöntem sunmaktadır (Salimi vd., 2023).

4. KEDİLERDE *T. GONDII* TANISI İÇİN GENEL DEĞERLENDİRME

Tanı testlerinin karşılaştırmalı çalışmaları *T. gondii* enfeksiyonu için serolojik tanı yöntemleri arasında IFAT, kedi kan örneklerinin toplanmasını ve özel test cihazları ve eğitimli personel ile donatılmış bir laboratuvara taşınmasını gerektirir. Sonuç olarak, bu yöntem saha uygulamaları için uygun değildir (Oshiro vd., 2015; Unzaga vd., 2014). ELISA kolorimetrik bir tepki verir ve güçlü seropozitiflik durumlarında, sonuçlar kalitatif değerlendirme için yerinde görsel olarak yorumlanabilir (Huang vd., 2023). Ancak, kantitatif yorumlama hala laboratuvar tabanlı analiz gerektirir. ICT'ler, test şeridinde görülebilen renk değişiminin hızlı, yerinde tespiti kolaylaştırdığı yanıl akış prensibine göre çalışır (Terkawi vd., 2013). Benzer şekilde, MAT de saha koşullarında uygulanabilir, çünkü pozitif sonuçlar çıplak gözle veya düşük büyütme mikroskobu altında gözlemlenebilen karakteristik bir aglütinasyon paterni oluşturur. Buna karşılık, PCR gibi moleküler tanı yöntemleri, numune işlemeyi (ör. dışkı, kan veya doku) ve ardından laboratuvar ekipmanı kullanılarak nükleik asit ekstraksiyonu ve amplifikasyonunu gerektirir. LAMP, izotermal koşullar altında operasyonel basitlik ve daha hızlı sonuç verme avantajı sunsa da ekipman ve teknik gereksinimler nedeniyle laboratuvar ortamlarıyla sınırlı kalmaktadır. Benzer şekilde, CRISPR/Cas9 tabanlı tespit, gelişmiş özgüllük ve hassasiyet gösterse de, şu anda araştırma ve laboratuvar ortamlarıyla sınırlıdır ve yerinde teşhis için henüz uygulanabilir değildir. Çeşitli coğrafi bölgelerden vaka çalışmaları ELISA ve PCR, Pakistan'ın Khyber Pakhtunkhwa eyaletinin çeşitli bölgelerinde 197 evcil ve sokak kedisinde *T. gondii* enfeksiyonunu değerlendirmek için kullanılmıştır. Sonuçlar, muhtemelen sokak kedilerinin karmaşık ve sağlıksız ortamlara daha fazla maruz kalması nedeniyle, evcil kedilere kıyasla sokak kedilerinde enfeksiyon oranının önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca, yaşlı kedilerde enfeksiyon prevalansı daha yüksek ve sıklıkla kronik klinik semptomlar sergilenmiştir (Majid vd., 2021). Bu bulgular, *T. gondii*

enfeksiyonu ve bulaşmasının erken teşhisini ve zamanında müdahaleyi kolaylaştırmak için, hedefli tarama programlarının yüksek riskli popülasyonlara, özellikle sokak kedilerine ve yaşlı kedilere öncelik vermesi gerektiğini göstermektedir. Kolombiya'da, kedi dışkı örneklerinin PCR analizi, kentsel sokak kedisi popülasyonları ile insan popülasyonunda *T. gondii*'nin yüksek prevalansı arasında güçlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuş ve yönetilmeyen kedi popülasyonlarının oluşturduğu zoonotik riski vurgulamıştır (Zamora vd., 2020). Serolojik testler büyük ölçekli epidemiyolojik araştırmalar için avantajlar sunarken, PCR yöntemleri dışkı, doku ve kan dahil olmak üzere daha fazla numune çeşitliliği ve daha geniş tanısal uygulamalar için uygulanabilirlik sağlamaktadır. Ayrıca, B1 veya REP gibi genleri hedef alan çoklu kopya hedefli PCR, *T. gondii* enfeksiyonunun tespitinde doğruluğu önemli ölçüde artırmaktadır. Bu nedenle, serolojik tarama ile moleküler doğrulamayı birleştiren çoklu tanı yaklaşımlarının entegrasyonu, çeşitli ortamlarda *T. gondii* enfeksiyonunun daha kapsamlı ve kesin bir değerlendirmesini sağlayabilir. Tanı araçlarının hastalık kontrolü üzerindeki etkisi Serolojik testler, kedilerde *T. gondii* enfeksiyonunu tespit etmek için en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri olmaya devam etmektedir. Bu testler, öncelikle enfeksiyonun erken aşamalarında spesifik IgG ve IgM antikorlarının tanımlanması yoluyla gerçekleştirilir (Filice vd., 1983). PCR gibi moleküler teknikler, şüpheli vakalardan alınan kan, dışkı veya doku örneklerinde *T. gondii* DNA'sını tespit ederek tanıyı daha da destekleyebilir (Castillo-Cuenca vd., 2023). Kesin konakçı olarak, evcil ve vahşi kediler bulaşıcı oositlerin çevresel yayılmasında merkezi bir rol oynar. Kedi popülasyonlarının rutin taraması, enfekte bireylerin izolasyonu ve tedavisi ile birleştirildiğinde, oosit yayılımını önemli ölçüde azaltabilir. Bu da, kontamine hava, su veya gıda yoluyla diğer hayvanlara ve insanlara bulaşmayı sınırlar (Dubey vd., 2020c).

5. 4. TEŞHİS ARAŞTIRMALARINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

4.1. İleri Teknolojilerin Entegrasyonu

Toxoplasma gondii'nin ince ve ayırt edici olmayan morfolojik özellikleri, doku örneklerinin geleneksel mikroskopik incelemesini büyük ölçüde uzman deneyimine bağımlı kılmakta, bu da tanı sürecini zorlaştırmaktadır. Bu, tanı

verimliliğini sınırlamakla kalmaz, aynı zamanda tanı kaçırma veya yanlış tanı koyma olasılığını da son derece artırır. Yapay Zeka (Artificial Intelligence (AI)) ve Makine Öğrenimi (Machine Learning (ML)) alanındaki son gelişmeler, kedi Toksoplazmozunu tanısının doğruluğunu, verimliliğini ve hızını artırmak için umut verici araçlar sunmaktadır. AI sistemleri, kan yayma ve doku kesitlerinin mikroskopik görüntülerini analiz ederek, *T. gondii* enfeksiyonunun morfolojik göstergelerini yüksek hassasiyetle otomatik olarak tespit edebilir (Yakimovich vd., 2020). Örneğin, transfer öğrenme teknikleriyle eğitilmiş bilgisayar görme modelleri, klinik örneklerde *T. gondii*'nin belirli formlarını tanımlama ve erken aşamadaki enfeksiyonları tespit etme yeteneği göstermiştir (Li vd., 2020). Bu sistemler, laboratuvar personelinin manuel yükünü önemli ölçüde azaltır ve insan hatasından kaynaklanan yanlış pozitif sonuçları en aza indirir.

Görüntü tabanlı tanıya ek olarak, AI, patojen virülansı ve konakçı bağışıklık tepkileri dahil olmak üzere çok sayıda klinik ve biyolojik parametrenin kapsamlı analizini mümkün kılarak hem tanı hem de tedavi stratejilerine bilgi sağlar. Kalıpları tanımlayan ve veriye dayalı tahminlerde bulunan makine öğrenimi algoritmaları, laboratuvar test sonuçlarını ve klinik semptomları kapsayan büyük veri kümelerini işleyebilir (Fisch vd., 2019; 2020; 2021). Bu yetenek, *T. gondii* enfeksiyonu riski daha yüksek olan kedileri tanımlayabilen öngörülse modellerin geliştirilmesini destekler ve böylece erken müdahale ve hedefe yönelik önlemeyi kolaylaştırır (Hu vd., 2022; Poostchi vd., 2018). Ayrıca, AI teknolojileri, veterinerlik, teşhis ve araştırma alanlarında gelişmiş veri paylaşımı ve entegrasyonu yoluyla disiplinler arası işbirliğini teşvik edebilir. Bu ağ tabanlı yaklaşım, teşhis iş akışlarının verimliliğini daha da artırır ve *T. gondii* enfeksiyonlarının kontrolü için sağlam, ölçeklenebilir çözümlerin geliştirilmesini destekler.

4.2. Kapsamlı Tanı Panellerinin Geliştirilmesi

Tek bir tanı yöntemine güvenmek, yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlar alma riskini beraberinde getirir. Birden fazla tespit tekniğini entegre etmek, bu sınırlamaları etkili bir şekilde azaltabilir ve tanı doğruluğunu ve güvenilirliğini önemli ölçüde artırabilir. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve Sanger Dizileme, *T. gondii* enfeksiyonlarının genotipini etkili bir şekilde ayırt edebilir ve kesin tanı koymayı mümkün kılar (Fernandes vd., 2025). ELISA ve MAT gibi serolojik testler, kullanım kolaylığı, hızlı sonuç verme ve büyük ölçekli ön taramaya uygunluğu nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu testlerin bazıları yerinde yorumlamaya olanak tanıyarak

örnek nakli ve saklama ile ilgili hataları en aza indirir (Hayrapetyan vd., 2023; Seefeldt vd., 1989). ICT'ler, hızlı, kullanıcı dostu ve ekipman gerektirmeyen ön sonuçlar sağlayarak ek avantajlar sunar. Ön taramalarda pozitif veya belirsiz sonuçlar veren örneklerde, *T. gondii* DNA'sının varlığını doğrulamak için PCR gibi moleküler yöntemler kullanılır. Bu iki aşamalı yaklaşım, yüksek tanı özgüllüğü ve duyarlılığı sağlar.

Serolojik, moleküler ve immünokromatografik yöntemlerin entegrasyonu, genel tanı performansını iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda operasyonel esnekliği de artırır. Spesifik koşullara ve tanı gereksinimlerine bağlı olarak, pratisyenler, optimum maliyet etkinliğini korurken verimliliği ve doğruluğu optimize etmek için test kombinasyonlarını özelleştirebilirler. Bu çoklu yöntem stratejisi, kedi toksoplazmozunun erken teşhisi, önlenmesi ve kontrolü için sağlam bir teknik destek sağlar.

4.3. Teşhis protokollerinin standardizasyonu

Kedilerde *T. gondii* enfeksiyonu için birleşik teşhis kılavuzları oluşturmak, tarama, teşhis ve izlemede tutarlılığı artırmak için çok önemlidir. Bu protokoller, çeşitli ortamlardaki evcil ve vahşi kedilere uygulanabilir olmalıdır. İlk tarama, kedinin semptomları ve potansiyel maruz kalma öyküsü dikkate alınarak klinik değerlendirme ile başlamalıdır. Enfeksiyon kaynaklarına maruz kalma olasılığı olan asemptomatik kedilerde, birincil tarama yöntemi olarak serolojik testler önerilir (Dard vd., 2016; Rostami vd., 2018). Serolojik sonuçlar kesin değilse, enfeksiyon durumunu doğrulamak için PCR gibi moleküler yöntemler kullanılmalıdır (Liu vd., 2015; Robert-Gangneux & Dardé 2012). PCR testleri özel laboratuvar koşulları gerektirdiğinden, tanı doğruluğunu sağlamak için örnek toplama, işleme, taşıma ve saklama için ciddi protokoller oluşturulmalıdır. Örnek bütünlüğünü ve test sonuçlarının güvenilirliğini korumak için standartlaştırılmış çalışma prosedürleri uygulanmalıdır. Tanı yorumlaması hem serolojik hem de moleküler yöntemleri kullanarak yapılan kapsamlı bir değerlendirmeye dayandırılmalıdır. Laboratuvarlar arası değişkenliği en aza indirmek ve tanı hatalarını azaltmak için, sonuç yorumlamasına yönelik standartlaştırılmış kriterler geliştirilmeli ve tüm bölgelerde aynı şekilde uygulanmalıdır. Enfeksiyon doğrulandıktan sonra, tedavi kararları klinik tablo, enfeksiyonun ciddiyeti ve hayvanın genel sağlık durumunun bir kombinasyonu temelinde alınmalıdır. Semptomatik kediler,

hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak ve bulaşma riskini azaltmak için zamanında tedavi edilmelidir. Buna karşın, asemptomatik kediler, enfeksiyon durumundaki değişiklikleri izlemek için düzenli olarak takip edilebilir.

Rutin epidemiyolojik sürveyans, bölgesel prevalansı değerlendirmek ve yüksek riskli popülasyonları belirlemek için çok önemlidir. Yabani kediler, geniş hareket alanları ve *T. gondii*'nin çevresel kaynaklarına maruz kalma risklerinin yüksek olması nedeniyle daha sıkı bir takip gerektirir. Endemik bölgelerde, yabani kedi popülasyonlarının düzenli olarak antikor taraması yapılması önerilir. Uzun vadeli izleme ve araştırmayı desteklemek için, demografik veriler, enfeksiyon durumu, tedavi geçmişi ve tedavi sonuçları dahil olmak üzere *T. gondii* ile enfekte kedilerle ilgili ayrıntılı bilgileri listelemek için merkezi bir veritabanı oluşturulmalıdır. Bu standartlaştırılmış veri deposu, koordineli yönetimi kolaylaştıracak, kurumlar arası veri paylaşımını artıracak ve Toksoplazmoz ile ilgili devam eden araştırma ve halk sağlığı girişimlerini destekleyecektir.

5. GENEL DEĞERLENDİRME VE SONUÇ

T. gondii için şu anda kullanılan çoğu tanı yöntemleri, büyük ölçüde laboratuvar altyapısı ve eğitimli personele bağlıdır. Bu da çeşitli alanlarda ve klinikte uygulanabilirliğini sınırlamaktadır. Bu boşluğu gidermek için, düşük kaynaklı ve yerinde koşullar da dahil olmak üzere çeşitli ortamlara uyarlanabilen, hızlı ve kullanıcı dostu tanı araçları geliştirilmesi acil bir ihtiyaçtır.

Mevcut tanı yaklaşımları önemli çapraz reaktivite ve sınırlı tespit verimliliği gibi, yeterince çözülememiş kalıcı zorluklarla karşı karşıyadır. Spesifikliği artırmak için, gelecekteki çabalar erken aşama enfeksiyonla ilişkili yüksek spesifik antijenlerin tanımlanmasına veya tanı doğruluğunu artırmak için çoklu antijen hedef stratejilerinin kullanılmasına odaklanmalıdır (Holec-Ga, sior 2013; Kotresha, 2010).

T. gondii antijen proteinleri üzerine yapılan son çalışmalar, bu proteinlerin çoğunun orta ve geç şizogoni aşamalarında tutarlı bir ekspresyon sergilediğini ortaya koymuştur. Bu gözlem iki önemli noktaya işaret etmektedir: ilk olarak, *T. gondii*'deki şizogoni asenkron olabilir ve belirli bir zamanda birden fazla gelişim aşaması bir arada bulunabilir; ikinci olarak, şizogoni sırasında bu genlerin genel ekspresyon düzeyleri diğer yaşam döngüsü

aşamalarına kıyasla düşüktür. Bu bulgular, fareler ve diğer ara konaklar gibi mevcut deneysel modellerin doğasında bulunan sınırlamaları yansıtır olabilir. Bu modeller, öncelikle takizoit, bradizoit ve doku kisti aşamalarının in vivo çalışmasına izin verirken, şizogoni sırasında eksprese edilen genler hakkında sınırlı bilgi sağlar (Ramakrishnan vd., 2019).

Kedilerde *T. gondii* enfeksiyonunun erken teşhisi için şizogoni, sporlanmış oosit ve bradizoit aşamaları en kritik gelişim aşamalarını temsil eder. Yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip serolojik testler geliştirmek için, tanı hedefleri bu aşamalarda güçlü bir şekilde ifade edilen genlere öncelik vermelidir. Bradizoit ve sporlanmış oosit aşamaları için birkaç yüksek ekspresyon veren protein tanımlanmış olsa da, şizogoni ile ilişkili çok az sayıda spesifik protein karakterize edilmiştir ve bunlar genellikle düşük seviyelerde ifade edilmektedir, bu da farklı antijen ve protein hedefleri için daha fazla araştırma yapılmasını gerektirmektedir.

6. KAYNAKÇA

- Adriaanse, K., Firestone, S. M., Lynch, M., Kirkwood, R., Hill, J., Lumsden, L., & Miller, J. (2020). Comparison of the modified agglutination test and real-time PCR for detection of *Toxoplasma gondii* exposure in feral cats from Phillip Island, Australia, and risk factors associated with infection. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 12, 126–133.
- Aguirre, A. A., Longcore, T., Barbieri, M., Ryser-Degiorgis, M. P., Sethi, K., & Daszak, P. (2019). The one health approach to toxoplasmosis: epidemiology, control, and prevention strategies. *Ecohealth*, 16(2), 378–390. doi: 10.1007/s10393-019-01405-7
- Allahyari, M. (2022). Plga nanoparticles as an efficient platform in protein vaccines against *Toxoplasma gondii*. *Acta Parasitologica*, 67(2), 582–591. doi: 10.1007/s11686-021-00499-w
- Amairia, S., Rouatbi, M., Rjeibi, M. R., Nouasri, H., Sassi, L., Mhadhbi, M., & Gharbi, M. (2016). Molecular prevalence of *Toxoplasma Gondii* DNA in goats' milk and seroprevalence in Northwest Tunisia. *Veterinary Medicine and Science*, 2(3), 154–160.
- Andreoletti, O., Budka, H., Buncic, S., Colin, P., Collins, J. D., De Koeijer, A., Griffin, J., Havelaar, A., Hope, J., Klein, G., Marth, E., Moraru, C. I., Paulsen, P., Pöhlmann, R., Ru, G., Schimmel, H., Scippo, M.-L., Snary, E. L., & van der Wolf, P. J. (2007). Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals—Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. *EFSA Journal*, 5(10), 583.
- Asgari, Q., Mehrabani, D., Motazedian, M. H., Kalantari, M., Nouroozi, J., & Adnani Sadati, S. J. (2011). The viability and infectivity of *Toxoplasma Gondii* tachyzoites in dairy products undergoing food processing. *Asian Journal of Animal Sciences*, 5(3), 202–207.
- Attias, M., Teixeira, D. E., Benchimol, M., de Souza, W., & Miranda, K. (2020). The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. *Parasites & Vectors*, 13(1), 588. doi: 10.1186/s13071-020-04445-z
- Aubert, D., Maine, G. T., Villena, I., & Candolfi, E. (2000). Recombinant antigens to detect *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin G and immunoglobulin M in human sera by enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(3), 1144–1150. doi: 10.1128/JCM.38.3.1144-1150.2000
- Aziz, M. N., Iqbal, R. K., Irfan, M., Parveen, A., Asif, M., Ozubek, S., Aktas, M., Said, M. B., & Iqbal, F. (2022). First report on molecular epidemiology, seasonality

- and phylogeny of *Toxoplasma Gondii* infecting goats from Khanewal District in Punjab, Pakistan. *Acta Tropica*, 228, 106304.
- Bahre, M., Hajimohammadi, B., & Eslami, G. (2021). *Toxoplasma Gondii* in sheep and goats from Central Iran. *BMC Research Notes*, 14, 46.
- Bai, Y., He, S., Zhao, G., Chen, L., Shi, N., Zhou, H., Cong, H., Zhao, Q., & Zhu, X. Q. (2012). *Toxoplasma Gondii*: Bioinformatics analysis, cloning and expression of a novel protein TgIMP1. *Experimental Parasitology*, 132(4), 458–464.
- Baril, L., Ancelle, T., Goulet, V., Thulliez, P., Tirard-Fleury, V., & Carne, B. (1999). Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: A case-control study in France. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 31(3), 305–309.
- Behnke, M. S., Khan, A., Lauron, E. J., P. Bzik, D. J., S. Sibley, L. D., & A. Taylor, J. (2015). Rhoptry proteins ROP5 and ROP18 are major murine virulence factors in genetically divergent South American strains of *Toxoplasma gondii*. *PLoS Genetics*, 11(8), e1005434.
- Belaz, S., Gangneux, J. P., Dupretz, P., Leveque, B., & Vay D. (2015). A 10-year retrospective comparison of two target sequences, REP-529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(4), 1294–1300.
- Burrells, A., Bartley, P. M., Zimmer, I. A., Innes, E. A., & M. E. R. G. R. E. C. (2013). Evidence of the three main clonal *Toxoplasma gondii* lineages from wild mammalian carnivores in the UK. *Parasitology*, 140(14), 1768–1776.
- Burrells, A., Taroda, A., Opsteegh, M., Schares, G., Benavides, J., Dam-Deisz, C., Bartley, P. M., Chianini, F., Villena, I., & Van Der Giessen, J. (2018). Detection and dissemination of *Toxoplasma Gondii* in experimentally infected calves, a single test does not tell the whole story. *Parasites & Vectors*, 11, 45.
- Buxton, D. (1993). Toxoplasmosis: The first commercial vaccine. *Parasitology Today*, 9(9), 335–337.
- Buxton, D., Maley, S. W., Wright, S. E., Rodger, S., Bartley, P., & Innes, E. A. (2007). *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: New aspects of an old story. *Veterinary Parasitology*, 149(1–2), 25–28.
- Buxton, D., Thomson, K. M., Maley, S., Wright, S., & Bos, H. J. (1993). Experimental challenge of sheep 18 months after vaccination with a live (S48) *Toxoplasma Gondii* vaccine. *Veterinary Record*, 133(13), 310–312.
- Cai, Y., Wang, Z., Li, J., Zhou, Y., Wang, F., Li, S., & Li, M. (2015). Evaluation of an indirect ELISA using recombinant granule antigen Gra7 for serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Journal of Parasitology*, 101(1), 37–40.
- Carruthers, V. B. (2002). Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma Gondii*. *Acta Tropica*, 81(2), 111–122.

- Castillo-Cuenca, J. C., Almería, S., Calero-Bernal, R., Pérez, S., Otero, M., & Soba, B. (2023). Seroprevalence and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in domestic pigs intended for human consumption in Cuba. *Zoonoses and Public Health*, 70(2), 125–133. doi: 10.1111/zph.13010
- Chapey, E., Wallon, M., & Peyron, F. (2017). Evaluation of the LDBIO point of care test for the combined detection of toxoplasmic IgG and IgM. *Clinica Chimica Acta*, 464, 200–201. doi: 10.1016/j.cca.2016.10.023
- Chong, C. K., Jeong, W., Kim, H. Y., Nam, H. W., & Kim, J. Y. (2011). Development and clinical evaluation of a rapid serodiagnostic test for toxoplasmosis of cats using recombinant SAG1 antigen. *Korean Journal of Parasitology*, 49(3), 207–212. doi: 10.3347/kjp.2011.49.3.207
- Clementino, M. M., Souza, M. F., & Neto, V. F. A. (2007). Seroprevalence and *Toxoplasma Gondii*-IgG Avidity in Sheep from Lajes, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 146(3–4), 199–203.
- Cook, A. J. C., Holliman, R., Gilbert, R. E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P. A., Foulon, W., Semprini, A. E., & Dunn, D. T. (2000). Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ (British Medical Journal)*, 321(7254), 142–147.
- Costa, M. E., Oliveira, C. B., Andrade, J. M., de Miranda, L. H., Ferreira, R. F. B., Pinheiro, A., Abreu, I. G. L., & Vitor, R. L. M. (2016). An alternative nested-PCR assay for the detection of *Toxoplasma gondii* strains based on GRA7 gene sequences. *Acta Tropica*, 159, 120–124. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.03.035
- Da Silva, J. G., Alves, B. H. L. S., Melo, R. P. B., Kim, P. C. P., Neto, O. L. S., Bezerra, M. J. G., Sá, S. G., & Mota, R. A. (2015). Occurrence of Anti-*Toxoplasma Gondii* Antibodies and Parasite DNA in Raw Milk of Sheep and Goats of Local Breeds Reared in Northeastern Brazil. *Acta Tropica*, 142, 145–148.
- Dard, C., Fricker-Hidalgo, H., Brenier-Pinchart, M. P., & Piarroux, R. (2016). Relevance of and new developments in serology for toxoplasmosis. *Trends in Parasitology*, 32(6), 492–506. doi: 10.1016/j.pt.2016.04.001
- Del Bono, V., Canessa, A., Bruzzi, P., Fiorelli, M. A., & Terragna, A. (1989). Significance of Specific Immunoglobulin M in the Chronological Diagnosis of 38 Cases of Toxoplasmic Lymphadenopathy. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(9), 2133–2135.
- Dhakal, R., Gajurel, K., Pomares, C., Talucod, J., Press, C. J., & Montoya, J. G. (2015). Significance of a positive *Toxoplasma* immunoglobulin M test result in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(11), 3601–3605.

- Ding, H., Gao, Y. M., Deng, Y., & Chen, Y. C. (2017). A systematic review and meta-analysis of the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cats in mainland China. *Parasites & Vectors*, 10(1), 27. doi: 10.1186/s13071-017-1970-6
- Dong, H., Zhang, J., Wang, Q., Hu, W., Wang, Q., Cui, Y., Cong, H., Zhao, Q., & Zhou, H. (2024). Development of an indirect ELISA for detecting *Toxoplasma gondii* IgG antibodies based on a recombinant TgIMP1 protein. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 18(8), e0012421. doi: 10.1371/journal.pntd.0012421
- Drapala, D., Holec-Gasior, L., & Kur, J. (2015). New recombinant chimeric antigens, P35-MAG1, MIC1-ROP1, and MAG1-ROP1, for the serodiagnosis of human toxoplasmosis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 82(1), 34–39.
- Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasmosis of animals and humans*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Dubey, J. P., & Beattie, C. P. (1988). Beattie *Toxoplasmosis of Animals and Man*. In *Parasitology* (p. 220). CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Dubey, J. P., Cerqueira-Cézar, C. K., Murata, F. H. A., & Kwok, O. C. H. (2020). All about toxoplasmosis in cats: the last decade. *Veterinary Parasitology*, 283, 109145. doi: 10.1016/j.vetpar.2020.109145
- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., & Kwok, O. C. H. (2020a). Public health and economic importance of *Toxoplasma Gondii* infections in goats: The last decade. *Research in Veterinary Science*, 132, 292–307.
- Dubey, J. P., Murata, F. H. A., Cerqueira-Cézar, C. K., Kwok, O. C. H., & Su, C. (2020b). Economic and public health importance of *Toxoplasma Gondii* infections in sheep: 2009–2020. *Veterinary Parasitology*, 286, 109195.
- Dubey, J. P., Thulliez, P., Weigel, R. M., & Jones, J. B. (1995). Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *American Journal of Veterinary Research*, 56(8), 1030–1036. doi: 10.2460/ajvr.1995.56.08.1030
- Dubey, J. P., Verma, S. K., Ferreira, L. R., Oliveira, S., Cassinelli, A. B., Ying, Y., Kwok, O. C. H., Tuo, W., Chiesa, O. A., & Jones, J. L. (2014). Detection and survival of *Toxoplasma Gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats 3. *Journal of Food Protection*, 77(10), 1747–1753.
- Duncanson, P., Terry, R. S., Smith, J. E., & Hide, G. (2001). High levels of congenital transmission of *Toxoplasma Gondii* in a commercial sheep flock. *International Journal for Parasitology*, 31(14), 1699–1703.
- Esubalew, S., Nigatu, S. D., Kussa, M., Tsegaye, A. A., & Bogale, B. (2020). Seroepidemiology of *Toxoplasma Gondii* in small ruminants in Northwest Ethiopia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100456.

- Fan, J., Sun, H., Fang, J., Wang, Z., Cong, H., Zhao, Q., & Zhou, H. (2024). Application of gold immunochromatographic assay strip combined with digital evaluation for early detection of *Toxoplasma gondii* infection in multiple species. *Parasites & Vectors*, 17(1), 81. doi: 10.1186/s13071-024-06180-1
- Fatima, T., Mehnaz, S., Wang, M., Wang, T., Zhang, K., & Zhou, H. (2019). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in one-humped camels (*Camelus dromedarius*) of Thal and Cholistan deserts, Punjab, Pakistan. *Parasitology Research*, 118(1), 307–316. doi: 10.1007/s00436-018-6124-z
- Fazel, R., Rezanezhad, H., Solhjoo, K., Dehghan, F., Kordshouli, S. S., & Ahmadi, N. (2021). Pcr-based detection of *Toxoplasma gondii* from cattle in southern Iran. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 77, 101677.
- Fernandes, F. D., Bräunig, P., Machado, D. W. N., Higa, M. K. K., Silveira, L. F., Goulart, K. H. S., Lope-s, W. D., & Vidor, A. L. (2025). Genotyping of human isolates from human toxoplasmosis outbreak: restriction fragment length polymorphism and Sanger sequencing. *Brazilian Journal of Microbiology*, 56(1), 395–402. doi: 10.1007/s42770-024-01561-1
- Fernandes, F. D., Samoel, G. V. A., Guerra, R. R., Higa, M. K. K., Bencke, L. S., Tonini, R. D. D., Lope-s, W. D., & Vidor, A. L. (2023b). Five years of the biggest outbreak of human toxoplasmosis in Santa Maria, Brazil: a review. *Parasitology Research*, 123(1), 76. doi: 10.1007/s00436-023-08073-1
- Fernandes, F. D., Tagarra, L. G., Roman, I. J., Higa, M. K. K., Bencke, L. S., Tonini, R. D. D., Lope-s, W. D., & Vidor, A. L. (2023a). Increased frequency of detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in domestic cats after outbreak of human toxoplasmosis. *Parasitology Research*, 123, 73.
- Ferra, B., Holec-Gąsior, L., & Grąźlewska, W. (2020). *Toxoplasma gondii* recombinant antigens in the serodiagnosis of toxoplasmosis in domestic and farm animals. *Animals (Basel)*, 10(8), 1245. doi: 10.3390/ani10081245
- Ferra, B., Holec-Gąsior, L., & Kur, J. (2015). A new *Toxoplasma Gondii* chimeric antigen containing fragments of SAG2, GRA1, and ROP1 proteins—Impact of immunodominant sequences size on its diagnostic usefulness. *Parasitology Research*, 114(9), 3291–3297.
- Ferra, B., Holec-Gąsior, L., Gatkowska, J., Dziadek, B., Dzitko, K., Grąźlewska, W., & Lautenbach, D. (2019). The first study on the usefulness of recombinant tetravalent chimeric proteins containing fragments of SAG2, GRA1, ROP1 and AMA1 antigens in the detection of specific anti-*Toxoplasma Gondii* antibodies in mouse and human sera. *PLoS ONE*, 14(6), e0217866.
- Ferreira, F. B., de Macêdo-Júnior, A. G., Lopes, C. S., Silva, M. V., Ramos, E. L. P., Júnior, Á. F., Vitaliano, S. N., Santiago, F. M., Santos, A. L. Q., & Mineo, J. R.

- (2020). Serological evidence of *Toxoplasma Gondii* infection in *Melanosuchus Niger* (Spix, 1825) and *Caiman Crocodilus* (Linnaeus, 1758). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 12, 42–45.
- Filice, G., Meroni, V., Carnevale, G., Fiori, M. L., Pavesi, A., & Cereda, R. (1983). Comparison of ELISA and indirect immunofluorescence in the detection of IgG and IgM antitoxoplasma antibodies. *Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese*, 62(5), 445–450.
- Fisch, D., Evans, R., Clough, B., & B. C. (2021). Hrman 2.0: next-generation artificial intelligence-driven analysis for broad host-pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 23(7), e13349. doi: 10.1111/cmi.13349.
- Fisch, D., Yakimovich, A., Clough, B., Hatz, P., Sütterlin, F., & P. M. T. (2019). Defining host-pathogen interactions employing an artificial intelligence workflow. *eLife*, 8, e40560. doi: 10.7554/eLife.40560
- Fisch, D., Yakimovich, A., Clough, B., Hatz, P., Sütterlin, F., & P. M. T. (2020). Image-based quantitation of host cell-*Toxoplasma gondii* interplay using HRMAN: a host response to microbe analysis pipeline. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2071, 411–433.
- Flatt, A., & Shetty, N. (2013). Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis among antenatal women in London: A re-examination of risk in an ethnically diverse population. *European Journal of Public Health*, 23(4), 648–652.
- Fricker-Hidalgo, H., Cimon, B., Chemla, C., Darde, M. L., Delhaes, L., L'Ollivier, C., Godineau, N., Houze, S., Paris, L., & Quinio, D. (2013). *Toxoplasma* seroconversion with negative or transient immunoglobulin M in pregnant women: Myth or reality? A French multicenter retrospective study. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(7), 2103–2111.
- Gao, Y., Shen, Y., Fan, J., Wang, Q., Hu, W., Wang, Q., Cong, H., Zhao, Q., & Zhou, H. (2023). Establishment and application of an iELISA detection method for measuring apical membrane antigen 1 (AMA1) antibodies of *Toxoplasma gondii* in cats. *BMC Veterinary Research*, 19(1), 229. doi: 10.1186/s12917-023-03775-1
- Garcia, J. L., Navarro, I. T., Vidotto, O., de Souza, R. P., da Costa, M. T., Ochi, A. M., & de Almeida, J. C. M. (2006). *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. *Experimental Parasitology*, 113(2), 100–105.
- Gebremedhin, E. Z., Agonafir, A., Tessema, T. S., Tilahun, G., Medhin, G., Vitale, M., & Di Marco, V. (2013). Some risk factors for reproductive failures and contribution of *Toxoplasma Gondii* infection in sheep and goats of central

- Ethiopia: A cross-sectional study. *Research in Veterinary Science*, 95(3), 894–900.
- Grzybowski, M. M., Dziadek, B., Dziadek, J., Cieloszyk, B., Gąsior, J., Wójcik-Stanaszek, A., Długońska, H., & Holec-Gąsior, L. (2015). *Toxoplasma gondii*: cloning, expression and immunoreactivity of recombinant ROP5 and ROP18 antigens. *Experimental Parasitology*, 150, 1–6. doi: 10.1016/j.exppara.2015.01.006
- Halonen, S. K., & Weiss, L. M. (2013). Toxoplasmosis. *Handbook of Clinical Neurology*, 114, 125–145.
- Hartley, W. J., & Marshall, S. C. (1957). Toxoplasmosis as a cause of ovine perinatal mortality. *New Zealand Veterinary Journal*, 5(6), 119–124.
- Hartley, W. J., Jebson, J. L., & McFarlane, D. W. (1954). New Zealand type II abortion in ewes. *Australian Veterinary Journal*, 30(8), 216–218.
- Hashoosh, D. A., & Majeed, I. A. (2014). Comparison of two assays in the diagnosis of toxoplasmosis: immunological and molecular. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 20(1), 45–50. doi: 10.26719/2014.20.1.46
- Hatam-Nahavandi, K., Calero-Bernal, R., Rahimi, M. T., S. S., E. Z., S. R., & S. H. K. (2021). *Toxoplasma gondii* infection in domestic and wild felids as public health concerns: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 11(1), 9509. doi: 10.1038/s41598-021-89031-8
- Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E., & Khoshnood, S. (2023). Enzyme-linked immunosorbent assay: types and applications. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 2612, 1–17.
- Heiss, K., Heidepriem, J., Fischer, N., Weber, L. K., Dahlke, C., Jaenisch, T., & Loeffler, F. F. (2020). Rapid response to pandemic threats: Immunogenic epitope of pandemic pathogens for diagnostics and vaccine development peptide microarrays. *Journal of Proteome Research*, 19(10), 4339–4352.
- Hill, D. E., Chirukandoth, S., Dubey, J. P., & Lunney, J. K. (2006). Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Veterinary Parasitology*, 141(1–2), 9–17. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.05.008
- Holec, L., Hiszczyńska-Sawicka, E., Gąsior, A., Gąsior, A., & Kur, J. (2007). Use of MAG1 recombinant antigen for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in humans. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(2), 220–225.
- Holec-Gąsior, L. (2013). *Toxoplasma Gondii* recombinant antigens as tools for serodiagnosis of human toxoplasmosis: Current status of studies. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20(9), 1343–1351.

- Holec-Gąsior, L., & Sołowin'ska, K. (2022). IgG Avidity Test as a Tool for Discrimination between Recent and Distant *Toxoplasma Gondii* Infection—Current Status of Studies. *Antibodies*, 11(3), 52.
- Holec-Gąsior, L., Ferra, B., & Drapała, D. (2012a). MIC1-MAG1-SAG1 chimeric protein, a most effective antigen for detection of human toxoplasmosis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(12), 1977–1984.
- Holec-Gąsior, L., Ferra, B., & Grażewska, W. (2019). *Toxoplasma Gondii* tetravalent chimeric proteins as novel antigens for detection of specific immunoglobulin G in sera of small ruminants. *Animals*, 9(12), 1146.
- Holec-Gąsior, L., Ferra, B., Drapała, D., Lautenbach, D., & Kur, J. (2012b). A new MIC1-MAG1 recombinant chimeric antigen can be used instead of the *Toxoplasma Gondii* lysate antigen in serodiagnosis of human toxoplasmosis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(1), 57–63.
- Holec-Gąsior, L., Ferra, B., Hiszczyńska-Sawicka, E., & Kur, J. (2014). The optimal mixture of *Toxoplasma Gondii* recombinant antigens (GRA1, P22, ROP1) for diagnosis of ovine toxoplasmosis. *Veterinary Parasitology*, 206(3–4), 146–152.
- Homan, W. L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., & Verschueren, H. (2000). Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 Bp DNA fragment in *Toxoplasma Gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International Journal for Parasitology*, 30(1), 69–75.
- Hosseininejad, M. (2012). Evaluation of an indirect ELISA using a tachyzoite surface antigen SAG1 for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Experimental Parasitology*, 132(4), 556–560. doi: 10.1016/j.exppara.2012.09.009
- Hosseininejad, M., Azizi, H. R., Hosseini, F., & Gholami, M. R. (2009). Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for serodiagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. *Veterinary Parasitology*, 164(2–4), 315–319. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.029
- Hu, R. S., Hesham, A. E., & Zou, Q. (2022). Machine learning and its applications for protozoal pathogens and protozoal infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 882995. doi: 10.3389/fcimb.2022.882995
- Huang, M., Huang, H., Cao, X., Chen, C., Huang, S., Zhang, Y., & Zhao, J. (2023). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in water buffaloes and cats in Guangxi, China. *Parasitology Research*, 123, 18.
- Huang, X., Xuan, X., Hirata, H., Higa, H., Igarashi, M., Fujisaki, K., & Nagasawa, H. (2004). Rapid immunochromatographic test using recombinant SAG2 for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cats. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1), 351–353. doi: 10.1128/JCM.42.1.351-353.2004

- Huertas-López, A., Contreras Rojo, M., Sukhumavasi, W., Saichue, S., & B. H. (2022). Comparative performance of five recombinant and chimeric antigens in a time-resolved fluorescence immunoassay for detection of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Veterinary Parasitology*, 304, 109703. doi: 10.1016/j.vetpar.2022.109703
- Hurtado, A., Aduriz, G., Moreno, B., Barandika, J., & García-Pérez, A. L. (2001). Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma Gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. *Veterinary Parasitology*, 102(1–2), 17–27.
- Innes, E. A., Bartley, P. M., Buxton, D., & Katzer, F. (2009). Ovine toxoplasmosis. *Parasitology*, 136(14), 1887–1894.
- Ji, M.-J., Cho, H.-C., Park, Y.-J., Jang, D.-H., Park, J., & Choi, K.-S. (2023). Molecular detection of *Toxoplasma Gondii* in blood samples of domestic livestock in the Republic of Korea. *Pathogens*, 12(4), 547.
- Jirapaththarasate, C., Udonsom, R., Prachasuphap, A., Tuntirungsee, S., Manee, N., Tantilertcharoen, R., Lekcharoensuk, C., & Lekcharoensuk, P. (2021). Development and evaluation of recombinant GRA8 protein for the serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in goats. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 27. doi: 10.1186/s12917-020-02719-3
- Jones, J. L., Dargelas, V., Roberts, J., Press, C., Remington, J. S., & Montoya, J. G. (2009). Risk factors for *Toxoplasma Gondii* infection in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 878–884.
- Kapperud, G., Jenum, P. A., Stray-Pedersen, B., Melby, K. K., Eskild, A., & Eng, J. (1996). Risk factors for *Toxoplasma Gondii* infection in pregnancy: Results of a prospective case-control study in Norway. *American Journal of Epidemiology*, 144(4), 405–412.
- Karakavuk, M., Can, H., Karakavuk, T., Baki, A., Aköz, E., Kılıç, A., & Çetinkaya, Ü. (2022). Rapid detection of *Toxoplasma gondii* DNA in cat feces using colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays targeting RE and B1 genes. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 81, 101745. doi: 10.1016/j.cimid.2022.101745
- Khan, A. H., & Noordin, R. (2020). Serological and molecular rapid diagnostic tests for *Toxoplasma* infection in humans and animals. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39(1), 19–30. doi: 10.1007/s10096-019-03680-2
- Khanaliha, K., Bokharacai-Salim, F., Hedayatfar, A., Rezaei, F., Eslami, G., Tabatabaei, S. J., & R. Z. (2021). Comparison of real-time PCR and nested PCR for toxoplasmosis diagnosis in toxoplasmic retinochoroiditis patients. *BMC Infectious Diseases*, 21, 1180.

- Khattab, R. A. H., Barghash, S. M., Mostafa, O. M. S., Allam, S. A., Taha, H. A. H., & Ashour, A. A. E. B. (2022). Seroprevalence and molecular characterization of *Toxoplasma Gondii* infecting ruminants in the North-West of Egypt. *Acta Tropica*, 225, 106139.
- Kijlstra, A., & Jongert, E. (2008). Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *International Journal for Parasitology*, 38(13), 1359–1370.
- Kijlstra, A., & Jongert, E. (2009). *Toxoplasma*-Safe Meat: Close to Reality? *Trends in Parasitology*, 25(1), 18–22.
- Kim, M. J., Park, S. J., & Park, H. (2024). Trend in serological and molecular diagnostic methods for *Toxoplasma gondii* infection. *European Journal of Medical Research*, 29, 520.
- Kotresha, D., & Noordin, R. (2010). Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 118(8), 529–542. doi: 10.1111/j.1600-0463.2010.02629.x
- Lappin, M. R. (2010). Update on the diagnosis and management of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 136–141. doi: 10.1053/j.tcam.2010.07.002
- Lau, Y. L., Fong, M. Y. (2008). *Toxoplasma gondii*: serological characterization and immunogenicity of recombinant surface antigen 2 (SAG2) expressed in the yeast *Pichia pastoris*. *Experimental Parasitology*, 119(3), 373–378. doi: 10.1016/j.exppara.2008.03.016
- Lau, Y. L., Meganathan, P., Sonaimuthu, P., Lim, Y. A. L., & Tan, L. M. (2010). Specific, sensitive, and rapid diagnosis of active toxoplasmosis by a loop-mediated isothermal amplification method using blood samples from patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(10), 3698–3702.
- Lecordier, L., Fourmaux, M. P., Mercier, C., & Dubremetz, J. F. (2020). Enzyme-linked immunosorbent assays using the recombinant dense granule antigens GRA6 and GRA1 of *Toxoplasma gondii* for detection of immunoglobulin G antibodies. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 7(4), 607–611. doi: 10.1128/CDLI.7.4.607-611.2000
- Lee, P. Y. C., Mangan, J., Holliman, R. E., & Butcher, P. D. (1999). Quantitation of *Toxoplasma Gondii* DNA in a competitive nested polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Pathology*, 52(1), 61.
- Li, S., Li, A., Molina Lara, D. A., Zhang, A., Zhang, C., & Wang, Y. (2020). Transfer learning for *Toxoplasma gondii* recognition. *mSystems*, 5(1). doi: 10.1128/msystems.00445-19
- Liesenfeld, O., Montoya, J. G., Tathineni, N. J., Davis, M., Brown, B. W., Cobb, K. L., Parsonnet, J., & Remington, J. S. (2001). Confirmatory serologic testing for

- acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 184(2), 140–145.
- Lin, M.-H., Chen, T.-C., Kuo, T.-T., Tseng, C.-C., & Tseng, C.-P. (2000). Real-time PCR for quantitative detection of *Toxoplasma Gondii*. Journal of Clinical Microbiology, 38(11), 4121–4125.
- Liu, Q., Wang, Z. D., Huang, S. Y., & Zhu, X. Q. (2015). Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasites & Vectors, 8(1), 292. doi: 10.1186/s13071-015-0902-6
- Liyanage, K., Amery-Gale, J., Uboldi, A. D., Reichel, M. P., Firestone, S. M., Tonkin, C. J., & Jabbar, A. (2024). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* exposure in Australian feral and stray cats using an in-house modified agglutination test. Veterinary Parasitology, 332, 110306. doi: 10.1016/j.vetpar.2024.110306
- López Ureña, N. M., Chaudhry, U., Calero Bernal, R., Freire-de-Lima, L., & Furtado, G. G. P. R. (2022). Contamination of soil, water, fresh produce, and bivalve mollusks with *Toxoplasma gondii* oocysts: a systematic review. Microorganisms, 10(3), 517. doi: 10.3390/microorganisms10030517
- Luo, J., Sun, H., Zhao, X., Zhang, Y., Wang, T., Wang, Q., Hu, W., Cong, H., Zhao, Q., & Zhou, H. (2018). Development of an immunochromatographic test based on monoclonal antibodies against surface antigen 3 (TgSAG3) for rapid detection of *Toxoplasma gondii*. Veterinary Parasitology, 252, 52–57. doi: 10.1016/j.vetpar.2018.01.015
- Luptakova, L., Benova, K., Rencko, A., & Petrovova, E. (2014). DNA detection of *Toxoplasma Gondii* in sheep milk and blood samples in relation to phase of infection. Veterinary Parasitology, 208(3–4), 250–253.
- Macrì, G., Sala, M., Linder, A. M., D’Amico, G., & De Maria, M. (2009). Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies in dog and cat. Parasitology Research, 105(1), 35–40. doi: 10.1007/s00436-009-1358-4
- Majid, A., Ahmad, N., Haleem, S., Ahmad, M., Awan, H. A., Khan, H., & Khan, H. S. (2021). Detection of toxoplasmosis in pets and stray cats through molecular and serological techniques in Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. BMC Veterinary Research, 17(1), 357. doi: 10.1186/s12917-021-03064-9
- Mancianti, F., Nardoni, S., D’Ascenzi, C., Pedonese, F., Mugnaini, L., Franco, F., & Papini, R. (2013). Seroprevalence, detection of DNA in blood and milk, and genotyping of *Toxoplasma Gondii* in a goat population in Italy. BioMed Research International, 2013, 905326.

- Mazuz, M. L., Weiss, A., Beer, O., Tirosch-Levy, S., Riklis, I., Dveyrin, Z., Rorman, E., Cohen, N. Z., Markovich, M. P., & Baneth, G. (2023). High infection rates of *Toxoplasma Gondii* in cattle, sheep and pigs from Israel. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 92, 101928.
- Mendoza Roldan, J. A., & Otranto, D. (2023). Zoonotic parasites associated with predation by dogs and cats. *Parasites & Vectors*, 16(1), 55.
- Montazeri, M., Mikaeili Galeh, T., Moosazadeh, M., & Shadab, J. (2020). The global serological prevalence of *Toxoplasma gondii* in felids during the last five decades (1967–2017): a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, 13(1), 82.
- Montoya, J. G., & Liesenfeld, O. (2004). Toxoplasmosis. *Lancet*, 363(9425), 1965–1976.
- Morley, E. K., Williams, R. H., Hughes, J. M., Thomasson, D., Terry, R. S., Duncanson, P., Smith, J. E., & Hide, G. (2008). Evidence that primary infection of Charollais sheep with *Toxoplasma Gondii* may not prevent foetal infection and abortion in subsequent lambings. *Parasitology*, 135(2), 169–173.
- Motazedian, M. H., Kazemi, B., Shahriari, B., Ghatee, M., Amin, M. M., & Mirshafiey, A. (2016). Immunoreactivity analysis of *Toxoplasma gondii* recombinant antigen rSAG3 in sera from immunized BALB/c mice and toxoplasmosis patients. *Iranian Journal of Public Health*, 45(7), 911–916.
- Nabi, H., Rashid, I., Ahmad, N., Dar, P. A., Shah, M., Z. A. M., Ahmad, S., & Ganie, M. A. (2017). Induction of specific humoral immune response in mice immunized with ROP18 nanospheres from *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Research*, 116(1), 359–370. doi: 10.1007/s00436-016-5298-5
- Nayeri, T., Sarvi, S., Moosazadeh, M., & Daryani, A. (2022). The global prevalence of Neospora Caninum infection in sheep and goats that had an abortion and aborted fetuses: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 870904.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Ikeda, T., Furusawa, T., Ajoka, M., & Hasegawa, Y. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), e63. doi: 10.1093/nar/28.12.e63
- Omata, Y., Umeshita, Y., Murao, T., Kano, R., Kamiya, H., Kudo, A., Masukata, Y., Kobayashi, Y., Maeda, R., Saito, A., & Murata, K. (2005). *Toxoplasma Gondii* does not persist in goldfish (*Carassius Auratus*). *Journal of Parasitology*, 91(6), 1496–1499.
- Oshiro, L. M., Motta-Castro, A. R., Freitas, S. Z., & Nunes, F. E. C. (2015). Neospora caninum and *Toxoplasma gondii* serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48(5), 568–572. doi: 10.1590/0037-8682-0151-2015

- Ossani, R. A., Borges, H. A. T., Souza, A. P., Sartor, A. A., Miletto, L. C., Federle, M., & Moura, A. B. (2017). *Toxoplasma Gondii* in milk of naturally infected dairy ewes on West Mesoregion of Santa Catarina State, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69(5), 1294–1300.
- Pastiu, A. I., Mircean, V., Mercier, A., Passebosc-Faure, K., Plault, N., Dardé, M. L., Blaga, R., Villena, I., Pusta, D. L., Cozma-Petruț, A., Volkmann, V., & Blaga, R. A. (2023). *Toxoplasma Gondii* infection in sheep from Romania. *Parasites & Vectors*, 16(1), 24.
- Patton, S., Johnson, S. S., & Puckett, K. (1990). Prevalence of *Toxoplasma Gondii* antibodies in nine populations of dairy goats: Compared titers using modified direct agglutination and indirect hemagglutination. *Journal of Parasitology*, 76(1), 74–77.
- Poostchi, M., Silamut, K., Maude, R. J., Jaeger, S., & Antani, S. (2018). Image analysis and machine learning for detecting malaria. *Translational Research*, 194, 36–55. doi: 10.1016/j.trsl.2017.12.004
- Qi, T., Ai, J., Sun, Y., Wei, F., Wang, D., Huang, Q., Wang, S., & Li, Y. (2022). Application of *Toxoplasma gondii*-specific SAG1, GRA7 and BAG1 proteins in serodiagnosis of animal toxoplasmosis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 1029768.
- Ramakrishnan, C., Maier, S., Walker, R. A., Rehrauer, H., Joekel, D. E., Winiger, R. R., Basso, W. U., Grigg, M. E., Hehl, A. B., Deplazes, P., & Smith, N. C. (2019). An experimental genetically attenuated live vaccine to prevent transmission of *Toxoplasma gondii* by cats. *Scientific Reports*, 9(1), 1474. doi: 10.1038/s41598-018-37671-8
- Ranucci, D., Battisti, E., Veronesi, F., Diaferia, M., Morganti, G., Branciarri, R., Ferroglio, E., Valiani, A., & Chiesa, F. (2020). Absence of viable *Toxoplasma Gondii* in artisanal raw-milk ewe cheese derived from naturally infected animals. *Microorganisms*, 8(1), 143.
- Riemann, H. P., Meyer, M. E., Theis, J. H., Kelso, G., & Behymer, D. E. (1975). Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *The Journal of Pediatrics*, 87(4), 573–576.
- Robert-Gangneux, F., & Dardé, M. L. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(2), 264–296. doi: 10.1128/CMR.05013-11
- Rostami, A., Karanis, P., & Fallahi, S. (2018). Advances in serological, imaging techniques and molecular diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection. *Infection*, 46(3), 303–315. doi: 10.1007/s15010-017-1111-3

- Rouatbi, M., Amairia, S., Samed, S., Rekik, M., Darghouth, M. A., Jelji, A., & Gharbi, M. (2021). High *Toxoplasma Gondii* frequency of infection in the genital tract of ewes previously positive for the parasite DNA in meat, in Sidi Bouzid, Tunisia. *Veterinary Parasitology*, 300, 109593.
- Sacks, J. J., Roberto, R. R., & Brooks, N. F. (1982). Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *JAMA*, 248(14), 1728–1732.
- Sager, H., Gloor, M., Tenter, A., Maley, S., Hässig, M., & Gottstein, B. (2003). Immunodiagnosis of primary *Toxoplasma Gondii* infection in sheep by the use of a P30 IgG avidity ELISA. *Parasitology Research*, 91(2), 171–174.
- Saitoh, Y., & Itagaki, H. (1990). Dung beetles, *Onthophagus* spp., as potential transport hosts of feline *Coccidia*. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 52(2), 293–297.
- Salimi, M., Keshavarz-Valian, H., Mohebbali, M., Geravand, M., Adabi, M., & Shojae, S. (2023). Electrochemical immunosensor based on carbon nanofibers and gold nanoparticles for detecting anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies. *Microchimica Acta*, 190(9), 367. doi: 10.1007/s00604-023-05928-3
- Saraci, M., Shojae, S., Esmaeli, A., T. M., & H. S. (2010). Evaluation of confounders in toxoplasmosis indirect fluorescent anti-body assay. *Iranian Journal of Parasitology*, 5(4), 55–62.
- Seefeldt, S. L., Kirkbride, C. A., & Dubey, J. P. (1989). Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody test, and direct agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in naturally aborted ovine fetuses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 1(2), 124–127.
- Selim, A., Marzok, M., Alshammari, A., AL-Jabr, O. A., Salem, M., & Wakid, M. H. (2023). *Toxoplasma Gondii* infection in Egyptian domestic sheep and goats: Seroprevalence and risk factors. *Tropical Animal Health and Production*, 55(3), 182.
- Selseleh, M., Modarressi, M. H., Mohebbali, M., Khatami, M., & Zali, H. (2012). Real-time RT-PCR on SAG1 and BAG1 gene expression during stage conversion in immunosuppressed mice infected with *Toxoplasma gondii* Tehran strain. *Korean Journal of Parasitology*, 50(3), 199–205. doi: 10.3347/kjp.2012.50.3.199
- Shen, B., Brown, K., Long, S., Lee, N., Lares, J., & Sibley, L. D. (2017). Development of CRISPR/Cas9 for efficient genome editing in *Toxoplasma gondii*. *Methods in Molecular Biology*, 1498, 79–103.
- Silva, A. F., Frazão-Teixeira, E., Oliveira, F. C. R., Fonseca, A. B. M., & Ferreira, A. M. R. (2022). *Toxoplasma Gondii* in tissues of sheep slaughtered for human

- consumption in a highly endemic area for toxoplasmosis in Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 29, 100688.
- Skinner, L. J., Timperley, A. C., Wightman, D., Chatterton, J. M. W., & Ho-Yen, D. O. (1990). Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 22(3), 359–361.
- Skjerve, E., Waldeland, H., Nesbakken, T., & Kapperud, G. (1998). Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma Gondii* in Norwegian slaughter lambs. *Preventive Veterinary Medicine*, 35(3), 219–227.
- Sroka, J., Karamon, J., Dutkiewicz, J., Fatla, A. W., Zajac, V., & Cencek, T. (2018a). Prevalence of *Toxoplasma Gondii* infection in cats in southwestern Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(4), 576–580.
- Sroka, J., Karamon, J., Dutkiewicz, J., Wójcik-Fatla, A., Zajac, V., Szymańska, J., & Cencek, T. (2018b). Optimization of flotation, DNA extraction and PCR methods for detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in cat faeces. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(4), 680–685.
- Sroka, J., Kusyk, P., Bilaska-Zajac, E., Karamon, J., Dutkiewicz, J., Wójcik-Fatla, A., Zajac, V., Stojecki, K., Rózycki, M., & Cencek, T. (2017). Seroprevalence of *Toxoplasma Gondii* infection in goats from the south-west region of Poland and the detection of T. Gondii DNA in goat milk. *Folia Parasitologica*, 64, 023.
- Sroka, J., Wójcik-Fatla, A., Bilaska-Zajac, E., Karamon, J., Zdybel, J. M., Piotrowska, W., Dąbrowska, J., Samorek-Pieróg, M., Korpysa-Dzirba, W., & Cencek, T. (2023). Molecular confirmation of the systemic toxoplasmosis in cat. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 30(4), 640–644.
- Suwan, E., Chalermwong, P., Rucksaken, R., Suphithak, B., & Vongsopasi, K. (2022). Development and evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant dense granule antigen 7 protein for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in cats in Thailand. *Veterinary World*, 15(3), 602–610.
- Tenter, A. M., Heckeroth, A. R., & Weiss, L. M. (2000). *Toxoplasma Gondii*: From animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30(11), 1217–1258.
- Tenter, A. M., Vietmeyer, C., & Johnson, A. M. (1992). Development of ELISAs based on recombinant antigens for the detection of *Toxoplasma Gondii*-specific antibodies in sheep and cats. *Veterinary Parasitology*, 43(3-4), 189–201.
- Terkawi, M. A., Kameyama, K., Rasul, N. H., Xuan, X., & Nishikawa, Y. (2013). Development of an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7 for serological detection of *Toxoplasma gondii* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 20(4), 596–601. doi: 10.1128/CVI.00747-12

- Tomita, N., Mori, Y., Kanda, H., Notomi, T., & Aono, T. (2008). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nature Protocols*, 3(5), 877–882. doi: 10.1038/nprot.2008.57
- Travaillé, E., La Carbona, S., Gargala, G., Aubert, D., Guyot, K., Dumètre, A., Villena, I., & Houssin, M. (2016). Development of a QRT-PCR method to assess the viability of *Giardia Intestinalis* cysts, *Cryptosporidium* Spp. and *Toxoplasma Gondii* oocysts. *Food Control*, 59, 359–365.
- Tumurjav, B., Terkawi, M. A., Zhang, H., Zhang, G., Jia, H., Goo, Y.-K., Yamagishi, J., Nishikawa, Y., Igarashi, I., & Sugimoto, C. (2010). Serodiagnosis of ovine toxoplasmosis in Mongolia by an enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant *Toxoplasma Gondii* matrix antigen 1. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 58(3-4), 111–119.
- Unzaga, J. M., Moré, G., Bacigalupe, D., Echeverría, M., Lenardón, L. A., & Basso, W. H. (2014). *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goat abortions from Argentina. *Parasitology International*, 63(6), 865–867. doi: 10.1016/j.parint.2014.07.009
- Veronesi, F., Santoro, A., Milardi, G. L., Cringoli, E., & D'Alessio, D. (2017). Detection of *Toxoplasma gondii* in faeces of privately owned cats using two PCR assays targeting the B1 gene and the 529-bp repetitive element. *Parasitology Research*, 116(3), 1063–1069. doi: 10.1007/s00436-017-5388-z
- Villanueva-Saz, S., Martínez, M., Giner, J., Ezquerro, M., Martín, M., & Solano-Jaurieta, J. (2023). Evaluation of an immunochromatographic serologic test to detect the presence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 52(2), 284–287. doi: 10.1111/vcp.13230
- Villegas, E. N., Augustine, S. A. J., Villegas, L. F., Ware, M. W., See, M. J., Lindquist, H. D. A., Schaefer, F. W., & Dubey, J. P. (2010). Using quantitative reverse transcriptase PCR and cell culture plaque assays to determine resistance of *Toxoplasma Gondii* oocysts to chemical sanitizers. *Journal of Microbiological Methods*, 81(3), 219–225.
- Vismarra, A., Barilli, E., Miceli, M., Mangia, C., Bacci, C., Brindani, F., & Kramer, L. (2017). *Toxoplasma Gondii* and pre-treatment protocols for polymerase chain reaction analysis of milk samples: A field trial in sheep from Southern Italy. *Italian Journal of Food Safety*, 6(1), 45–48.
- Wang, R., Wu, M., Cai, H., Hou, R., Jiang, L., Gao, X., & Deng, Y. (2023). Preparation and preliminary application of epitope peptide-based antibody against *Toxoplasma gondii* GRA3. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(3), 143. doi: 10.3390/tropicalmed8030143

- Weiss, L. M., & Dubey, J. P. (2009). Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *International Journal for Parasitology*, 39, 895. doi: 10.1016/j.ijpara.2009.02.007
- Williams, R. H., Morley, E. K., Hughes, J. M., Duncanson, P., Terry, R. S., Smith, J. E., & Hide, G. (2005). High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in longitudinal and cross-sectional studies on sheep farms provides evidence of vertical transmission in ovine hosts. *Parasitology*, 130, 301–307. doi: 10.1017/S003118200400650X
- Wong, S. Y., & Remington, J. S. (1994). Toxoplasmosis in pregnancy. *Clinical Infectious Diseases*, 18(6), 853–861; quiz 62. doi: 10.1093/clinids/18.6.853
- Wu, M., Wu, H., Chen, X., Wang, R., Hou, R., Deng, Y., & Gao, X. (2024). RPA-CRISPR/Cas9-based method for the detection of *Toxoplasma gondii*: A proof of concept. *Veterinary Parasitology*, 327, 110115. doi: 10.1016/j.vetpar.2024.110115
- Xue, Y., Kong, Q., Ding, H., Gao, X., Liu, C., & Wang, Q. (2021). A novel loop-mediated isothermal amplification-lateral-flow-dipstick (LAMP-LFD) device for rapid detection of *Toxoplasma gondii* in the blood of stray cats and dogs. *Parasite*, 28, 41. doi: 10.1051/parasite/2021039
- Yakimovich, A., Huttunen, M., Samolej, J., Wenc, C., Aydin, E., & Geyer, M. (2020). Mimicry embedding facilitates advanced neural network training for image-based pathogen detection. *mSphere*, 5(5). doi: 10.1128/mSphere.00836-20
- Yang, Y., Huang, Y., Zhao, X., Xu, Q., Du, J., Wang, S., & Li, M. (2022). Development of an immunochromatographic test based on rhoptry protein 14 for serological detection of *Toxoplasma gondii* infection in swine. *Animals (Basel)*, 12(15), 1929. doi: 10.3390/ani12151929
- Ybañez, R. H. D., & Nishikawa, Y. (2020). Serological detection of *T. gondii* infection in humans using an immunochromatographic assay based on dense granule protein 7. *Parasitology International*, 76, 102089. doi: 10.1016/j.parint.2020.102089
- Ybañez, R. H. D., Kyan, H., & Nishikawa, Y. (2020b). Detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in cats using an immunochromatographic test based on GRA7 antigen. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82(4), 441–445. doi: 10.1292/jvms.19-0654
- Ybañez, R. H. D., Ybañez, A. P., & Nishikawa, Y. (2020a). Review on the current trends of toxoplasmosis serodiagnosis in humans. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 529812. doi: 10.3389/fcimb.2020.529812
- Yin, F., Liu, J., Liu, A., Liu, X., Wang, Q., Xu, X., & Li, Z. (2017). Rapid diagnosis of *Theileria annulata* by recombinase polymerase amplification combined with a

- lateral flow strip (LF-RPA) in epidemic regions. *Veterinary Parasitology*, 237, 125–129. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.02.019
- Yousefvand, A., Mirhosseini, S. A., Ghorbani, M., Mohammadzadeh, T., Moghaddam, M. M., & Mohammadyari, S. (2021). Molecular and serological detection and of *Toxoplasma gondii* in small ruminants of Southwest Iran and the potential risks for consumers. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 16, 117–127. doi: 10.1007/s00003-021-01309-5
- Yu, H., Huang, B., Zhuo, X., Song, Y., Wang, X., & Shen, J. (2013). Evaluation of a real-time PCR assay based on the single-copy SAG1 gene for the detection of *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology*, 197(3–4), 670–673. doi: 10.1016/j.vetpar.2013.06.013
- Yu, Z., Cao, W., Gao, X., Xie, X., Wang, Y., Zuo, G., & Sun, Y. (2021). With chitosan and PLGA as the delivery vehicle, *Toxoplasma gondii* oxidoreductase-based DNA vaccines decrease parasite burdens in mice. *Frontiers in Immunology*, 12, 726615. doi: 10.3389/fimmu.2021.726615
- Zamora-Vélez, A., Triviño, J., Cuadrado-Ríos, S., Jaramillo-Ochoa, M. E., & Lora, F. (2020). Detection and genotypes of *Toxoplasma gondii* DNA in feces of domestic cats in Colombia. *Parasite*, 27, 25. doi: 10.1051/parasite/2020021

BÖLÜM 10

KRONİK BÖBREK HASTALIKLI KEDİ VE KÖPEKLERDE KÖK HÜCRE UYGULAMALARI

Arş. Gör. Tuğrul KIRKULAK¹

Doç. Dr. Gülten Emek TUNA²

<https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17412516>

¹Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, İç Hastalıkları ABD, Tekirdağ, Türkiye. tkirkulak@nku.edu.tr, orcid id: 0009-0009-0239-166X

²Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, İç Hastalıkları ABD, Aydın, Türkiye. emektuna@adu.edu.tr, orcid id: 0000-0002-9729-8813

1. GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH), kedi ve köpeklerde sık görülen bir problemdir. Böbreklerde, histolojik olarak tubulointerstisyel inflamasyon ve fibrozis ile karakterizedir. KBH'de, böbrek fonksiyonunun ilerleyici kaybı görülür ve ne yazık ki şu anda böbrek nakli, böbrek fonksiyonunu iyileştirmek için tek kesin tedavi yöntemidir. Bu nedenle, bu hastalıktan muzdarip kedi ve köpekler için ek tedavi seçenekleri sağlamak amacıyla yeni ve etkili tedavi seçenekleri aranmaktadır.

Kök hücre (KH) tedavisi, özellikle de Mezenkimal kök hücreler (MKH), KBH'nin yönetimi için yeni bir tedavi seçeneği olarak önerilmiştir. MKH'ler güçlü anti-inflamatuar ve antifibrotik etkiler gösterir. Parakrin etkiler yoluyla hastalıkla ilişkili inflamasyonu ve fibrozisi azaltarak böbrek fonksiyonunu dolaylı olarak iyileştirebilir. MKHlerin bu iki önemli etkisinin yanında; lenfosit proliferasyonu ve sitokin üretiminin inhibisyonu, dendritik hücre fonksiyonunun azaltılması ve doğal katil hücreler tarafından İnterferon- γ (IFN- γ) üretiminin baskılanması gibi immünomodülatör etkileri yer alır. Ayrıca, in vitro çalışmalar, MKH'lerin büyüme faktörleri ve anti-inflamatuar mediatörler üretebileceğini göstermiştir; bunların hepsi böbrek fonksiyonunu korumaya, iyileştirmeye ve böbrekteki inflamasyonu bastırmaya yardımcı olabilmektedir.

Yapılan çalışmalarda, deneysel olarak oluşturulan KBH'li hastalarda hem yağdan türetilen hem de kemik iliğinden türetilen MKH'lerin uygulanması, böbrekte inflamasyonun, fibrozisin ve glomerüloskleroza azaltılması dahil olmak üzere önemli böbrek koruyucu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bunlarla birlikte, kreatinin, kan üre azotu (BUN), proteinüri, kan basıncı ve hematokrit dahil olmak üzere böbrek fonksiyonu ve klinik sağlık parametrelerinin de MKH tedavisinin bir sonucu olarak iyileştiği gösterilmiştir.

Kronik böbrek hastalığının tüm evrelerinde inflamasyon mevcut olduğundan kök hücrelerin, immünomodülatör etkileri böbrek içi inflamasyonu ve ardından gelen fibrozu bastırmanın potansiyel bir yolu olarak caziptir. Bu nedenle, kök hücre tedavisi kedi ve köpeklerde KBH'nin ilerlemesini yavaşlatmak ve böbrek fonksiyonunu iyileştirmek için etkili bir yeni yaklaşım olabilir.

2. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik böbrek hastalığı, özellikle yaşlı köpek ve kedilerde oldukça sık görülen bir böbrek hastalığıdır. Yaklaşık olarak 3 aydan beri devam eden, tek ya da her iki böbreğin yapısal ve/veya işlevsel bozukluğu olarak tanımlanabilir. Çoğu hastada işlev ve yapı kaybı vardır; ancak işlevsel bozukluğun derecesi her zaman yapı kaybını yansıtmaz. Ayrıca, KBH belirli bir süre stabil kalan ancak sonucunda ilerleyici olan geri dönüşümsüz böbrek işlevi ve/veya yapı kaybı olarak da tanımlanabilmektedir. Bazı hastalarda KBH, durumu kötüleştirebilen eş zamanlı prerenal ve/veya postrenal sorunlarla komplike olabilir (Bartges, 2012).

Kronik böbrek hastalığı, her yaşta görülse de yaşlı hayvanların bir hastalığı olarak kabul edilir. Genel kedi ve köpek popülasyonunda KBH'nin tahmini görülme sıklığı %0,5-1,5'tir. Minnesota Üniversitesi Veterinerlik Tıp Merkezi'nde, 15 yaş üstü köpeklerin %10'undan fazlasına ve kedilerin %30'una KBH teşhisi konmuştur. Retrospektif bir çalışmada, KBH'li kedilerin %53'ünün 7 yaştan üzerinde olduğu bildirilmiştir. Purdue Üniversitesi Veterinerlik Tıp Veri Tabanı'na 1980-1990 yılları arasında gönderilen verilere dayanarak kedilerde böbrek hastalığının yaş dağılımı üzerine yapılan bir çalışmada, "böbrek yetmezliği" teşhisi konan kedilerin %37'si 10 yaştan altında, %31'i 10-15 yaşları arasında ve %32'si 15 yaştan üzerinde olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada, böbrek hastalığının yaygınlığının her yaştan 1000 kedide 16 vaka, 10 yaş üstünde ise 1000 kedide 77 vaka ve 15 yaş üstü kedilerde 1000 kedide 153 vaka olduğu bildirilmiş ve yaşla birlikte arttığı belirlenmiştir (DiBartola ve diğerleri, 1987; Polzin, 2011).

Böbrekler tüm vücut homeostazında rol oynar; bu nedenle KBH birçok organ sistemini etkiler, birçok metabolik bozuklukla ilişkilidir ve genel refahı etkiler. Glomerüler filtrasyon, hücreler ve proteine bağlı bileşikler dışında Bowman boşluğunda idrar oluşumuna neden olur; az miktarda albümin filtrelendir. Filtratın toplu reabsorpsiyonu, anyonik ve katyonik bileşiklerin ek salgılanması veya reabsorpsiyonuyla birlikte proksimal tübülde meydana gelir. Henle kıvrımı, süzüntüyü su ve sodyumun seçici reabsorpsiyonu yoluyla seyreltir. Distal kıvrımlı tübül ve toplayıcı kanallar, idrarın çözünen ve nem içeriğini hassas bir şekilde ayarlar. Bu süreçlere ek olarak, böbrekler asit-baz durumunun metabolik düzenlenmesinde yakından rol oynar, endokrin fonksiyona sahiptir (örneğin, eritropoietin ve D vitamini) ve kan basıncının

düzenlenmesinde rol oynar (örneğin, renin üretimi ve adrenal aldosteron salgılanması). Böbrek fonksiyonları azaldığında, normal süreçler bozulur ve bu da atılması gereken bileşiklerin (örneğin, fosfor ve kreatinin) tutulmasına ve tutulması gereken bileşiklerin (örneğin, su ve protein) kaybına neden olur (Bartges, 2012).

3. Kök Hücre

Kök hücre, çok hücreli organizmaların herhangi bir hücresine farklılaşabilen, kendini yenileme özelliğine sahip ve aynı kök hücreden sonsuz sayıda çoğalabilme yeteneği gösteren öncü hücre olarak bulunan farklılaşmamış ya da kısmen farklılaşmış hücreler olarak tanımlanabilir. Bu nedenle, kök hücreye kök hücre olma özelliğini kazandıran iki temel özellik kendini yenileme ve farklılaşmadır (Kadir ve diğerleri, 2012).

Kök hücre kavramı, 24. yüzyılın en heyecan verici bilimsel araştırma alanlarından biridir. KH araştırmalarının biyoloji ve tıp alanında yeni bir çığır açması bekleniyor ve umut ediliyor. Bir birey, yaşamı boyunca her biri belirli bir kök hücre tipinin mevcudiyetiyle karakterize edilen çeşitli gelişim aşamalarından geçer. Embriyonik aşamada KH'ler, tüm bireyi oluşturur ve doğum sonrası yaşamda hücreler, homeostazı korumak için bir tür iç onarım sistemi görevi görür varılabilir (Gugjoo ve Sharma, 2019). Embriyogenez sırasında trofoblastın iç hücre kütlesi, tüm bireyi oluşturan embriyonik kök hücreleri taşır (pluripotensi). Neredeyse tüm vücut dokularında bulunan yetişkin doku kök hücreleri, sınırlı farklılaşma potansiyeline (multipotent) sahiptir (Ayala-Cuellar ve diğerleri, 2018). MKH'ler gibi yetişkin doku kök hücreleri, doku hücresi ve matris dönüşümü yoluyla doku homeostazını korur. Bir bireyin gelişimsel ilerlemesinin, KH'lerin farklılaşma potansiyelinin azalmasına neden olduğu sonucuna varılabilir (Gugjoo ve Sharma, 2019).

4. Mezenkimal Kök Hücreler

Mezenkimal kök hücreler, yetişkin dokudan (ör; kemik iliği veya yağ) izole edilen, kemik, kıkırdak, yağ ve kas dokusu gibi mezodermal soylara farklılaşma kapasitesine ve replikasyon yoluyla kendini yenileme yeteneğine sahip, farklılaşmamış multipotent hücrelerden oluşan bir popülasyondur (Ribitsch ve diğerleri, 2010). MKH'ler, doku rejenerasyonuna doğrudan veya dolaylı olarak katılırlar. Tendon veya bağ fibroblastları gibi belirli hücresel fenotiplere farklılaşarak doku onarımına doğrudan katkıda bulunurlar. Matrisin

doğrudan farklılaşması ve üretimi kadar önemli olan bir diğer husus da yetişkin kök hücreler tarafından biyoaktif proteinlerin üretilmesidir. Bu faktörler arasında, yerel hücresel dinamikler üzerinde derin etkileri olan, anabolik etkiler üreten, neovaskülarizasyonu uyaran, hasar bölgesine ek KH'leri çeken çeşitli büyüme faktörleri, anti-apoptotik faktörler ve kemotaktik ajanlar bulunur (Dahlgren, 2009). MKH'ler, in vitro tanımlanmış kültür koşulları altında yüksek verimlilikle izole edilebilir, çoğaltılabilir ve birden fazla soya farklılaşmaya teşvik edilebilir. MKH'ler tipik olarak fibroblastlara benzeyen iğ şeklindedir. Hücrelerin tamamen farklılaşmamış KH'ler olarak sağlayacak spesifik MKH belirteçlerinin bulunmaması nedeniyle, MKH'ler, birden fazla soya farklılaşma kabiliyetleri, in vitro plastiğe yapışma özellikleri ve insan tıbbında tipik hücre yüzey belirteçlerinin pozitif ekspresyonu (CD 105, CD 73, CD 90) veya belirgin eksikliği (CD 34, CD 45) kombinasyonu ile tanımlanır (Prockop ve diğerleri, 2003). Ancak Veteriner Hekimlikte KH'lerin karakterizasyonu biraz daha zordur çünkü yaygın olarak bulunan hücre yüzey belirteçlerinin çoğu hayvan hücreleriyle çapraz reaksiyona girmez. Bu nedenle, spesifik yüzey belirteçlerinin eksikliğini gösteren sonuçların, bu belirteçlerin gerçekten yokluğuna mı dayandığı yoksa insan kaynaklı belirteçlerin hayvan hücreleriyle çapraz reaksiyona girmediği mi net değildir. Şu anda, plastik ve üç soylu farklılaşma potansiyeline bağlı kalmak, Veteriner Hekimlikte MKH'leri tanımlamanın tek yoludur (Csaki ve diğerleri, 2010; Koch ve diğerleri, 2008).

5. Vücuttaki Mezenkimal Kök Hücre Kaynakları

Mezenkimal kök hücreler, vücuttaki hemen hemen her dokudan izole edilebilir. Kedi ve köpeklerde, genişleme ve klinik tedavi için kullanılan MKH kaynakları arasında rutin sterilizasyon prosedürlerinden kurtarılan kemik iliği, yağ, testis ve yumurtalık dokusu ve gebe ovariohisterektomiden atılan fetal zar dokuları yer alır (Zhang ve diğerleri, 2014).

En yüksek MKH çoğalma potansiyeline sahip doku kaynağı türden türe değiştiğinden, kedilerde yakın zamanda yapılan bir çalışma farklı kaynaklardan gelen MKH'lerin çoğalma kapasitelerini karşılaştırmıştır (Webb ve diğerleri, 2012). Nispeten daha kolay bir toplama prosedürüne ek olarak, yağından elde edilen MKH'lerin (aMKH'ler) kemik iliğinden elde edilen MKH'lerden (bmMKH'ler) daha üstün bir proliferatif potansiyele sahip olduğu bulundu ve bu nedenle MKH tedavisi için tercih edilen kaynak olarak kabul edildi (Webb

ve diğerleri, 2012). ABH ve KBH kemirgen modellerinde çoğu MKH tedavisi bmMKH'leri kullanmasına rağmen, daha yeni çalışmalar aMKH'lerle benzer bir etkinliğe işaret ediyor (Kim ve diğerleri, 2012). bmMKH'lerin ve aMKH'lerin yüzey fenotipi ve immünolojik özellikleri benzer görünüyor ve hatta son literatür, aMKH'lerin immünomodülatör endikasyonlar için kullanılmasının ek bir avantaj sağladığını bile öne sürüyor (Kim ve diğerleri, 2012).

Bir hastadan tekrar o hastaya uygulanmak üzere toplanan kök hücrelere otolog MKH'ler denir. Sağlıklı donörlerden farklı, genetik olarak ilgisiz bir hastaya uygulanmak üzere toplanan kök hücrelere allojenik MKH'ler denir. Otolog ve allojenik hücrelerin göreceli etkinliği tartışmalı bir alandır. Her ne kadar allojenik MKH'lerin geleneksel olarak bağışıklık ayrıcalıklı olduğu ve bir bağışıklık tepkisi başlatması beklenmediği düşünülse de daha yeni kanıtlar, allojenik donör MKH'lere karşı antikor oluşumu ve reddi belgelendiğinden, 'bağışıklıktan kaçan' terminolojisinin daha uygun olabileceğini öne sürmektedir (Ankrum ve diğerleri, 2014). Sonuç olarak, otolog MKH'lerin allojenik hücrelere kıyasla vücutta daha uzun süre yaşayabileceği ve bunun da ikincisine göre daha iyi bir etkinlikle sonuçlanabileceği ileri sürülmektedir (Tögel ve diğerleri, 2009).

Böbrek hastalığı olan hayvanlarda otolog MKH uygulamasıyla ilgili bir diğer endişe de MKH'lerin üremi tarafından olumsuz etkilendiği teorisini destekleyen giderek artan literatürdür (Yamada ve diğerleri, 2014). Son çalışmalar, üremik sıçanlardan elde edilen MKH'lerin kültürde çoğalmasının azaldığını, rejeneratif potansiyel kaybına, erken yaşlanmaya, anjiyogenezi indüklemeye kapasitesinin azalmasına ve değişmiş bir sekreton oluşturduğunu belgelemiştir (Klinkhammer ve diğerleri, 2014).

Üremik etkiler ayrıca, üremik bireylerden alınan MKH'lerin, sağlıklı sıçanlardan alınan MKH'lere kıyasla deneysel olarak oluşturulan KBH'deki böbrek hasarını iyileştirme kapasitesinin azalması olarak in vitro belgelenmiştir (Klinkhammer ve diğerleri, 2014). Bunun hem bmMKH'leri hem de aMKH'leri etkileyip etkilemediği konusunda gözlemler karışıktır. Ancak bir çalışma, aMKH'lerin bmMKH'ler kadar üremik etkilere duyarlı olmadığına dair kanıt sunmaktadır (Roemeling-van Rhijn ve diğerleri, 2012).

Üreminin MKH işlevi üzerindeki etkileri konusunda bir endişe olmasına rağmen, allojenik aMKH'lerle yapılan klinik çalışmalar bu endişeleri ortadan kaldırmalı ve etkinlik için en iyi fırsatı sunmalıdır. Ancak bu bilgi, üremik

hastaların en iyi MKH kaynağı olmadığı anlamına gelir ve bu da otolog MKH tedavisi için bir endişe kaynağıdır. Üremik alıcı ortamına nakledilen MKH'lerin tehlikeye girip girmeyeceği konusunda çok az veri toplanmıştır. MKH'lerin kemirgen modellerinde ABH ve KBH'nin palyasyonunda başarılı olması, bunun bir sorun olmadığı yönünde bir argümandır (Quimby ve diğerleri, 2013).

6. Mezenkimal Kök Hücrelerin İmmünolojik ve Renoprotektif Özellikleri

Mezenkimal Kök Hücreler hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda gösterildiği gibi, bağışıklık tepkilerini açıkça düzenler. Diğer immünolojik özellikleri arasında, MKH'ler lenfosit çoğalmasını ve sitokin üretimini engeller, dendritik hücre (DC) işlevini baskılar ve DC sitokin üretimini değiştirir ve doğal katil hücreler tarafından IFN- γ üretimini azaltır (Reinders ve diğerleri, 2010). MKH'ler ayrıca yaralı dokulara yerleşme yeteneğine sahiptir ve büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler üretebilir, mikroveziküller gibi biyoajanları serbest bırakabilir ve hücreden hücreye temas yoluyla çalışabilir, bunların hepsi böbrek onarımını ve işlevini korumaya veya iyileştirmeye yardımcı olabilir (De Almeida ve diğerleri, 2013).

MKH'lerin in vitro ve kemirgen modellerinde değerlendirildiği gibi, belirgin renoprotektif etkilerini açıklamak için çeşitli etki mekanizmaları önerilmiştir. Bunlar arasında anti-inflamatuvar, pro-anjiyojenik, anti-apoptotik, anti-fibrotik, anti-oksidan özellikler ve endojen progenitör hücre üretiminin uyarılması yer alır (De Almeida ve diğerleri, 2013). Bu süreçler ABH modellerinde iyi belgelenmiştir, ancak doğal olarak gelişen kedigiller KBH'de ne ölçüde meydana geldikleri daha az anlaşılmıştır. Bununla birlikte, KBH'nin histolojik olarak tübülointerstisyel inflamasyon, tübüler hücre ölümü, fibroz oluşumu ve damar yapısının seyrelmesi ile karakterize edilmesi ve KBH oksidatif stresin gösterilmesi nedeniyle MKH tedavisi KBH'nin tedavisi için umut verici görünmektedir (McLeland ve diğerleri, 2015).

7. Veteriner Hekimlikte Kök Hücrelerin Kullanımı

Veteriner Hekimlikte KH'ler genellikle köpek ve atlarda kas ve iskelet sistemi hasarlarında kullanılmaktadır. Veteriner Hekimlikte tedavi amaçlı KH uygulaması, ilk olarak atlarda *Suspensor ligament*'in dezmitisinin tedavisinde kullanılmıştır. Bu uygulama, sternumdan alınan kemik iliği aspiratının yüksek dozda, hasarlı ligamente direkt olarak uygulanması şeklindedir. Köpek ve

atlarda MKH'lere dayalı tedavi girişimi genellikle kıkırdak-kemik, tendo veya ligament yaralanmalarında tercih edilmektedir (Fortier ve Travis, 2011; Cannazik ve Polat, 2014).

Köpeklerde ise hasar görmüş kalpten, KH'lerin izole edilmesiyle, kardiyak enfarktüslerde KH tedavisiyle iyileşme sürecinin hızlanacağı belirlenmiştir (Gattegno-Ho ve diğerleri 2012). Köpeklerde kemik iliği toplanması *tuber coxae*, *proksimal femur* ya da *proksimal humerus*'dan yapılabilmektedir (Fortier ve Travis, 2011; Cannazik ve Polat, 2014). Kemik iliği ve kemik hastalıklarında, köpeklerde kullanılan embriyonik KH'ler, hematopoietik progenitör hücrelere farklılaşabilmişlerdir (Schneider ve diğerleri, 2007; Cannazik ve Polat, 2014).

Kedilerde son yıllarda MKH'lerle ilgili çeşitli dokularda ve bunlarla ilgili çok sayıda hastalıkta kullanılmaya başlanmıştır. Gingivostomatitis, Feline Astıma Kompleks, Enteropati, Akut böbrek hasarı ve KBH gibi durumlarda deneysel olarak kullanılmaya başlanmıştır (Webb ve diğerleri, 2012).

8. Mezenkimal Kök Hücrelerin Kronik Böbrek Hastalığında Kullanımı

Rejeneratif tıp, işlevsel olarak hasar görmüş dokuları/organları onarmak veya değiştirmek için canlı hücreler ile dokular kullanma sürecini ifade eder. Veteriner Hekimlik ve insan tıbbında klinik uygulamalar için muazzam bir potansiyele sahip, yenilikçi bir bilimsel araştırma alanıdır. Böbrek hastalığı için şu anda araştırılan rejeneratif tıp stratejileri arasında KH'lerin, yerleşik böbrek progenitör hücrelerinin ve bunların yan ürünlerinin (mikroveziküller) kullanımı ya da yeniden programlanması yer almaktadır (Aggarwal ve diğerleri, 2013).

Son yıllarda hem rejeneratif özellikleri hem de yaralı ve hastalıklı organlardaki doku ortamını değiştirme yetenekleri yoluyla yetişkin KH'lerin hastalık tedavisinde potansiyel kullanımına olan ilgi artmıştır. Özellikle, MKH'ler olarak bilinen yetişkin kök hücreler, etkilenen bölgelere göç edebilir ve diğer kök hücrelerin büyümesini destekleyebilir ve bağışıklık tepkilerini düzenleyebilir. MKH'lerin bilinen arzu edilen özelliklerine dayanarak, MKH terapisi kedilerde hem ABH hem de KBH tedavisinde potansiyele sahiptir (Quimby ve diğerler, 2013).

9. Kronik Böbrek Hastalığı İçin Neden Mezenkimal Kök Hücre Tercih Edilir

Kök hücre, hücre bölünmesi yoluyla uzun süreli kendini yenileme yeteneğine sahip ancak uzmanlaşmış, işlevsel bir hücreye farklılaşması sağlanabilen herhangi bir uzmanlaşmamış hücreyi ifade eden genel bir terimdir. KH'ler genellikle embriyonik kök hücreler ve yetişkin kök hücreler olmak üzere iki gruba ayrılır. Yetişkin kök hücreler, kemik iliği, kemik, yağ ve kas dokuları dahil olmak üzere (ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere) birçok farklılaşmış dokudan elde edilebilir. Yetişkin kök hücrelerinin elde edilmesi de etik kaygılara yol açmaz ve kök hücreler çoğunlukla kemik iliği veya yağ kaynaklarından elde edilir. 'Kök hücre tedavisi' etiketini kullanan birçok çalışmada, kullanılan hücreler aslında MKH'lerdir ve bazı yayınlarda mezenkimal stromal hücreler olarak da adlandırılır (Quimby ve diğerleri, 2016).

Mezenkimal kök hücreler çok güçlüdür ancak pluripotent değildir, bu da öncelikle yağ, kıkırdak ve kemik dokularına farklılaşabildikleri ancak diğer hücre soylarına kolayca farklılaşamadıkları anlamına gelir (Reinders ve diğerleri, 2010). MKH'ler yaralı dokulara yerleşebilme yeteneğine sahiptir. Onarım ve rejenerasyonu teşvik edebilen tropik faktörler üretebilirler, bu da onlara muazzam bir terapötik potansiyel kazandırır (Quimby ve diğerleri, 2016).

10. Kronik Böbrek Hastalığında Mezenkimal Kök Hücrelerin Klinik Kullanımı

Günümüzde, kedi ve köpeklerde KBH, MKH tedavisiyle ilgili yayınlanmış az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların ilerlemesi, kedi ve köpek KBH'sinde MKH'lerin kullanımıyla ilgili mevcut bilgi durumuna genel bir bakış sağlamak için burada özetlenmiştir.

11. İntrarenal Uygulama

Kronik böbrek hastalığı olan kedi ve köpeklerde yapılan ilk pilot çalışma, otolog intrarenal MKH tedavisinin güvenliğini ve uygulanabilirliğini değerlendirmeye odaklanmıştır (Quimby ve diğerleri, 2011). Altı kediye (iki sağlıklı, dört KBH'li) ultrason rehberliğinde otolog bmMKH'ler veya aMKH'lerin tek taraflı intrarenal enjeksiyonu uygulandı. Minimum veritabanı ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR), nükleer sintigrafi ile enjeksiyondan önce,

enjeksiyondan 7 gün sonra ve enjeksiyondan 30 gün sonra belirlendi. MKH'lerin intrarenal enjeksiyonu, anında veya daha uzun vadeli olumsuz etkilere neden olmadı. aMKH alan iki Evre III KBH kedisi, GFR'de mütevazı bir iyileşme ve serum kreatinin konsantrasyonunda hafif bir azalma yaşadı. MKH'ler kedi ve köpeklerde ultrason rehberliğinde, uygun sedasyon altında, intrarenal enjeksiyonla güvenli bir şekilde transfer edilebilmektedir ancak bu yaklaşımı uygulamak için gereken sedasyon ve müdahale sayısı büyük olasılıkla yaygın klinik uygulamayı engelleyeceğinden, alternatif MKH tedavisi kaynakları ve yolları araştırılmalıdır.

12. İntravenöz Uygulama

Bir çalışma serisinde, KBH'li kedilere allojenik IV kültür MKH'lerin uygulanmasının uygulanabilirliği araştırılmıştır (Quimby ve diğerleri, 2013). Bu çalışmaların amacı, 'rafta hazır' bir MKH ürününün uygulanabilirliğini değerlendirmektir. Eş zamanlı hastalığı olmayan stabil KBH kediler kaydedilmiş ve 3 gruba ayrılmış. Daha sonra sağlıklı, genç, spesifik patojen içermeyen kedilerden allojenik aMKH'ler toplanmış ve kriyoprezervasyon uygulanmış. Tüm gruplara 2 haftada bir olacak şekilde aMKH'ler IV infüzyonla uygulanmış. 1. gruptaki kedilere infüzyon başına 2×10^6 kriyoprezervasyon uygulanmış aMKH, grup 2'deki kedilere infüzyon başına 4×10^6 kriyoprezervasyon uygulanmış aMKH ve grup 3'teki kedilere kriyoprezervasyon uygulanmış yağ dokusundan kültürlenmiş 4×10^6 aMKH uygulaması yapılmış. Serum biyokimyası, tam kan sayımı, idrar tahlili, idrar proteini, GFR ve idrar sitokin konsantrasyonları 6-8 haftalık tedavi süresince izlenmiş. Grup 1'deki kedilerde aMKH infüzyonlarından kaynaklanan birkaç olumsuz etki görülmüş ve çalışma süresince serum kreatinin konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüş. Ancak serum kreatinin konsantrasyonlarındaki azalma derecesinin klinik olarak önemli bir iyileşmeyi temsil etmediği değerlendirilmiştir.

Özellikle, ikinci grup çalışmaya katılan ve doğrudan kriyoprezervasyondan alınan MKH'lerle tedavi edilen kedilerin çoğunda aMKH infüzyonunun olumsuz etkileri gözlemlenmiş. Örneğin, infüzyon sırasında 5 kediden 2'sinde kusma meydana gelmiş ve 5 kediden 4'ünde solunum hızı ve eforunda artış görülmüş. Buna karşılık, kriyoprezervasyonlu yağ dokusundan kültürlenen aMKH alan grup 3'teki kediler herhangi bir

olumsuz yan etki yaşanmamış. Ayrıca, grup 2 ve 3'te kedilerde serum kreatinin konsantrasyonları, idrar sitokinleri ve GFR önemli ölçüde değişmediği belirlenmiştir.

Üç çalışmanın birikmiş sonuçlarına dayanarak, grup 2'de tedaviyle ilişkili olumsuz etkilerin kaynağının, kriyoprezervasyondan doğrudan alınan daha yüksek dozda aMKH kullanımı olduğu sonucuna varıldı. Bu reaksiyonun en olası açıklaması, hücrelerin kanla temas ettiğinde kümelenmesine ve ardından olası mikro pulmoner tromboemboliye neden olan anında kan aracılı inflamatuvar reaksiyondur (IBMIR) (Moll ve diğerleri, 2012). IBMIR fenomeni daha önce insanlarda kriyoprezervasyonlu hücrelerde tanımlanmıştır ve doz ve pasaj sayısı ile şiddeti artmaktadır (Moll ve diğerleri, 2012). Uygulanan MKH'lerin lizisine ve ardından düşük etkinliğe neden olabilir. Grup 2'de verilen tüm hücreler diğer iki grup çalışmada kullanılanlarla aynı pasajda (G3) olmasına rağmen, reaksiyon yalnızca hücrelerin doğrudan kriyoprezervasyondan alındığı ve daha yüksek dozda kullanıldığı grupta görülmüştür. Grup 3'te, kriyoprezervasyondan kültürlenmiş aMKH'lerin uygulanması sırasında veya sonrasında herhangi bir komplikasyon görülmedi. Bu nedenle, kriyoprezervasyondan doğrudan alınan daha yüksek dozda aMKH'lerin uygulanmasının (dikkatli yıkamaya rağmen) gözlemlenen toksik reaksiyonların kaynağı olduğu ve bu uygulama şeklinin önerilmediği sonucuna varılmıştır (Quimby ve Dow, 2015).

Kedilerde KBH'sinin tedavisinde kriyoprezervasyonlu yağ dokusundan elde edilen allojenik MKH'lerin etkinliğini değerlendiren bir çalışma bulunmaktadır (Quimby ve diğerleri, 2016). Bu çalışmada 6 kediye, 2, 4 ve 6. haftalarda 2×10^6 MKH/kg IV uygulandı. 3 kediye ise izotonik tuzlu su infüzyonu (plasebo) uygulandı. 0, 2, 4, 6 ve 8. Haftalarda, tam kan sayımı, biyokimya ve idrar tahlili yapıldı. Nükleer sintigrafi ile belirlenen GFR ve idrar proteini: kreatinin oranı belirlendi. MKH'lerle tedavi edilen kedilerde serum kreatinin, BUN, potasyum, fosfor, GFR, UPC veya paketlenmiş hücre hacminde önemli bir değişiklik gözlenmedi. Kriyoprezervasyonlu yağ dokusundan kültürlenmiş MKH'lerin uygulanması olumsuz etkilerle ilişkilendirilmemiş olsa da malesefki uygulamadan sonraki haftalarda böbrek fonksiyonunda önemli bir iyileşme gözlenmediği kaydedilmiştir (Quimby ve Dow, 2015).

13. Arter İçi Uygulama

Kronik böbrek hastalıklı otolog intra-arteriyel MKH tedavisinin güvenliği ve etkinliği de şu anda araştırılmaktadır (Berent, 2013). Bu çalışmalarda kediler, minimal invaziv görüntü kılavuzluğunda girişimsel radyolojik teknikler kullanılarak renal artere enjekte edilen otolog MKH ile tedavi edilir. Bu uygulama yöntemi özellikle avantajlıdır çünkü KH'lerin diğer organlar tarafından ilk alımını atlar ve daha fazla sayıda hücreyi doğrudan hastalıklı renal dokuya iletir. MKH'ler IV (genellikle sefalik ven yoluyla) verildiğinde hücreler önce pulmoner kılcal yataktan geçmelidir ve uygulanan tüm doz büyük olasılıkla böbreğe ulaşmaz. Ek olarak, MKH'ler herhangi bir yaralı veya iltihaplı dokuya yerleşme yeteneğine sahiptir ve yaşlı kedi hastalarının birden fazla eş zamanlı hastalığı olma olasılığı yüksek olduğundan, hücreler renal olmayan dokulara yönlendirilebilir (Quimby ve Dow, 2015).

14. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kök hücre tedavisi ve rejeneratif tıp alanları hızla gelişiyor. Veteriner hekimliği, kök hücre tedavisine uygun kronik inflamatuvar hastalığı olan hayvanlarda öncü bir rol üstlenmeye hazırdır. Kök hücre tedavisinin nispeten yakın bir gelecekte bir dizi önemli hastalık için tedavi paradigmasını değiştirmede önemli ilerleme sağlaması mümkündür. Gingivostomatit, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve astım gibi durumlar kök hücre tedavisine potansiyel olarak uygundur. İn vitro ve kemirgen modellerinde yapılan çalışmalara dayanarak mezenkimal kök hücre tedavisinin kedi ve köpeklerde kronik böbrek hastalığı için ideal bir tedavi olduğu görülmektedir.

Ancak, kök hücrelerin etki mekanizması ve hastalıklara uygulamaları hakkında, bu oldukça umut verici tedaviyi en iyi şekilde elde etmek için ideal uygulama yolları ve dozları belirlemek de dahil olmak üzere, hala öğrenilmesi gereken çok şey var. Bu yeni ortaya çıkan alanların karşı karşıya olduğu zorluklar arasında tedavi protokollerinin standardizasyonu ve çalışma sonuçlarının raporlanmasında kanıta dayalı tıbbın katı ilkelerine uyulması yer almaktadır. Ayrıca, kedi ve köpeklerdeki sonuçlar şimdilik kemirgen modellerindeki kadar etkili değildir. Bu yüzden bu konu üzerine yakın gelecekte daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKÇA

- Aggarwal, S., Moggio, A., ve Bussolati, B. (2013). Concise review: stem/progenitor cells for renal tissue repair: current knowledge and perspectives. *Stem Cells Translational Medicine*, 2(12), 1011-1019.
- Ankrum, J. A., Ong, J. F., ve Karp, J. M. (2014). Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nature biotechnology*, 32(3), 252-260.
- Ayala-Cuellar, A. P., Kim, C. W., Hwang, K. A., Kang, J. H., Lee, G., Cho, J., ve Choi, K. C. (2019). Characterization of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells immortalized by SV40-T retrovirus for therapeutic use. *Journal of cellular physiology*, 234(9), 16630-16642.
- Bartges, J. W. (2012). Chronic kidney disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(4), 669-692.
- Berent, A. C. (2013). Selective intra-arterial (IA) and non-selective intravenous (IV). delivery of autologous mesenchymal-derived stem cells (MKH) in canine and feline patients with acute and chronic kidney disease. In : (pp. 676-678).
- Cannazik, O., ve Polat, B. (2014). Kök hücre ve veteriner hekimlikte uygulama alanları. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 9(3).
- Csaki, C., Matis, U., Mobasheri, A., Ye, H., ve Shakibaei, M. (2007). Chondrogenesis, osteogenesis and adipogenesis of canine mesenchymal stem cells: a biochemical, morphological and ultrastructural study. *Histochemistry and cell biology*, 128(6), 507-520.
- Dahlgren, L. A. (2009). Fat-derived mesenchymal stem cells for equine tendon repair. *Regen Med*, 4(6 Suppl 2), S14. Zhang, N., Dietrich, M. A., ve Lopez, M. J. (2014). Therapeutic doses of multipotent stromal cells from minimal adipose tissue. *Stem cell reviews and reports*, 10(4), 600-611.
- De Almeida, D. C., Donizetti-Oliveira, C., Barbosa-Costa, P., Origassa, C. S., ve Câmara, N. O. (2013). In search of mechanisms associated with

- mesenchymal stem cell-based therapies for acute kidney injury. *The Clinical Biochemist Reviews*, 34(3), 131.
- DiBartola, S. P., Rutgers, H. C., Zack, P. M., ve Tarr, M. J. (1987). Clinicopathologic findings associated with chronic renal disease in cats: 74 cases (1973–1984). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190(9), 1196-1202.
- Fortier, L. A., ve Travis, A. J. (2011). Stem cells in veterinary medicine. *Stem cell research ve therapy*, 2, 1-6.
- Gugjoo, M. B., ve Sharma, G. T. (2019). Equine mesenchymal stem cells: properties, sources, characterization, and potential therapeutic applications. *Journal of equine veterinary science*, 72, 16-27.
- Kadir, R. A., Ariffin, S. H. Z., Wahab, R. M. A., ve Senafi, S. (2012). Molecular characterisation of human peripheral blood stem cells. *South African Journal of Science*, 108(5), 1-7.
- Kim, J. H., Park, D. J., Yun, J. C., Jung, M. H., Yeo, H. D., Kim, H. J., ... ve Chang, S. H. (2012). Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells protect kidneys from cisplatin nephrotoxicity in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 302(9), F1141-F1150.
- Klinkhammer, B. M., Kramann, R., Mallau, M., Makowska, A., van Roeyen, C. R., Rong, S., ... ve Kunter, U. (2014). Mesenchymal stem cells from rats with chronic kidney disease exhibit premature senescence and loss of regenerative potential. *PloS one*, 9(3), e92115.
- Koch, T. G., Berg, L. C., ve Betts, D. H. (2008). Concepts for the clinical use of stem cells in equine medicine. *The Canadian veterinary journal*, 49(10), 1009.
- Matur, İ., ve Solmaz, S. (2011). Kök Hücre Üretiminde Güncel Yaklaşımlar. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(3), 168-186.

- McLeland, S. M., Cianciolo, R. E., Duncan, C. G., ve Quimby, J. M. (2015). A comparison of biochemical and histopathologic staging in cats with chronic kidney disease. *Veterinary pathology*, 52(3), 524-534.
- Moll, G., Rasmusson-Duprez, I., von Bahr, L., Connolly-Andersen, A. M., Elgue, G., Funke, L., ... ve Le Blanc, K. (2012). Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood?. *Stem cells*, 30(7), 1565-1574.
- Polzin, D. J. (2011). Chronic kidney disease. *Nephrology and urology of small animals*, 431-471.
- Prockop, D. J., Gregory, C. A., ve Spees, J. L. (2003). One strategy for cell and gene therapy: harnessing the power of adult stem cells to repair tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(suppl_1), 11917-11923.
- Quimby, J. M., ve Dow, S. W. (2015). Novel treatment strategies for feline chronic kidney disease: A critical look at the potential of mesenchymal stem cell therapy. *The Veterinary Journal*, 204(3), 241-246.
- Quimby, J. M., Webb, T. L., Gibbons, D. S., ve Dow, S. W. (2011). Evaluation of intrarenal mesenchymal stem cell injection for treatment of chronic kidney disease in cats: a pilot study. *Journal of feline medicine and surgery*, 13(6), 418-426.
- Quimby, J. M., Webb, T. L., Habenicht, L. M., ve Dow, S. W. (2013). Safety and efficacy of intravenous infusion of allogeneic cryopreserved mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: results of three sequential pilot studies. *Stem cell research ve therapy*, 4, 1-12.
- Quimby, J. M., Webb, T. L., Randall, E., Marolf, A., Valdes-Martinez, A., ve Dow, S. W. (2016). Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic

- kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 18(2), 165-171.
- Reinders, M. E., Fibbe, W. E., ve Rabelink, T. J. (2010). Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(1), 17-24.
- Ribitsch, I., Burk, J., Delling, U., Geißler, C., Gittel, C., Jülke, H., ve Brehm, W. (2010). Basic science and clinical application of stem cells in veterinary medicine. *Bioreactor Systems for Tissue Engineering II: Strategies for the Expansion and Directed Differentiation of Stem Cells*, 219-263.
- Roemeling-van Rhijn, M., Reinders, M. E., De Klein, A., Douben, H., Korevaar, S. S., Mensah, F. K., ... ve Hoogduijn, M. J. (2012). Mesenchymal stem cells derived from adipose tissue are not affected by renal disease. *Kidney international*, 82(7), 748-758.
- Tögel, F., Cohen, A., Zhang, P., Yang, Y., Hu, Z., ve Westenfelder, C. (2009). Autologous and allogeneic marrow stromal cells are safe and effective for the treatment of acute kidney injury. *Stem cells and development*, 18(3), 475-486.
- Webb, T. L., Quimby, J. M., ve Dow, S. W. (2012). In vitro comparison of feline bone marrow-derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Journal of feline medicine and surgery*, 14(2), 165-168.
- Yamada, A., Yokoo, T., Yokote, S., Yamanaka, S., Izuhara, L., Katsuoka, Y., ... ve Ida, H. (2014). Comparison of multipotency and molecular profile of MSCs between CKD and healthy rats. *Human Cell*, 27(2), 59-67.
- Gattegno-Ho, D., Argyle, S. A., ve Argyle, D. J. (2012). Stem cells and veterinary medicine: tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. *The Veterinary Journal*, 191(1), 19-27.
- Schneider, M. R., Adler, H., Braun, J., Kienzle, B., Wolf, E., ve Kolb, H. J. (2007). Canine embryo-derived stem cells—toward clinically relevant

animal models for evaluating efficacy and safety of cell therapies. *Stem Cells*, 25(7), 1850-1851.

BÖLÜM 11

BUZAĞILARDA PERİNATAL ÖLÜM VE PERİNATAL ÖLÜMLERDEN KAÇINMA YOLLARI

Prof. Dr. Semra KAYA¹, Prof. Dr. Ekin Emre ERKİLİÇ²

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17428707>

¹ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, semra-kafkas@hotmail.com

² Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, ekin_emre_24@hotmail.com

1. Giriş

Perinatal dönem, inekler için yaşamlarının en tehlikeli ve buzağı ölümlerinin en fazla (toplam buzağı ölümlerinin yaklaşık yarısı) meydana geldiği dönemdir (1,2). Bu dönemde gerçekleşen ölümler perinatal ölüm olarak değerlendirilir. Perinatal ölüm buzağılamadan önce (en az 260 günlük bir gebeliğin ardından), buzağılama sırasında veya buzağılamadan sonraki 24-48 saat içinde buzağının ölümü olarak tanımlanmaktadır (1,3). Ölüm oranı çiftlikten çiftliğe değişmektedir (4) ve ölümlerin büyük bir çoğunluğu buzağılamayı takip eden bir saat içinde meydana gelmektedir. Doğum öncesi veya doğumdan birkaç saat sonra ise ölüm oranı daha düşük olmaktadır (5).

2. Risk Faktörleri

Perinatal ölüm görülmesine etki eden pek çok risk faktörü bulunmaktadır. Buzağılama mevsimi, buzağılama yöntemi ve sürü büyüklüğü bu risk faktörlerindendir. Buzağılama sırasında gerçekleşen perinatal ölümlerin en önemli nedeni güç doğumdur. Buzağılama yaşı, annenin ırkı, ikizlik, fötüsün cinsiyeti, beklenenden uzun veya kısa gebelik süresi ve gebelik beslenmesi güç doğum görülme oranını değiştirmektedir (4-6). Doğum sırasında yetersiz izleme ve doğumun ikinci evresinin süresi perinatal ölüm üzerine etkilidir. İkinci evre, doğum sürecini değerlendirmek ve zamanında obstetrik müdahaleleri sağlamak için kullanılan önemli bir evredir. Yetersiz izleme, doğum sürecini gereksiz yere uzatarak ölü doğum riskini artırabilir (7). Yavrunun doğum ağırlığı hem güç doğum oranını hem de perinatal ölüm riskini atırmaktadır (8). Doğum travması, hipoksi, metabolik asidoz, hipotermi, hipoglisemi, hipoglobulinemi, enfeksiyonlar, konjenital anomaliler ve prematüre doğum perinatal ölüm riskini artıran diğer faktörler olarak sıralanabilir (1,5,9,10). Buzağılama alanının sert zemin olması, ilk kolostrum beslemesinin gecikmesi, yardımcı buzağılama oranının artması, erkek buzağılama oranının daha yüksek olması ve inek-buzağı temas süresinin daha kısa olması perinatal ölüm riskinin artmasına neden olabilmektedir (11). Özellikle çiftlik yönetiminin ve personelinin güç doğum ve güç doğumun buzağılar üzerine olan etkilerini yönetebilmeleri konusunda eğitilmeleri oldukça önemlidir ve bu durum perinatal ölüm riskini değiştirebilmektedir (12).

3. Perinatal Dönemde Gerçekleşen Fizyolojik Olaylar

Doğum gerçekleştikten hemen sonra birincil ölüm nedeni doğrudan veya dolaylı olarak buzağıda şekillenen asfeksidir (3). Doğum sırasında uterus kontraksiyonu, göbek kordonunun torsiyonu, pelvis içerisindeyken göbek kordonunun sıkışması veya plasentanın erken ayrılması sonucu utero-plasental dolaşım bozuklukları gerçekleştiğinden doğan tüm buzağı fötüslerinde değişen şiddetlerde hipoksi oluşur ve dolayısıyla asidoz gelişir (2,13). Fötüs hipoksiyi bertaraf etmek amacıyla dolaşımı (oksijen tasarrufu) azaltır. Yaşam için elzem olan organlarda (beyin, kalp ve böbrek üstü bezler) dolaşım korunurken, akciğer, dalak, kas ve deri gibi yaşam için gerekli olmayan organlara kan temini azaltılır. Önce kalp atımı ve kan basıncı yükselir. Hipokseminin artması durumunda ise bradikardi şekillenir. Oksijen yokluğu, minimum kan akışına sahip tüm dokularda anaerobik glikoliz oluşmasına neden olur. Glikoz pirüvata metabolize edilir ve pirüvatta laktik asite indirgenir. Oluşan enerji miktarı az olsa da metabolizmanın bir süre devam etmesi için yeterli olmaktadır. Fakat bu durum karbonhidrat rezervlerinin hızla tükenmesine neden olur ve dokularda laktik asit birikmesine yol açarak metabolik asidoz gelişir. Bu yüzden yeni doğan tüm fötüsler hem solunum hem de metabolik asidozdan muzdariptir. Şiddetli asidoz perinatal ölüm nedenlerindendir (2).

Yüksek riskli buzağılarda başını düzeltme, oturma ve ayağa kalkma girişimleri gecikir veya yoktur. Normal bir buzağı doğumdan birkaç dakika sonra başını doğrultur ve 2-3 dakika içinde sternal pozisyona geçer. 15-30 dakika içinde ayağa kalkma girişimlerinde bulunmaya başlar ve doğumdan yaklaşık bir saat sonra ayağa kalkar (9,13). Riskli buzağının çevreye olan ilgisi azalmıştır, hipotermi ($<38,3^{\circ}\text{C}$), bradikardi (kalp atım sayısı <80), dilate göz bebekleri ve gözlerde refleks kaybı, hareketsizlik veya kas tonusunda gevşeme belirtileri bulunur. Değerlendirme yapılırken siyanotik mukoza veya uzamış kapillar dolum süresi, buzağının dolaşım desteğine ihtiyaç duyduğunun bir göstergesi sayılabilir. Solunum sayısının artması (>75), abdominal solunum ve ekspirasyon sırasında inleme buzağının solunum desteğine ihtiyaç duyduğunu gösterebilir (9).

4. Perinatal Ölüm Oranları

Perinatal dönemde ölen buzağların büyük bir çoğunluğunda (yaklaşık %73-75'inde) patolojik bir değişiklik saptanmaması nedeniyle ölüm nedeni olarak en çok asfeksiden şüphelenilmektedir (2). Bir çalışmada buzağı ölümlerinin %10'unun enfeksiyona bağlı gerçekleştiği tespit edilmiştir. Perinatal ölüm gerçekleşen buzağılarda tespit edilen en yaygın enfeksiyonların paraziter kaynaklı (%11,6) olduğu, daha sonra sırasıyla viral (%7,4) ve bakteriyel (%5) etkenlerden kaynaklandığı saptanmıştır (4). Bir diğer çalışmada doğan buzağların %9,7'sinde perinatal ölüm belirlenmiştir. Ölümün özellikle yetersiz gözlem ve doğumun ikinci aşamasının uzamasına bağlı olarak şekillendiği ortaya konulmuştur (7). Raboisson ve ark. (14) yaptıkları çalışmada 0-2 günlük buzağılarda ölüm oranını %6,7 olarak belirlemişlerdir. Değerlendirilmeye alınan çiftliklerin %26'sında perinatal ölüm gerçekleştiği tespit edilmiştir. Sürü düzeyinde perinatal ölüm riskinin %0 ile %38,1 (ortalama= %7,6) arasında değiştiği belirlenmiştir (11). Kolorado'da yapılan bir çalışmada perinatal ölüm oranı %8,2 olarak belirlenmiştir (12). İsviçre'de yapılan bir çalışmada çiftlikler düzeyinde ortalama %10 (%5,3-28,2) perinatal ölüm gerçekleşirken, ineklerin %11,5'inde ölüm belirlenmiştir (15). Laster ve Gregory (6) ise perinatal ölüm oranını %8,6 olarak belirlemiştir. Almanya'da yapılan bir çalışmada bu oran %9,7 olarak tespit edilmiştir (7). Türkiye'de konuyla ilgili fazla çalışma bulunmamaktadır. Konya ilinde yapılan bir çalışmada perinatal ölüm oranı %12,7 olarak tespit edilmiştir (16). Perinatal ölümün oluştuğu süre için mutabakata varılmış tam bir tanım söz konusu değildir ve araştırmalarda genellikle geç gebelik abortlarını ve 48 saate kadar olan ölümleri içermektedir. Bu nedenle çalışmalarda çok farklı oranlar belirlenmektedir (17).

5. Perinatal Ölümlerden Kaçınma Yolları

Perinatal ölümler yetiştiricilikte giderek büyüyen bir sorundur (9). Perinatal dönemdeki buzağı kayıpların en önemli nedeni gelişimini tamamlamadan doğan prematüre buzağılardır. Yeni doğan buzağıya yeterince özenin gösterilmemesi, güç doğum, travma ve konjenital anomaliler ölüme neden olan diğer faktörlerdir (18). Bu nedenle perinatal ölümlerin önlenmesinde temel yaklaşım, güç doğumu engellemek ve erken buzağılama riskini azaltmak olmalıdır. Gebeliğin 270. gününden önce doğan buzağılarda

solunum depresyonu riski yüksektir; bu nedenle stres kaynaklı erken doğum oluşmasından kaçınılmalıdır. Bu süreden sonra gebe ineklerin taşınması, tırnak kesimi, α -2 agonistleri ile sedasyon ve sıcaklık stresi önlenmelidir. Yüksek riskli hayvanlarda gebeliğin son dönemleri ultrasonografi ile izlenmeli; fetomaternal komplikasyonlar saptandığında doğum indüksiyonu veya elektif sezaryen düşünülmelidir (19). Ayrıca güç doğum riskini azaltmak amacıyla gebeliğin son döneminde annenin beslenmesine dikkat edilmeli, yağlandırılmamalıdır (2).

Risk altındaki buzağların belirlenmesi, hızlı müdahale ve yoğun bakım sağlanması ile ölümler engellenebilir. Yeni doğan resüsitasyonu, oksijen sağlanması, intravenöz kateter yerleştirilmesi, sıvı tedavisi, destekleyici tedavi, kolostrum verilmesi, klinik izleme ve etkili tedavi protokollerinin uygulanması buzağların hayatta kalmasını ve sağlığını artırır (9). Canlandırma kiti, stetoskop, termometre, ambu torbası gibi basınçlı hava cihazı, enjektör, biberon ve oksijen verme ekipmanları perinatal ölümleri azaltmak amacıyla çiftliklerde bulundurulmalıdır (1).

Buzağının hayati bulguları değerlendirilirken dikkate alınması gereken en önemli unsur ventilasyondur. Doğumu takiben şekillenen hiperkapni sonucu solunum tetiklenir ve doğumdan sonra yaklaşık ilk 30 saniyede solunum başlar. Uzun veya zorlu doğumlardan sonra bazı buzağlar nefes alma refleksini göstermeyebilir ve bu nedenle uyarılması gerekebilir (20). Hipoksi şüphesi bulunan bir buzağda, doğumu takip eden ilk dakikalarda hızla akciğerin hava ile dolmasına yönelik tedaviye başlanmalıdır. Doğumda göbek kordonunun kopması sonucu kan akımı aniden kesilince fötüste refleks solunum hareketleri ortaya çıkar. Bu solunum hareketleri, pulmoner vasküler direnci hızla azaltırken, periferik vasküler direnci artırır. Böylece alveol dokusunun perfüzyonu ve neonatal kanın oksijenlenmesi kolaylaşır. Ayrıca akciğerlerin ilk genişlemesi alveol ve trakeobronşiyal boşluklardaki sıvının uzaklaştırılmasını sağlar. Ancak hipoksik buzağlarda bu sıvı tam olarak uzaklaştırılamaz. Ventilasyon-perfüzyon dengesizliği oluşur. Böyle bir durumda oksijen verilmesi klinik durumu belirgin şekilde düzeltemez; çünkü alveol boşluklarındaki sıvı, oksijenin kapillerlere difüzyonunu engeller. Bu nedenle, ventilasyon desteğine başlanırken pozitif basınçlı ventilasyon uygulanması kritik öneme sahiptir (13). Diyafram üzerindeki baskıyı azaltmak ve akciğerlerin kolayca hava ile dolmasını sağlamak amacıyla buzağıyı sternal

pozisyonda, arka bacakları vücudun yanına uzanacak şekilde yatırılması önerilmektedir (20). Burun septumunun sıkılması veya burun mukozasının saman sapları kullanılarak uyarılması (hayvanın hapşırması veya öksürmesi sağlanarak) da solunumu uyarmak amacıyla kullanılabilir (1,20). Buzağının başına ya da tüm vücuduna soğuk su dökülerek oluşturulan hipotermal stimülasyon nefes alma refleksini başlatabilmektedir. Ayrıca yavrunun battaniye veya samanla kurulanması solunumu uyatabilmektedir. Üst solunum yollarında bulunan sıvının uzaklaştırılması akciğerin hava ile dolması için gereklidir. Buzağının arka ekstremitelerinden dikkatlice kaldırılması (yaklaşık bir dakika) solunum yolunda bulunan sıvının yerçekiminin etkisiyle drene olmasını sağlar. Bu süreçte buzağı sallanmamalı, nazikçe sabit bir yüzeye (örneğin kapı ya da annenin sırtı) konulmalıdır. Baş aşağı pozisyonda karındaki organların diyaframa baskı yaparak solunum güçlüğüne yol açabileceği unutulmamalı ve buzağı yakından izlenmelidir. Enjektör veya tüp kullanılarak burun içerisindeki sıvıların aspire edilmesi sağlanabilir. Hipoksinin daha güçlü olduğu durumlarda akciğerin yapay olarak şişirilmesi (resüsitatör cihazı veya entübasyon vb.) gerekebilmektedir (20). Hipoksiye bağlı gerçekleşen asidozis üzerine olumlu etkisi olduğu düşünülen solunum uyarıcıları (doksapram vb.) tercih edilebilmektedir. Bradikardiyi gidermek amacıyla atropin kullanılabilir. İntravenöz epinefrin kardiyak asistoli vakalarında kullanılabilir (1).

Buzağı dünyaya geldiğinde kalp atışı bulunmuyorsa kardiyak resüsitasyonun etkinliği sınırlıdır. Şiddetli bradikardi (kalp atım sayısı <40) veya asistoli durumlarında resüsitasyon derhal uygulanmalıdır. Kardiyak stimülasyon genellikle solunum desteği ile birlikte yürütülmelidir. İntravenöz olarak epinefrin tercih edilebilir. Aynı anda kardiyak kompresyonlar (yaklaşık 100/dk) ve ventilasyon (8–10/dk) başlatılmalıdır. Erken başlanan uygun hızdaki kompresyon ve güvenli hava yolu sağlanması, yeni doğan buzağılarda başarılı kardiyopulmoner resüsitasyonun en temel unsurlarıdır (19).

Göbek kordonunun kendiliğinden yırtılmasından sonra, urakus ve damarlar normalde karın içine doğru çekilir ve böylece çevresel kirlenmeden korunmuş olurlar. Destekli doğumlarda, kordonun hemen kopma eğilimi vardır. Göbek kordonu bakım prosedürünün seçimi buzağılarda yeterince araştırılmamıştır (1). Fakat yine de buzağı doğar doğmaz göbek bakımının yapılması gerekir. Göbek kordonunun tek seferlik iyot tentürü içerisine batırılması kontaminasyonu engellemesi bakımından önemlidir. Fakat

irritasyona ve yara iyileşmesinin gecikmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle daha düşük konsantrasyonlu dezenfektanlar (%2–4 klorheksidin veya %0,1 klor bazlı çözelti vb.) tercih edilmektedir. Yine göbek kordonunun sıkıca ipe bağlanması alternatif olarak uygulanabilir. Hijyenik olmayan şartlarda doğum gerçekleşmişse ve kontaminasyon olasılığı yüksek ise bu yöntem kullanılmamalıdır (20). Buzağı bakımında iyot ve klorheksidin (daldırma veya sprey) gibi topikal antiseptikler, göbek kordonu klempleme veya ligasyonundan daha yaygın olarak kullanılmaktadır (1). Göbek kordonunun çok kısa kopması halinde ise derinin sütüre edilmesi ve gerekirse damarların ligatüre edilmesi gerekebilir. Doğumdan sonraki ikinci haftada göbek kordonunun normal görünümü tamamen kurumuş halde olmalıdır (20). Prenatal dönemde, doğumhane hijyeninin sağlanması, buzağının hijyenik olmayan doğumhanelerde kalma süresinin azaltılması, kaliteli kolostrumun erken dönemde yeterli şekilde alınmasının sağlanması ve göbek kordonu antisepsisine dikkat edilmelidir.

Kolostrum buzağılarda yaşamın ilk saatleri için oldukça kritik bir öneme sahip olan ve besleyici bir gıdadır (20). Pasif bağışıklığın yeterli düzeyde aktarılmasını sağlamak için, yeni doğan buzağılara yaşamlarının ilk dört saati içinde yüksek kalitedeki kolostrum veya kolostrum yerine geçen bir ürün verilmelidir. Pasif bağışıklığın yetersiz transferi buzağı ölümleri üzerine etkilidir (19). Kolostrum, annenin emzirmesi, biberonla beslenme veya sondalar aracılığıyla sağlanabilir (21). Sonda ile besleme stresli olabilir ve yalnızca eğitimli personel tarafından uygulanmalıdır; ancak bazen, yeni doğmuş bir buzağıya (vücut ağırlığının %10'u) kolostrumun tam olarak verilmesi için en uygun yöntemdir. Günümüzde birçok süt işletmesinde biberon ve meme ucu kullanılır; yeterli kolostrum almıyorsa sonda ile beslemeye geçilir. Buzağının kovidan kolostrum içmesi önerilmez (20).

Doğumdan sonra hızlı termoregülasyon, buzağının adaptasyonu ve hayatta kalması için kritik öneme sahiptir. Hipotermik buzağılara (rektal sıcaklık 36,5 °C), elektrikli ısıtma pedleri, sirkülasyonlu su ısıtma pedleri veya kızılötesi ısıtıcılar gibi ısıtma cihazlarının kullanımıyla yardımcı olunmalıdır (19).

6. Sonuç

Prematüre doğum ve/veya asfeksi gibi nedenler başta olmak üzere diğer birçok faktörden dolayı şekillenen perinatal buzağı ölümleri, sığır yetiştiriciliğinin en önemli ekonomik kayıplarından ve verimlilik sorunlarından biridir. Gebeliğin son döneminde uygun besleme yönteminin seçilmesi, gebelik ve doğum sürecinin etkin bir şekilde izlenmesi, uygun obstetrik müdahaleler, zamanında sezaryen uygulamaları, doğum sonrası asit/baz dengesinin takibi ve yeterli kolostrum alımıyla bu kayıplar önemli ölçüde azaltılabilir. Böylece hem sürü sağlığı hem de işletme kârlılığı sürdürülebilir.

7. Kaynaklar

1. Mee JF. Newborn Dairy Calf Management. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*. 2008; 24: 1-17. doi:10.1016/j.cvfa.2007.10.002
2. Szenci O. Role of acid-base disturbances in perinatal mortality of calves: a review. *Veterinary Bulletin*. 2003; 73(7): 7R-14R.
3. Szenci O. Importance of monitoring fetal and neonatal vitality in bovine practices. *Animals*. 2023; 13(6): 1081. doi:10.3390/ani13061081
4. Jawor P, Król D, Mee JF, et al. Infection exposure, detection and causes of death in perinatal mortalities in Polish dairy herds. *Theriogenology*. 2017; 103: 130-136. doi:10.1016/j.theriogenology.2017.07.044
5. Mee J, Sen I, Aytmirza Kizi A, et. al. Risk factors for, and causes of, perinatal calf mortality and implications for calf welfare. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*. 2019; 9(1): 35-41.
6. Laster DB, Gregory KE. Factors influencing peri- and early postnatal calf mortality. *Journal of Animal Science*. 1973; 37(5): 1092-1097.
7. Gundelach Y, Essmeyer K, Teltscher MK, et.al. Risk factors for perinatal mortality in dairy cattle: Cow and foetal factors, calving process. *Theriogenology*. 2009; 71: 901-909. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.10.011
8. Jhonson JM, Berger PJ. Birth weight as a predictor of calving ease and perinatal mortality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2003; 86: 3645-3755. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73981-2
9. McGuirk SM, Kipp R. Critical calf care. In: *American Association of Bovine Practitioners Conference Proceedings*. 10-12 September 2009, Omaha, Nebraska (pp.163-167).
10. Mee JF, Sanchez-Miguel C, Doherty M. An international Delphi study of the causes of death and the criteria used to assign cause of death in bovine perinatal mortality. *Reproduction in Domestic Animals*. 2013; 48: 651-659. doi: 10.1111/rda.12139
11. Umaña Sedó SG, Renaud DL, Molano RA, et. al. Exploring herd-level perinatal calf mortality risk factors in eastern Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*. 2023; 107: 3824-3835. doi:10.3168/jds.2023-23854

- 12.Lombard JE, Garry FB, Tomlinson SM, et. al. Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90: 1751-1760. doi:10.3168/jds.2006-295
- 13.Kasari TR. Weakness in the newborn calf. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*. 1994; 10(1): 167-180.
- 14.Raboisson D, Delor F, Cahuzac E. Perinatal, neonatal, and rearing period mortality of dairy calves and replacement heifers in France. *Journal of Dairy Science*. 2013; 96: 1-12. doi:10.3168/jds.2012-6010
- 15.Mock T, Mee JF, Dettwiler M, et. al. Evaluation of an investigative model in dairy herds with high calf perinatal mortality rates in Switzerland. *Theriogenology*. 2020; 148: 48-59. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.02.039
- 16.Çelik E, Sen I, Guzelbektes H. Konya'nın Akşehir, Ilgın ve Kadınhanı ilçelerinde buzağı perinatal mortalite prevalansı. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*. 2016; 6(2): 22-28.
- 17.Cuttance E, Laven R. Estimation of perinatal mortality in dairy calves: A review. *The Veterinary Journal*. 2019; 252: 105356. doi: 10.1016/j.tvjl.2019.105356
- 18.Ok M, İder M, Kapar MM, et. al. Current approaches to the care and treatment of premature calves. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*. 2021; 6(3): 331-342. doi:10.31797/vetbio
- 19.Chamorro MF, Passler T. Critical Care Management of the Neonate. Hopper RM (ed.) *Bovine Reproduction*. 2nd ed. John Wiley & Sons. 2021. p. 916-923.
- 20.Simões J, Stilwell G. *Calving management and newborn calf care*. Switzerland: Springer. 2021.
- 21.Stull R, Reynolds J. Calf welfare. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2008; 24: 191-203. doi:10.1016/j.cvfa.2007.12.001

BÖLÜM 12

ATLARDA BÜYÜME PLAKLARININ KAPANMA DÖNEMLERİ

Doç. Dr. Başak BOZTOK ÖZGERMEN¹

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.17428735>

¹ Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi ABD, Aksaray, TÜRKİYE
basak1607@gmail.com Orcid ID: 0000-0001-7039-8956

GİRİŞ

Taylarda doğumdan itibaren büyüme süreci hızlı ve dinamiktir. Doğum ağırlığı genellikle yetişkin ağırlığının yaklaşık %10'u kadar olup, safkan taylarda bu değer ortalama 50 kg civarındadır (Pagan et al., 2022). Tayın doğumdaki ağırlığının önemli bir bölümü gebeliğin son 2-3 ayında oluşur, bu aylarda fetüsün enerji ve diğer besinlere ihtiyacı en fazladır. Gebeliğin 10. ayında gelişme hızla devam eder ve Bu dönemde özellikle kalsiyum, fosfor, bakır, çinko ve manganez gibi minerallerin depolanması hızlanır. Dolayısıyla, kısrağın bu dönemdeki beslenme kalitesi doğrudan fetal gelişimi etkileyen kritik bir faktördür (Ott, 1994; Ralston, 2021).

Farklı doku tiplerinin gelişme dönemleri birbirinden farklıdır. Kemik doku gelişimi intrauterin dönemde, gebeliğin sonlarına doğru başlar ve en hızlı büyüme dönemini doğumdan sonraki ilk bir yıl içinde tamamlar. Daha sonra büyüme devam etse de bu dönemdekinden daha yavaştır. Kas dokusu gelişimi genellikle doğumdan 4-8 hafta önce başlarken iki yaşında yavaşlamaya başlar. Yağ dokusu en geç olgunlaşan doku olup doğumdan sonra gelişir ve yaşam boyunca depolanmaya devam eder (Rogers et al., 2021). Hayvanın ırkı ve genetik faktörleri büyüme hızını etkilese de büyüme hızı üzerinde en belirleyici çevresel faktör beslenmedir. Enerji ve protein alımı bir tayın büyüme oranını doğrudan etkiler. Yüksek kaliteli besinlerle ad libitum besleme maksimum büyümeyi desteklerken, yetersiz beslenme gelişme geriliğine yol açar (Martin-Rosset et al., 2020).

Tayların büyüme hızı ilk aylarda çok yüksekken yaş ilerledikçe bu oran giderek düşer. Henüz ideal bir büyüme hızı belirlenmemiştir. Örneğin, üç aylık safkan bir tay günde ortalama 1–1.2 kg ağırlık kazanabilirken, bu oran altı aylıkken 0.65–0.85 kg'a düşmektedir. Bu süreçte bir tay erişkin ağırlığının %46'sına ve erişkin boyunun %84'üne ulaşır. Tayların büyüme hızı ilk aylarda çok yüksekken yaş ilerledikçe bu oran giderek düşer. Henüz ideal bir büyüme hızı belirlenmemiştir. Örneğin, üç aylık safkan bir tay günde ortalama 1–1.2 kg ağırlık kazanabilirken, bu oran altı aylıkken 0.65–0.85 kg'a düşmektedir. Bu süreçte bir tay erişkin ağırlığının %46'sına ve erişkin boyunun %84'üne ulaşır. Bir yaşındaki bir tay ise, erişkin ağırlığının %66'sına ve erişkin boyunun %90'ına ulaşır. Bu tay günlük ortalama 0.5–0.65 kg kilo alır. Bu oran 18. ayda 0.35 kg'a, iki yaşında ise 0.2 kg'a kadar gerileyebilir (Pagan et al., 2022).

Sütten kesme, besin alımı ve büyüme için önemli bir dönemdir. Sütten kesme yaşının erişkin ağırlığı ve yüksekliği üzerinde az bir etkisi bulunmasına rağmen, beslenme gelecekteki gelişim için kritiktir. Eğer taylor sütten kesilmeden yem yemeye alıştırmadılarsa, yeni diyetlerini yeteri kadar almayı reddedebilirler ki bu büyüme oranlarında ani bir düşüşe neden olur. Tay yeni beslenme düzenine alıştıkça bu düşüşü kompanse etmek için bir büyüme atağı geliştirir. Bu hızlı büyüme atakları arzu edilen bir durum değildir; çünkü genellikle gelişimsel ortopedik hastalıklarla (Developmental Orthopaedic Disease- DOD), özellikle fleksiyon deformiteleri ile ilişkilendirilmektedir (van Weeren, 2019). Bu nedenle, büyüme sürecinde taylorın istikrarlı bir şekilde gelişmeleri sağlanmalı, ani büyüme ataklarından kaçınılmalıdır. Veteriner cerrahi açısından, bu dönemdeki büyüme dinamiklerinin izlenmesi, olası gelişimsel bozuklukların erken teşhisi ve önlenmesi açısından önemlidir.

1. Kemik Oluşumu ve Gelişmesi

1.1. Kemiğin Biyolojisi

İskelet, canlı bir sistem olup birçok göreve sahiptir. İskelet hayati önem taşıyan organları korur, hemopoetik ve immün sistem için gerekli olan hücrelerin çoğalmasını sağlayan kemik iliğini içerir. Sağlıklı hayvanlarda böbrekler ve bağırsakların serum kalsiyum seviyelerini koruma görevleriyle karşılaştırıldığında önemsiz olsa da mineral içeriği nedeniyle kalsiyum dengesini korur.

Kemik gelişiminde iki kritik faz vardır. Bunlardan birincisi uterusda kemik dokusu oluşumu sırasında başlar. Kemikleşme merkezleri yetişkinlikteki iskelet kalıbını oluşturacak şekilde pozisyonlanmıştır. Fetus, olgun kemik hücrelerinin kemikleşmiş öncüleri ile doğar. Büyümenin ikinci fazı doğumdan sonraki dönemde hayvan büyüdükçe devam eder. Bu sürede kemikler uzar ve yetişkinlerdeki formları gibi şekil alır. Bu faz hayvanın dış görünüşünü belirler ve fiziksel görünümdeki farklılıkları açıklar. Ancak kemik tamamen olgunlaşsa bile statik değildir. Sürekli; ancak hızı değişen bir yapılanma (modeling) ve yeniden yapılanma (remodeling) hayat boyunca devam eder ve bu iç ve dış faktörlere bağlıdır.

1.2. Kemikğin Temel Anatomisi

Anatomik olarak kemikler iki gruba ayırır: uzun kemikler ve yassı kemikler. Bu sınıflandırma kemiklerin yalnızca dış görünüşleriyle yapılmıştır. Uzun kemikler kendi içinde iki gruba ayrılır: kısa kemikler ve şekilsiz kemikler. Daha sonra kafatası kemikleri ve ekstremitte kemiklerinin farklı embriyonik dokulardan köken aldığı ortaya çıkmasıyla uzun ve yassı kemiklerin farklı süreçlerden geçerek geliştiği anlaşılmıştır. 1980'lerde bu klasik görüş sorgulanmaya başlanmıştır. Farklı embriyolojik kökenlerine rağmen vücuttaki kemikler benzer süreçlerden geçerek büyür ve bunun organizasyon ve iyileşme süreçlerinde büyük önemi vardır.

Uzun kemikler diyafiz, metafiz ve epifiz olmak üzere üç bölümden oluşur. Diyafiz, medüller boşluğu içeren kompakt kemikten oluşur; epifiz ise spongiyöz kemik içerir. Büyüme plakları metafiz ile epifiz arasında yer alır ve uzunlamasına büyümeyi sağlar (Siffert, 1966; Bjornsdottir, 2007).

1.3. Kemik Dokunun Hücreleri

Kemik dokuda dört tip hücre ayırt edilir: Osteoprogenitör hücreler, Osteoblastlar, Osteositler, Osteoklastlar.

Osteoprogenitör hücreler: Mezenkimal kökenlidir ve osteoblasta farklılaşabilir.

Osteoblastlar: Kemik matriksini sentezler, ALP aktivitesi ile kalsifikasyonu destekler.

Osteositler: Olgun kemik hücreleridir, kalsiyum dengesinde rol alır.

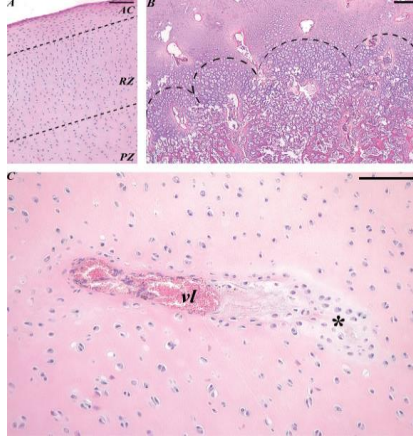
Osteoklastlar: Çok çekirdekli dev hücreler olup kemik rezorpsiyonunu sağlar.

1.4. Kemik Histogenezi (Kemik Oluşumu)

Kemikleşme iki tiptir: İntramembranöz ve endokondral. İntramembranöz ossifikasyon, bağ dokusundan doğrudan kemikleşmesi ile karakterizedir (örn. kafatası kemikleri). Endokondral ossifikasyonda ise önce kıkırdak iskelet oluşur, sonra bu yapı kemikleşir. Uzun kemikler bu yolla gelişir. İlk oluşan primer kemik örgülü yapıdadır ve zamanla yerini olgun lameller yapıya bırakır (Zhao et al., 2021).

Uzun kemiklerin boyuna uzaması, kıkırdak hücrelerindeki farklılaşmalar sonucu oluşur (Şekil 1). Kıkırdak doku şu bölgelere ayrılmaktadır: Dinlenme

bölgesi, proliferasyon bölgesi, hipertrofi bölgesi, kalsifikasyon bölgesi, ossifikasyon bölgesi (van Weeren, 2019).



Şekil 1: Normal epifizer büyüme kıkırdağı ve kondrifikasyonu. Tüm bölgeler hematoxilen eozin ile boyanmıştır. Görüntülerdeki büyüme çizgisi yaklaşık olarak 1mm'dir.

A) 0 günlük safkan tayda süperfisiyal dinlenme bölgesi (RZ), eklem kıkırdağı (AC), proliferasyon bölgesi (PZ).

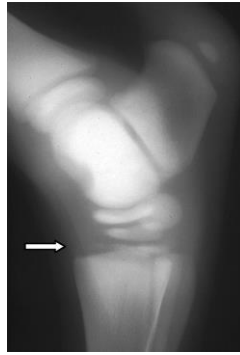
B) Hipertrofi bölgesine ait hücreler vasküler yapıların etrafında sirküler tarzda yerleşmiştir, 0 günlük, erkek, sıcakkanlı, binek atı.

C) 10 günlük tayda dinlenme bölgesindeki kıkırdaklaşma. Görüntünün sol tarafında kanal hipersellüler bölge ve kan damarları görülmektedir (damar lümeni- VL) (Bramlage ve Auer, 2006)

1.5. Kemiğin Büyümesi

Primordial ya da prekürsör kıkırdaktan kemiğe, iskeletin olgunlaşması çok karışık bir süreçtir ve gebeliğin son dönemlerinde olur. Gebeliğin 230. gününde abort olmuş fetüslerde karpal ve tarsal bölgelerin radyografisinde uzun kemiklerin ve kalkaneusun diyafiz ve metafizde kısmi kemikleşme görülmüştür. Diğer kemikler bu dönemde kemikleşmemiştir. Örneğin, yalnızca prekürsör kıkırdaktan oluşmalarına rağmen, kontrast maddelerin intraartiküler enjeksiyonları kemik modellerinin normal şekillerini ana hatlarıyla belirler. Bu yapıların kemikleşmesi merkezden başlar ve periferde ışınal tarzda her yöne yayılır. Gebeliğin yaklaşık 260. gününde distal radial epifizde, distal tibial

epifizde, talusta ve aksesuar karpal kemikte kemikleşme merkezleri fark edilir. Daha sonra, intermediyer, radial ve 3. karpal kemikler ve sentral, üçüncü ve dördüncü tarsal kemiklerdeki kemikleşme merkezleri gelişir. Yaklaşık 290. günde 3. metakarpal, 3. metatarsal (McIII/MtIII) kemiklerin proksimal epifizleri belirir ve kısa süre içinde bu kemiklerin metafizleriyle birleşirler (Şekil 2) (Bjornsdottir, 2007; Bramlage ve Auer, 2006).



Şekil 2: 290 günlük fetüste tarsal bölgenin lateromedial radyografik görüntüsü. Üçüncü ve sentral tarsal kemikler rudimenter olarak kemikleşmiş ve MtIII proksimal epifizi kemiğin geri kalanıyla henüz birleşmemiş (ok) (Bramlage ve Auer, 2006)

Gebeliğin 300. günlerinde karpal ve tarsal kemiklerin hepsi radyografik olarak görülebilir. Ancak, en geç görülen kemikleşme merkezi olan ulnar proses styloideus bu zamanda görülmez. Gebeliğin geri kalan günlerinde kemikleşme periferde doğru ilerler ve kemikler son şekillerini alırlar. Doğumda, bu kemiklerin uçları yuvarlaklaşmıştır; ancak “radyografik eklem aralıkları” normal sınırlar içerisinde. Bu aralıklar, eklem boşluğuna ek olarak iki kat kıkırdaktan oluşmaktadır. Uzun kemiklerin boyuna büyümesi büyük oranda fizisin metafiziyal bölgesinde oluşur. Kemik büyümesi kıkırdak oluşumuyla başlar, bu zamanla dejenerasyona uğrar, kalsifiye olur ve rezorbe olarak yerini trabeküler kemiğe bırakır (Bramlage ve Auer, 2006).

2. Büyüme Plakları

2.1. Büyüme Plakları ve Eklem Kıkırdağının Gelişmesi

Fetüste uzun kemiğin kıkırdak modelinin ortasında primer ossifikasyon merkezi olduğu zaman, perikondrium, kıkırdak modelini çevreleyen bağ doku, diyafizin orta bölümünün etrafında örgülü kemik adı verilen bir yapı

oluşmaya başlar. Kortikal halkanın içinde endokondriyal kemikleşme ile oluşan kemik, trabeküler üç boyutlu bir ağ yaratmıştır ve aralarında kemik iliğiyle dolu boşluklar vardır. Perikondriyal kemik, fetüsün ilk kompakt kemiğidir ve değişik bir görünüme sahiptir. Evcil hayvanlarda ve insanda bu kemik, çevresel lamellalar ve çok sayıda çevresel ve ışınsal vasküler kanallara sahiptir. Fetüs büyüdükçe; orta kısımdaki trabeküler ağ ve süngerimsi kemik hızlıca rezorbe olur ve ikinci jenerasyon trabeküler kemik yerini alır.

Doğumda orta kısımdaki trabeküler kemik tamamen rezorbe olmuştur ve bunun yerini kemik iliği almıştır. İliğin her ucunda süngerimsi kemik bulunmaktadır, buna metafiz adı verilir. Metafizin periferinde hayatın erken dönemlerinde kıkırdagımsı olan epifiz yer almaktadır. Metafiz ve epifizin arasında büyüme plakları yer alır.

Çoğu kemikte iki metafiz vardır; ancak metakarpal, metatarsal ve falankslarda yalnızca bir epifiz bulunmaktadır, bu nedenle yalnızca bir metafizer büyüme plağı vardır.

Metafizler büyüme plakları ünipolardır; yani büyüme yalnızca bir yöne doğru gerçekleşmektedir. Bu, ekstremitelerin proksimal ve distallerinde, vertebraların kraniyalleri ya da kaudallerinde görülür. Olekranon, prosessus ankoneus, krsta iliaka gibi çıkıntılı bölgelerde de büyüme plakları ünipolardır. Pelvisteki üç kemik (ilium, pubis, ischium) üç ışınlı şekilli büyüme plağı sayesinde beraber asetabulumu oluşturur. Bu büyüme plağında dördüncü kemik, Y şeklindeki asetabulum kemiğidir, böylece bipolar üç ışınlı büyüme plağını iki ünipolar büyüme plağına dönüştürür. Daha sonra dört kemik birleşir.

Doğumdan sonraki belirli zamanlarda epifizde sekonder kemikleşme merkezleri oluşur. Bunlar primer kemikleşme merkezlerine benzer şekilde oluşurlar: kondrositlerin hipertrofisi ile başlar, longitudinal septal matrikste kalsifikasyonla devam eder, damarların invazyonu, parsiyel rezorpsiyon ve bunu izleyen kemikleşme ile sonuçlanır. Evcil hayvanların çoğunda ve insanda, kıkırdak modelindeki vasküler kanallar sayesinde epifizde kalsifiye olmuş kıkırdakın hızlıca kemikleştiği olduğu görülür. Bu vasküler kanallar kalsifikasyonun başlangıcı ile kemikleşme arasındaki sürenin çok kısa olduğunu belirtmektedir. Kalsifikasyon ve kemikleşme arasındaki yakın ilişki nedeniyle, epifizde ve büyüme plağında, kıkırdak kalsifikasyonunda meydana gelen biyokimyasal süreci kemikleşmeden ayırmak güçtür (Zhao et al., 2021).

Türlere bağlı olarak, değişik zamanlarda, kemikleşme öyle bir noktaya gelir ki uzun kemiklerde kalan tek kıkırdak yapılar: metafizer büyüme plakları ve olgunlaşmamış eklem kıkırdağıdır.

2.2. Metafizer Büyüme Plağı ve Olgunlaşmamış Eklem Kıkırdağının Histolojisi ve Fonksiyonu

Metafizer büyüme plağının kıkırdağı oldukça özelleşmiştir. Kondrositler ayrı longitudinal sütunlar şeklinde dizilmişlerdir. Büyüme plaklarında birbirinden farklı alanlar bulunur ve bu alanlar kondrositlerin morfolojilerindeki değişikliklerle ve ekstraselüler matriksin birleşimiyle karakterizedir. Epifize en yakın olan bu alana dinlenme hücrelerinin bölgesi adı verilir. Bu bölge aynı zamanda germinatif hücrelerin alanı olarak da kullanılmaktadır ki bu hücreler doğumdan sonraki büyümeyi başlatan mitotik bölünmeden sorumludur. Dinlenme hücrelerinden sonra proliferasyon hücreleri gelir. Sütunların uzamasını sağlayan küçük düzleşmiş kondrositlerle karakterizedir.

Proliferasyon bölgesinin yanında olgunlaşma hücreleri yer alır. Bu hücreler daha büyük olup bölünmeyi durdurmuşlardır. Metafize en yakın yerde, hipertrofik vaküollü hücreler bölgesi vardır, hücreler büyük ve vaküollüdür. Hipertrofik kondrositler, geçici kalsifikasyon geçiren özgül matriksi oluşturan canlı hücrelerdir.

2.3. Büyüme Plaklarının Vaskülarizasyonu

Uzun kemiklerdeki büyüme plakları ve epifiz bölgesindeki dolaşım üç farklı vasküler sistem tarafından sağlanmaktadır: epifizer, metafizer ve perikondral arterler. Metafizer damarların %80'i nütrisyonel arterden köken alır. Bu arter ağaç dalları tarzında çok sayıda majör kollara ve birçok küçük arter ve kapillere ayrılır. Epifizer arter ağı, epifize birçok yönden giriş yapan epifizer arterlerle beslenir. Perikondriyal damarlar, metafiziyal ve epifizer arterlerle anastomoz yaparak, büyüme plağını sirküler tarzda dışarıdan sarar (Lepeule et al., 2008).

Epifizer damar ağı, büyüme plağının eklem yüzüne kan taşımaktadır ve bu damar ağı bir operasyon ya da enfeksiyon sırasında kolayca zedelenebilir ve yakındaki büyüme plağında büyümenin yavaşlamasına neden olabilir. Epifizer damar ağı periostal damarlarla ilişki içindedir, bu nedenle, periosta gelecek bir

zarar bu damarları etkileyebilir. Bu damarların ne kadar kolay zarar görebileceği her zaman akılda tutulmalıdır.

3. Büyüme Plaklarının Kapanma Dönemleri

Atlarda, kemiğin sağlamlığını tam olarak kazanması çok önemlidir. Hızlı bir tempoda çalıştırılan atlarda, kemik dokusundaki olgunlaşma derecesine göre yaralanmaların azalıp, çoğalabileceği bildirilmiştir. Gelişimini henüz tamamlamamış olan tayların ağır antrenmana alınması birçok kemik ve eklem hastalıklarının yanı sıra gelişimsel ortopedik bozukluklara da neden olmaktadır (Anteplioglu, 1984).

Distal radius ve tuber kalkaneustaki büyüme plakları safkan yarış atlarında iskelet olgunluğunun indikatörleridir (Strand et al., 2007). Büyüme plaklarının radyografik kapanması iskelet olgunluğunun göstergesidir. Radyolüsent çizginin kaybolması ve difüz opasite kapanmanın tamamlandığını gösterir (Bjornsdottir, 2007).

Skapula'da dört ya da beş adet kemikleşme merkezi bulunur. 1. gövde ve spina skapula için esas merkezdir, 2. tuber skapula ve processus coracoideustadır, 3. eklem aralığı (kavitas glenoidalis) için distal epifizler merkezdir, 4. tuber spina ve kavitas glenoidalis'in kraniyalı için merkezdir. Kıkırdak modelindeki proksimal sınır skapular kıkırdak olarak kalır, yaş ilerledikçe parsiyel olarak kemikleşir. Tuber skapula gövdeyle 3 yaş civarında birleşirken tuber spina daha sonra birleşir.

Humerus'ta altı adet kemikleşme merkezi bulunur. 1. diyafizdedir, 2. kaput ve medial tuberositasta, 3. lateral tuberositasta, 4. distal epifizde (condylus), 5. epikondilus lateralis ve medialiste, 6. tuberositas deltoidea'dadır. 3-3,5 yaşında kapanır.

Radius'ta üç adet kemikleşme merkezi bulunur, bu merkezler: Proksimal ve distal epifizler ve diyafizdir (Şekil 3). Radiusun distal epifiz 2-2,5 yaş civarına kapanırken, proksimal 16-20 ayda kapanır (Bjornsdottir, 2007).

Ulna'da üç adet kemikleşme merkezi bulunur: Olekranon, gövde ve distal uç. Embriyonik kartilaginöz ulna, radius kadar uzar; ancak distal kısım kaybolabilir ya da bir bölümü ossifiye olabilir. Bu distal uç, radiusla doğumdan önce birleşmiştir.

Karpus'ta her kemik için bir kemikleşme merkezi bulunur. Genel olarak 1,5- 2,5 yaşta kapanır.



Şekil 3: 26.7 aylık tayıda gelişmekte olan büyüme plağı örneğı. Distal radiustaki büyüme plağı “büyümekte olan plak” olarak sınıflandırılmıştır. Radyolüsent çizgi kesintili şekilde mevcuttur ve difüz opasiteyle çevrelenmiştir (Bjornsdottir, 2007)

Metakarpusta iki adet kemikleşme merkezi bulunur: Diyafiz ve distal epifiz. Distal uç doğumda kartilaginözdür ve kemikleşme merkezi 3 aylık oluncaya kadar ortaya çıkmaz. Metakarpusun diyafiziyle 2 yaşına girerken birleşir.

Falanks 1’de üç adet kemikleşme merkezi bulunur: Diyafiz, proksimal ve distal epifiz.

Falanks 2’de üç adet kemikleşme merkezi bulunur. Falanks 1 ile aynıdır. Proksimal epifiz, Falanks 1’den biraz daha erken kapanır.

Falanks 3’te bir adet kemikleşme merkezi bulunur. Kemiğın proksimal kısmı halen kartilaginözken, kalın perikondrial kısım tırnakla ilişkilidir (Şekil 4).

Artikulasıyo koksı’da epifiz hattı, kollum femoris ve pelvisin içinde görölmektedir. Trohanter major ve minorun genç tıylarda kemikleşme merkezleri açık şekilde görölmektedir.

Femur’da 4 ya da 5 adet kemikleşme merkezi bulunur, bunlar: Diyafiz, kaput, trohanter major ve minor, distal epifiz ve trohanter tertius’tur. Femurun distal epifizi 2- 2.5 yaş civarında kapanır.



Şekil 4: Tamamen kapalı büyüme plaklarına örnek.

A) 22.8 aylık tayda Proksimal 2. falanks, proksimal 1. falanks ve distal metacarpusta tamamen kapalı büyüme plakları.

B) 50.8 aylık tayda Proksimal radius ve distal humerusta tamamen kapalı büyüme plakları. Herhangi bir radyolüsent alanın olmaması ve önceki büyüme plağı bölgesinde difüz opasite dikkat çekmektedir (Bjornsdottir, 2007)

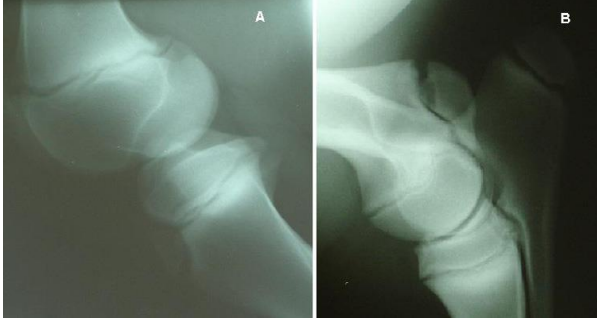
Artikulasyo genu'da epifiz hatları, Femur'un distalinde krista tibialis ve Tibia'nın proksimalinde bulunmaktadır. Yavru doğduğunda patellanın çok az bir kısmında kemikleşme oluşmuştur, ancak yaş ilerledikçe bu kemikleşme artmaktadır. Tay bir yaşına erişince, tibianın proksimal merkezinin kemikleşme hattı, krista tibialis ile birleşmektedir. Tay 2- 3,5 yaşlarına eriştiğinde iki merkezin kombine olarak kemikleşme tibianın diyafizi ile birleşmektedir (Tablo 1).

Tablo 1: Ekstremitelerdeki büyüme plaklarının radyografik kapanma dönemleri (Bjornsdottir, 2007)

Ön Ekstremit	Kapanma dönemi
1. Falanks (Proksimal)	6-9 ay
2. Falanks (Proksimal)	6-9 ay
Metakarpus 3 (Distal)	8-12 ay
Radius (Distal)	2-2,5 yaş

Radius (Proksimal)	16-20 ay
Ulna (Proksimal)	2-3 yaş
Ulna (Distal)	6-9 ay
Humerus (Distal)	16-20 ay
Humerus (Proksimal)	18 ay- 2,5 yaş
Humerus (Lateral Tuberositas)	2-3 yaş
Humerus (Mediyal Epikondilus-Distal Epifiz)	6-12 ay
Arka Ekstremité	Kapanma dönemi
1. Falanks (Proksimal)	6-9 ay
2. Falanks (Proksimal)	6-9 ay
Metatarsus 3 (Distal)	9-12 ay
Tibia (Distal)	17 ay-2 yaş
Tibia (Proksimal)	2-2,5 yaş
Fibula (Distal-Tibia)	2-2,5 yaş
Kalkaneus	Doğum- 7 ay
Femur (Distal)	2-2,5 yaş
İlium-Pubis-İşium	10-12 ay

Tibia'da dört adet kemikleşme merkezi bulunur. Bunlar: Diyafiz, proksimal ve distal epifizler ve tuberositas tibia'dır (Şekil 5). Tibia'nın distal epifiz 17 ay- 2 yaş, proksimal epifiz ise 2- 2,5 yaş civarında kapanır.



Şekil 5: Tamamen açık büyüme plaklarına örnek.

A) Proksimal tibia, tuberositas tibia ve distal femur, 46 günlük tayda.

B) Tuber olecrani, proksimal radius ve distal humerus, 4 aylık tayda (Bjornsdottir, 2007).

Fibula'da üç adet kemikleşme merkezi bulunur. Fibula, ulnaya benzemektedir. Kartilaginöz modelde (3,2 mm'lik embriyo) tamamen gelişmiştir. Distal fibular epifiz 7,4 cm'lik embriyoda, gerileyen diyafizer kısımdan ayrılır ve bağ dokuyla tibiaya eklenir (15,5 cm'lik embriyo). Doğumda, fibulanın diyafizi kemikleşmiştir, ancak proksimal ve distal epifizler doğumdan sonra kemikleşir. Distal epifiz (tibianın lateral malleusu) doğumda ayrı olup, 2 yaşına gelince tibiayla tamamen birleşir.

Tarsus'ta her kemik için bir adet merkez bulunmaktadır. Talus, iki merkeze sahiptir. Bunlardan birincisi esas kemikte, diğeri ise tuber kalkaneus'ta bulunur ve doğumdan kısa süre önce veya sonra ortaya çıkar, 3 yaşındayken birleşir. Metatarsus ve arka falankslardaki durum, metakarpus ve ön falankslarla aynıdır. Patella ve diğer susam kemiklerinin her birinde bir kemikleşme merkezi bulunur ve genellikle doğumdan sonra ortaya çıkar (Zhao et al., 2021).

KAYNAKÇA

- Anteplioglu, H. (1984). Safkan Arap taylarının ön bacak kemiklerinde epifizlerin kaynaşma zamanı üzerinde incelemeler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 31(01).
- Bjornsdottir, S. (2007). Radiographic closure time of appendicular growth plates in the Icelandic horse. *Pferdeheilkunde*.
- Bramlage, L. R., Auer, J. A. (2006). Diagnosis, assessment, and treatment strategies for angular limb deformities in the foal. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 5(4), 259-269.
- Lepeule, J., Bareille, N., Valette, J. P., Seegers, H., Jacquet, S., Denoix, J. M., & Robert, C. (2008). Developmental orthopaedic disease in limbs of foals: between-breed variations in the prevalence, location and severity at weaning. *Animal*, 2(2), 284–291. <https://doi.org/10.1017/S1751731107001024>
- Martin-Rosset, W., Andueza, D., & Vermorel, M. (2020). Comparison of three systems for predicting the digestible energy value of natural grassland and lucerne hays for horses. *animal*, 14(7), 1413-1421.
- Ott, E.A. (1994). Nutrition of the pregnant mare and growth of the foal. *Journal of Equine Veterinary Science*, 14(9), 490–495.
- Pagan, J. D., Hauss, A. A., Pagan, E. C., Simons, J. L., & Walldridge, B. M. (2022). Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation increases levels in red blood cells and reduces the prevalence and severity of squamous gastric ulcers in exercised Thoroughbreds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 260(S3), S121-S128.
- Ralston, S. (2021). Nutritional requirements of horses and other equids. *Dostupno na: <https://www.msdsvetmanual.com/management-andnutrition/nutrition-horses/nutritional-requirements-of-horses-and-other-equids>*.
- Rogers, C. W., Gee, E. K., & Dittmer, K. E. (2021). Growth and bone development in the horse: when is a horse skeletally mature?. *Animals*, 11(12), 3402.
- Siffert RS. The growth plate and its affections. *J Bone Joint Surg Am*. 1966 Apr;48(3):546-63.

- Strand, E., Braathen, L. C., Hellsten, M. C., Huse-Olsen, L., & Bjornsdottir, S. (2007). Radiographic closure time of appendicular growth plates in the Icelandic horse. *Acta veterinaria Scandinavica*, 49(1), 19. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-19>
- van Weeren P.R. (2019). Osteochondritis Dissecans. Editor(s): Jörg A. Auer, John A. Stick, Jan M. Kümmerle, Timo Prange. Equine Surgery (Fifth Edition). W.B. Saunders, 1509-1528, ISBN 9780323484206.
- Zhao, J., Kirillova, A., Kelly, C. N., Xu, H., Koshut, W. J., Yang, F., ... & Wiley, B. J. (2021). High-Strength Hydrogel Attachment through Nanofibrous Reinforcement. *Advanced Healthcare Materials*, 10(4), 2001119.



ISBN: 978-625-378-352-5