Veteriner Hekimlikte Güncel Değerlendirmeler

Editörler

Doç. Dr. Akın KIRBAŞ

Doç. Dr. Hakan AYDIN

LIVRE DE LYON

Lyon 2022

Veteriner Hekimlikte Güncel Değerlendirmeler

Editörler

Doç. Dr. Akın KIRBAŞ

Doç. Dr. Hakan AYDIN

LIVRE DE LYON

Lyon 2022

Veteriner Hekimlikte Güncel Değerlendirmeler

Editor •. Doç. Dr. Akın KIRBAŞ • Orcid: 0000-0001-9159-3240
Doç. Dr. Hakan AYDIN • Orcid: 0000-0003-2200-1744
Cover Design • Motion Graphics
Book Layout • Mirajul Kayal
First Published • December 2022, Lyon

ISBN:

copyright © 2022 by Livre de Lyon
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without prior written permission from the Publisher.

Publisher • Livre de Lyon
Address • 37 rue marietton, 69009, Lyon France
website • http://www.livredelyon.com
e-mail • livredelyon@gmail.com



ÖNSÖZ

Veteriner Hekimlik dünyanın en eski mesleklerinden birisidir. Yalnızca hayvan sağlığı ile değil aynı zamanda hayvansal gıdaların uygun şekilde insan tüketimine sunulması ve dolayısıyla halk sağlığı ile doğrudan ilişkili bir meslek grubudur. Sağlıklı insan, sağlıklı hayvan ve sağlıklı bir dünya için çalışan veteriner hekimlik mesleği etik değerlere bağlı bilimsel yaklaşımlarla sağlık alanında hizmet sunmaktadır. Veteriner hekimlik mesleği, fizyolojik, metabolik ve anatomik olarak farklı birçok hayvan türü ile ilgilenmektedir. Bu türler arasında kanatlılar, memeliler, sürüngenler, sıcakkanlılar, soğukkanlılar, kara hayvanları, deniz hayvanları gibi çok geniş bir alanda hizmet vermektedir. Bu canlıların her birinin sağlıklı yaşam alanlarının oluşturulması ekosistem içerisinde önemli yer tutmaktadır. Günümüzde ekonomik değeri olan sığır, koyun, keçi, tavuk gibi evcil hayvanların yanı sıra kedi ve köpek gibi evcil dostlarımız da insan hayatında büyük bir yeri kaplamaktadır. Artık birçok evde kedi ve köpeklerle birlikte yaşanıyor olması, onların ihtiyacı olan yaşam standartlarının da sağlanması koşulunu beraberinde getirmektedir.

"Veteriner Hekimlikte Güncel Değerlendirmeler" isimli bu kitabımızda, alanında uzman hekimler tarafından derlenmiş özgün bilimsel konular ve yaklaşımlar ile okuyucularına ışık tutacaktır.

Mesleki saygılarımızla

Doç. Dr. Akın KIRBAŞ
Doç. Dr. Hakan AYDIN

İÇİNDEKİLER

	ÖN SÖZ	I
BÖLÜM I.	ENDOKRİNOLOJİ ÇALIŞMALARINDA STEREOTAKSİK CERRAHİNİN KULLANIM ALANLARI ***Fehmi Deniz TAŞCI, Hale Ergin EĞRİTAĞ & Deniz KARAKÇI***	1
BÖLÜM II.	SIĞIR YETİŞTİRİCİLİĞİNDE SAĞIM SİSTEMLERİ ***Serdar GÜLER & Mahmut Şamil ŞAMLI***	15
BÖLÜM III.	KEDİ VE KÖPEKLERİN D VİTAMİNİ METABOLİZMASI, EKSİKLİĞİ VE İHTİYACI ***Reyda KIYICI & Hasan Altan AKKAN Mehmet KARACA & Bayram Kudret KARAAYVAZ***	35
BÖLÜM IV.	BUZAĞI KAYIPLARININ NEDENLERİ ***Murat GENÇ***	65
BÖLÜM V.	USUTU VİRUS VE DÜNYA'DAKİ DAĞILIMI ***Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN***	83
BÖLÜM VI.	İNTRA-ABDOMİNAL ADEZYONLARIN FİZYOPATOLOJİSİ VE ÖNLEME YOLLARI ***Nevzat Emre ASLAN & Hanifi EROL***	117
BÖLÜM VII.	PROGENY TEST VE DAMIZLIK BOĞA SEÇİMİ ***Serkan Ali AKARSU & Recep Hakkı KOCA***	127
BÖLÜM VIII.	KÜÇÜK RUMİNANTLARDA BAZI İZ ELEMENTLERİN FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ ***Yavuz MUSABEŞEOĞLU & İbrahim TAŞAL***	139
BÖLÜM IX.	VETERİNER HEKİMLİKTE NANOTEKNOLOJİNİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI ***Tünay KARAN***	163
BÖLÜM X.	KÖPEKLERDE ÖSTRUSUN TESPİTİ, UYARILMASI VE BASKILANMASI ***Tutku Can ACISU***	175

BÖLÜM XI. KEDİ VE KÖPEKLERDE SEZARYEN OPERASYONU 193
Damla Tuğçe OKUR

BÖLÜM XII. KANABİNOİDLERİN OTOFAJİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ 207
İmran GARİP

BÖLÜM XIII. SU ÜRÜNLERİNDE FİTOTERAPİ UYGULAMALARI 229
Azime KÜÇÜKGÜL& Altuğ KÜÇÜKGÜL

BÖLÜM I

ENDOKRİNOLOJİ ÇALIŞMALARINDA STEREOTAKSİK CERRAHİNİN KULLANIM ALANLARI

Usage Areas of Stereotaxic Surgery in Endocrinology Studies

Fehmi Deniz TAŞCI[1], Hale Ergin EĞRİTAĞ[2] & Deniz KARAKÇI[3]

[1] Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Veteriner Biyokimya AD,
e-mail: de_ztasci@hotmail.com ,
ORCID:0000-0002-9520-6735

[2](Dr. Öğr. Üyesi), Burdur Mehmet
Akif Ersoy Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD,
e-mail: vh.haleergin@gmail.com,
ORCID:0000-0003-4240-4698

[3](Dr. Öğr. Üyesi), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD,
e-mail: dkarakci@nku.edu.tr,
ORCID:0000-0002-1884-1874

1. Giriş

Endokrinoloji, hormonların normal üretimini ve işlevlerini ve bozukluklarını inceleyen biyoloji ve tıp dalıdır (1). Endokrinoloji biliminin başlangıç tarihi olarak, Ernst Starling'in ilk kez 'hormon'

kelimesini kullandığı 1905 yılı kabul edilmektedir (2). William Bayliss ile birlikte duodenuma verilen asidin veya dolaşıma enjekte edilen duodenal ekstraktın pankreasın salgılanmaya başlamasına neden olduğunu göstermiştir. Salgıya neden olan maddeye 'sekretin' adı verilmiş olup bu şekilde hareket eden bir madde için hormon terimi türetilmiştir. O tarihten itibaren bu tanım, özellikle endokrin organları veya bezleri tarafından salgılanan, aynı zamanda vücudun diğer organları tarafından endokrin (dolaşım yoluyla), parakrin (aynı organ içinde komşu hücrelerde), otokrin (aynı hücrede sentez ve etki) düzenleyici işlevler gerçekleştiren karmaşık bir kimyasal moleküller ağına dönüşmüştür (1).

2. Hormonlar ve İşlevleri

Hormon, bir endokrin bezi (örneğin tiroid) tarafından üretilen, kan dolaşımına salgılanan ve vücudun diğer bölgelerine taşınan ve orada belirli bir reseptör protein tarafından tanınan bir moleküldür (3). Hormonun reseptörle ilişkisi, hedef organda hormonun biyolojik etkisi olan fonksiyonel bir değişikliği indükler. Bu eylemler, organizmanın normal fonksiyonel dengesini, yani homeostazı korur. Hormon salgılanmasında veya eyleminde normalden sapmalar, hormonal veya endokrin hastalıkların ana nedenleridir (1). Hormon, bir endokrin hücre tarafından üretilen ve dolaşım sistemi tarafından hedef uzak organlara taşınan bir sinyal molekülü olarak tanımlanırken bir nöropeptid ise, nöronlar tarafından üretilen, düzenli bir şekilde salınan ve nöronlar, glial hücreler veya nöronal olmayan hedef hücreler üzerinde hareket eden küçük proteinli bir madde olarak tanımlanmaktadır (3). Hormonun etki prensibi, hormon ve hormonun etki ettiği organ, doku veya hücrede bulunan bir protein reseptörü olmak üzere iki molekülü içerir. Reseptör, hormonu spesifik olarak tanır ve bağlar, böylece hormon etkisinin hedefinde arzu edilen bir fonksiyonel değişikliği indükler. Hormonlar, yapısal olarak birkaç kategoriye aittir. Bunlar, peptitler (kısa amino asit zincirleri), proteinler (uzun amino asit zincirleri), steroidler (kolesterol türevleri), yağ asidi türevleri (eikosanoidler) veya tek amino asitlerin türevleridir (örneğin tiroksin). Yapılarına bağlı olarak hücre zarını geçirebilirler (örneğin steroidler), bu durumda reseptörleri hücre içinde bulunur. Hormon, hücre zarına nüfuz edemiyorsa, reseptörleri hücre zarında bulunur (1).

Hormonlar ve salgılandığı merkezler incelendiğinde, beyin dokusunun endokrin mekanizmada önemli bir yeri olduğu görülmektedir. Özellikle, beynin hipotalamus ve hipofiz alanları endokrin faaliyet gösterir ve organizmada endokrin mekanizmanın merkezi konumunda yer almaktadır (4).

Hipotalamus, homeostatik, tehdit ve üreme sinyallerinin entegrasyonunun önemli bir merkezini temsil eder. Birincisi, hormonlar ve nöropeptitler tarafından iletilen iç sinyalleri algılayan bir iç duyu organı gibi davranır. İkincisi, hipotalamus, sürekli olarak tespit edilen dahili sinyaller arasında "değer verir" ve en yüksek öncelikli homeostatik veya üreme odaklı yanıtın ortaya çıkarılmasında karar verici bir rol oynar (5).

Ghrelin, leptin, insülin, melanosit uyarıcı hormonlar (α-MSH, β-MSH ve γ- MSH), nöropeptid Y, agutijenle ilişkili protein (AgRP), nörotensin, melanin konsantre edici hormon (MCH), oreksin ve galanin gibi çeşitli hormonlar ve nöropeptidler, gıda odaklı davranışı modüle etmek için hipotalamusa entegre olan oreksijenik veya anorektik sinyaller sağlamaktadırlar. Bu sinyal çeşitliliği, iç metabolik ortamın ve daha spesifik olarak enerji homeostazının kapsamlı bir şekilde kontrol edilmesini sağlar (6,7).

Biyolojik sinyaller olarak adlandırılan hormon ve nöropeptidlerden bazıları, özellikle ghrelin, leptin ve insülin, kan dolaşımına salınır ve median eminense yakınlığı yoluyla hipotalamik arkuat nükleusa (ARC) ulaşır (5).

Median eminens, hipotalamik nöronların hipofiz portal dolaşımı yoluyla hipofiz ile bağlantısını sağlayarak nöroendokrin sistemde önemli bir rol oynayan, pencereli kılcal damarlara ve tanisit adı verilen modifiye glial hücrelere sahip sirkumventriküler bir organdır. Hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinden (PV) gelen sinir terminalleri, hipotalamo-hipofiz adrenokortikal eksenin ilk stres yanıtının bir parçası olarak medyan eminens içinde kortikotropin salma faktörünü (CRF) serbest bırakır. CRF daha sonra ön ve orta hipofiz loblarına gider ve melanokortinler adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve α-, β- ve γ-MSH'yi içeren proopiomelanokortin (POMC) türevli peptitlerin ve endojen opioid β endorfin sentezini ve sistemik salınımını destekler. Bu nedenle medyan emens, merkezi ve periferik kaynaklı hormonlar için iki yönlü bir kapı görevi görür (5).

Özetle hipotalamus, releazing hormonlar ya da release inhibiting hormonlar olarak isimlendirilen ve nöyrosekretorik hücrelerin aktivasyonuyla hipofiz ön lobunlan hormonların salınımını kontrol eden regülatorik fonksiyonlu polipeptidlerin salınımını gerçekleştirir (4).

Beynin hipofiz bölgesi de endokrin faaliyet göstermektedir. Hipofizin ön (adenohipofiz) lobundan, Melanotropin, kortikotropin ve lipotropin (peptit), Somatotropin (büyüme hormonu), prolaktin, Tirotropin (TSH), follitropin (FSH), luteotropin (LH) salgılanmaktadır. Hipofizin arka lobundan ise (Nörohipofiz hormonları) oksitosin, vazopressin (ADH) salgılanmaktadır (4). Beynin hipotalamus ve hipofiz bölgeleri endokrin bir bez görevini görse de beynin endokrin sistem üzerindeki etkileri sadece bu etkilerle sınırlı kalmamaktadır. Yapılan çalışmalarda periferik dokulardan, salgı bezlerinden salgılanan hormonların kan-beyin bariyerini geçerek, beyinde bulunan reseptörler aracılığı ile periferik etkilerini gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle hormonların organizmadaki etkilerinin tam olarak aydınlatılması için, hormon aktivitelerinin beyin-periferik doku ekseninde araştırılması elzemdir.

3. Endokrinolojide Stereotaksik Cerrahinin Kullanıldığı Çalışmalar

Stereotaksik cerrahinin endokrinoloji çalışmalarında kullanılması, 1960'lı yıllarda streoidlerin beyin dokusunun, araştırma konusu ile ilgili merkezlerine implante edilmesi ile başlamıştır. Beyinde steroidlerin çoklu bağlanma bölgelerinin keşfi, bu konumların her birinde steroidlerin spesifik rol oynadığı sorusunu gündeme getirmiştir. O dönemde toplam bağlanma bölgelerinin yalnızca bir alt kümesinin üreme davranışlarının kontrolünde yer alacağını varsayılmaktadır. Bu kritik bölgeler, lezyon deneylerinin ve doğrudan gonadektomize deneklerin beynine steroidlerin stereotaksik implantasyonunun bir kombinasyonu ile yıllar içinde belirlenmiştir (8).

Steroidlerin canlı hayvanların beyinlerine ilk stereotaksik implantasyonları, sırasıyla sıçanların diensefalonuna östrojenleri yerleştiren Lisk (1960, 1962) tarafından yapılmıştır (9,10). Yapılan bu implantasyonlar sonucunda dişilerde cinsel duyarlılıkta artışlar gözlemlenmiştir. Stereotaksik lezyon deneyleri ve beyin alanları arasındaki bağlantıları analiz eden yol izleme çalışmaları ile bağlantılı olarak, bu yaklaşımlar yıllar içinde üreme davranışları üzerinde steroid etkisine aracılık eden ilgili beyin devrelerinin makul ölçüde eksiksiz bir modelini oluşturmuştur. Genel olarak, preoptik alanın medial kısmı ve hipotalamusun ventromedial çekirdeği, sırasıyla erkek ve kadın cinsel davranışlarının steroidler tarafından aktivasyonu için kritik ve yeterli yerler olarak görülmektedir. Bununla birlikte, ek olarak beynin bazı alanları da söz konusudur. Örneğin, progesteron hem ventromedial

hipotalamusta hem de ventral tegmental alanda lordozu teşvik etmek için etki etmektedir (11).

Stria terminalis çekirdeği ve amigdala gibi limbik sistemin bölümlerindeki androjen eylemleri de erkek cinsel davranışının aktivasyonunda önemli bir rol oynar (12). Erkek ve kadın cinsel davranışlarına aracılık eden bu devrenin kapsamlı incelemeleri yayınlanmıştır (13). Bu incelemelerde, beyin dokusunun ilgili merkezlerinin seksüel davranışlara etkilerinin incelenmesi için stereotaksik cerrahi operasyonları kullanılarak stereoidlerin beyin dokusunda etkilediği merkezler ortaya koyulmuştur.

Hormonların, davranışsal fizyolojiyi de etkileyen biyolojik mediyatörler olduğu aşikardır. Stereotaksik alanında yapılan ilk çalışmalarda olduğu gibi hormonların bu etkilerini beyin aracılı gösterip göstermediği ve hormonların beyin dokusunda etkilediği bölgeleri araştırmak için yapılan çalışmalar günümüzde giderek artmaktadır. Bu nedenle hormonların bu özelliklerinin araştırılmasında stereotaksik cerrahi günümüzde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Örneğin, Gonadotropin-inhibitör hormon (GnIH), hipotalamik-hipofiz- gonadal (HPG) ekseninin bir inhibitörüdür. Çeşitli stresörler GnIH mRNA, GnIH peptidi veya GnIH nöronal aktivitesini arttırdığından, GnIH'nin HPG eksenini negatif olarak düzenleyerek stresin aracısı olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, GnIH nöronal lifleri ve GnIH reseptörleri, telensefalon, diensefalon ve orta beyin bölgesinin limbik sisteminde yaygın olarak yer aldığından, GnIH davranışsal stres tepkilerine de aracılık edebilir. Önceki çalışmalar, GnIH'nin (RFRP) intraserebroventriküler (i.c.v.) uygulamasının, sıcak plakada morfin kaynaklı analjeziyi bloke ettiğini ve sıçanlarda formalin enjeksiyon testlerinde GnIH'nin ağrıya duyarlılığı arttırdığını düşündürmektedir. GnIH ayrıca sıçanlarda kaygı benzeri davranışları da artırır. Ayrıca i.c.v. GnIH uygulaması, erkek sıçanlarda ve dişi hamsterlerde saldırgan davranışı ve cinsel davranışı azaltır. Bu sonuçlar, GnIH'nin ağrı duyarlılığını, kaygıyı artırarak ve lokomotor aktiviteyi, saldırgan davranışı ve cinsel davranışı azaltarak organizmanın homeostazına yönelik tehdidi azalttığını göstermektedir. GnIH ayrıca stresin davranış üzerindeki etkisine aracılık edebilir (14).

Adams ve ark. (2018) şizofreni ile ilgili davranışsal hayvan modellerinde medyan rafe çekirdeğinden (MRN) ve dorsal rafe çekirdeğinden (DRN) gelen serotonerjik projeksiyonların farklı rollerini araştırdıkları çalışmalarında ratlarda, serotonin nörotoksin 5,7-dihidroksitriptaminin (5,7-DHT) MRN'ye veya ana projeksiyon bölgelerinden biri olan dorsal

hipokampusa stereotaksik mikroenjeksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu enjeksiyon sonucunda fensiklidin kaynaklı lokomotor hiperaktivitede belirgin bir artış ve prepulse inhibisyonunun (PPI) bozulma görülmüştür. Böylece şizofreni açısından dorsa hipokampusta serotoninin rolüne dair yeni bilgiler sunulmuştur (15).

Günümüzde görülme sıklığı her geçen gün artan obezite, vücuda besinler ile alınan enerjinin, harcanan enerjiden fazla olması nedeniyle vücut yağ kitlesinin artması ile görülen kronik bir hastalıktır (16). Obezite ile birlikte gelişen metabolik bozuklukların altında yatan pek çok biyolojik faktör olduğu düşünülmektedir (17, 18). Bunlardan en dikkat çekicileri hormonlardır. Özellikle de enerji metabolizması ve enerji kaynakları olan lipid, glikoz gibi maddelerin metabolik yolaklardaki akibetinde hormonların rolü oldukça fazladır. Bu nedenle metabolik regülasyonda görevli olan hormonların işleyiş mekanizmaları ile bu mekanizmalarda bulunan yolakların aydınlatılması oldukça önem arz etmektedir. Bu alanda yapılan moleküler yolak çalışmalarında, bir hormonun merkezi görevlerinin aydınlatılması için mutlaka stereotaksik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Zira bir hormonun, beyinde etkilediği bölgenin tespit edilebilmesi için, o hormonun beyin dokusuna enjekte edilmesinin tek yolu stereotaksik operasyonlardır (8). Örneğin, Martinez ve ark. (1999) yaptıkları çalışmalarda, intraserebroventriküler veya intraperitonel olarak enjekte edilen leptinin gıda alımı ve katı besleyici bir öğünün mide boşalması üzerindeki etkilerini aç bırakılmış Long-Evan sıçanlarında incelemişlerdir. İntraserebroventriküler olarak enjekte edilen leptin (3 mikrog, i.c.v.), 5 saatlik kümülatif gıda alımını % 39 ve gastrik geçişi %50 azaltırken, intraperitonel olarak enjekte edilen leptin (300 mikrog) 5 saat sonra gıda alımında % 35 azalma ve gastrik geçişte herhangi bir değişikliğe neden olmaması ile sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar, periferalden farklı olarak merkezi leptin enjeksiyonunun, alınan bir öğünün mideden geçişini engellediğini göstermektedir (19). Bu çalışmada olduğu gibi bir hormonun etkilerinin merkezi ya da sistemik olup olmadığının aydınlatılmasında stereotaksik çalışmaların kullanılması önem arz etmektedir.

Wang ve ark. (2000) yaptıkları çalışmalarında da stereotaksik cerrahi protokolü kullanarak intraserebroventriküler (enjeksyon bölgesi, 3. ventrikül) leptin enjekte ettikleri fare ve sıçanlarda, leptinin gıda alımını ve vücut ağırlığını bastırmak için CCK ile sinerji içinde hareket ettiğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, gıda alımını düzenlemek için CCK ve leptin arasındaki sinerjik

etkileşim ortaya koyulmuştur (20). Stereotaksik cerrahi protokolü uygulanarak yapılan bu çalışmada olduğu gibi iki hormon arasındaki etkileşimler, antagonist/sinerjik etkilerin açığa çıkmasında da stereotaksik cerrahinin kullanılmasının elzem olduğu görülmektedir.

Obestatin, 23 amino asitlik bir peptid olup, memeli preproghrelin geninin C- terminal kısmından türetilir. Chen ve ark. (2012) sıçanlarda yaptıkları çalışmada, intraserebroventriküler (ICV) enjeksiyondan 2 saat sonra obestatinin açil ghrelin, des-açil ghrelin ve nesfatin-1'in plazma seviyeleri ve mide boşalması üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Obestatinin ICV uygulaması (0.1, 0.3 ve 1.0 nmol/sıçan), plazma açil ghrelin ve de-açil ghrelin düzeylerini, açil ghrelin/des-açil ghrelin oranını ve nesfatin-1 konsantrasyonlarını değiştirmediğini rapor etmişlerdir. ICV akut obestatin uygulamasının, katı besleyici bir öğünün 2 saatlik mide boşalma hızı üzerinde hiçbir etkisi olmadığını da bildirmişlerdir (21).

Hackl ve ark. (2019) yaptığı çalışmada, 10 haftalık erkek Sprague Dawley (SD) ratlar kullanılmıştır. Beynin üç bölgesine infüzyon yapılmıştır. Bunlar 3. ventrikül (ICV), mediobasal hipotalamus (MBH) ve dorso vagal komplekstir (DVC). Çalışmada bu bölgelerin koordinatları şu şekilde verilmiştir; ICV (koordinatlar: 2.5 mm Anterior-Posterior, 0 mm Lateral, 10 mm Dorso-Ventral), MBH (koordinatlar: 3.3 mm Anterior-Posterior, 0.4 mm Lateral, 9.6 mm Dorso-Ventral) ve DVC (koordinatlar: 13.3 mm Anterior-Posterior, 0.6 mm Lateral, 6.9 mm Dorso-Ventral). İnfüzyondan 4-6 saat önce ratların yemleri önlerinden alınmıştır. Aç bırakılan ratlara infüzyon başlatılmıştır. İnfüzyon dozları ise şu şekildedir: ICV infüzyon 0. 083 µl/dak, DVC ve MBH infüzyon 0.0055 µl/dak/taraf (1 µL = 0. 001 ml). - 60, 0, 30, 60, 90, 120, 150 ve 180 dakikalarda kan plazma trigliserit ölçümü için venöz katater yoluyla ratlardan kan toplanmıştır. Leptin ve leptin reseptör antagonistinin infüzyonunun yapıldığı yer ise 3. ventriküldür. Bu infüzyonlarda, 28 gün boyunca leptin infüze edilmiştir. Uzun süreli infüzyonlarda ise osmotik pompa kullanılmıştır. Osmotik pompa sistemi ratların deri altına yerleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda ICV infüze edilen leptin hormonunun karaciğer trigliserit sekresyonunu artırdığı ve yağlanmayı azalttığı rapor edilmiştir. Leptin hormonu, hepatik de novo lipogenezi baskılamaktadır. Leptin hormonunun karaciğer üzerine olan etkilerini beyin üzerinden gerçekleştirdiği de bildirilmiştir (22). Zhang ve ark. (2015) yaptığı çalışmada, erkek Sprague Dawley (SD) ratlar kullanılmıştır. Beynin 3. ventrikülüne (ICV) stereotaksik yöntemle irisin hormonu infüze

edilmiştir. Çalışmada bu bölgenin koordinatı şu şekilde verilmiştir: 2.4 mm Anterior- Posterior, 8.4 mm Dorso-Ventral, 0 mm Lateral. Çalışmada infüze edilen irisin hormonu dozu verilmemiştir. İrisin hormonun kan basıncı üzerine etkilerine iliak arterin bifurkasyonuna yerleştirilmiş mikro çapta bir kateter sensör ile bakılmıştır. İnfüze edilen irisin hormonu hipotalamusun paraventriküler çekirdeğindeki (PVN) nöronları harekete geçirmiştir. Buradaki nöronlar vücudun neredeyse tüm sistemlerini kontrol etmektedir. Örneğin; Üreme sistemi (dopamin ve oksitosin salınımını uyaran nöronlar), büyüme ve gelişme sistemi (somastostatin salınımını uyaran nöronlar), vücut sıvı dengesinin düzenlenmesi (vazopressin salınımını uyaran nöronlar) ve kardiyovasküler sistem nöronlar tarafından kontol edilen sistemlerdendir. Yapılan çalışma sonucunda merkezi olarak infüze edilen irisin hormonunun kan basıncını ve kalp kasılmasını artırdığı görülmüştür. Buna karşılık olarak periferal enjekte edilen irisin hormonunun kan basıncını düşürdüğü görülmüştür (23).

Tekin ve ark. (2018)'nın yaptığı çalışmada, 40 adet yetişkin erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Deney süresince hayvanlar standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1°C, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü) tutulmuştur ve standart rat diyeti ile ad libitum olarak beslenmiştir. Ratlar rastgele şekilde 4 gruba ayrılmış olup bu gruplar saf, kontrol, irisin 10 nM ve irisin 100 nM gruplarıdır. Saf gruptaki ratlara deney sırasında bir işlem yapılmamıştır. Kontrol, irisin ve irisin gruplarındaki ratlar operasyona alınmışlardır. Beyin infüzyon kitleri stereotaksik operasyon ile ratların sağ lateral ventriküllerine yerleştirilmiştir. Ratlar 14. günün sonunda osmotik pompalara bağlanmıştır. Kontrol grubu ratlara 7 gün boyunca yapay beyin omurilik sıvısı infüze edilmiştir. Çözücü içinde hazırlanan irisin hormonu 10 nM ve 100 nM (240 µL/s) olacak şekilde iki gruba 7 gün boyunca infüze edilmiştir. Deney boyunca, ratların yem alımları ve vücut ağırlık değişimleri kayıt altına alınmıştır. Ayrıca, vücut sıcaklıkları rektal prob kullanılarak ölçülmüştür. 7. günün sonunda ratlar dekapite edilmiş ve hipotalamus, kan, kas ve intraskapular beyaz yağ doku ve kahverengi yağ doku toplanmıştır. Bu çalışma merkezi irisin infüzyonunun hipotalamus-hipofiz- adrenal aks ve enerji metabolizması üzerine etkilerini göstermek için yapılmıştır. İrisin hipotalamusta TRH gen ekspresyonu ve serumda TSH ve tiroit hormon seviyelerini düşürmüştür ancak periferal dokuda UCP1 ve UCP3 mRNA ekspresyonunu artırmıştır. Ek olarak irisin infüzyonu, besin alımını artırmasına rağmen vücut ağırlığında değişim oluşturmamıştır. Çalışma

sonucunda toplanan veriler irisin infüzyonun UCP1, UCP3 ekspresyonu ve vücut sıcaklığını artırarak enerji kullanımını tetikleyebileceğini göstermiştir (24).

Memelilerde bulunan ve uncoupling proteinler (UCP) olarak adlandırılan, vücut termoregülasyonunun ve enerji dengesinin sağlanmasında, kilit görevleri olan proteinler de enerji homeostazının araştırılmasında önem arz etmektedir. Bu proteinlerin de vücutta çoğu hormon ile ilişkili olduğu bilinmektedir (25). Nitekim, Erden ve ark. (2016)'da yaptıkları çalışmada irisin hormonunun UCP'ler üzerindeki etkilerini belirlemek için stereotaksik operasyon prosedürü kullanarak ICV yoluyla (1, 3 ve 10 uM konsantrasyonlarda) dişi sıçanlara irisin enjekte edilmiştir. Hayvanlar 16, 24 ve 48 saat aralıklarla sakrifiye edilerek, beyin dokuları toplanmıştır. Beynin hipotalamus, hipofiz bezi, hipokampus, beyincik, striatum ve korteks alanları ayrılarak UCP2, UCP3, UCP4 ve UCP5 mRNA seviyeleri belirlenmiştir. Hayvanlar sakrifiye edilmeden hemen önce vücut sıcaklıkları kaydedilmiştir. Yüksek doz irisin uygulamasından sonra tüm beyin bölgelerinde UCP5 mRNA seviyesinin arttığı; ayrıca üç dozun hipofiz hariç tüm beyin bölgelerinde UCP4 ekspresyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. UCP2 ve UCP3 mRNA ekspresyonları serebellum ve striatumda anlamlı bir artış göstermiştir. UCP2 mRNA ekspresyonu hipotalamus, hipofiz bezi, hipokampus ve korteks alanlarında azalmıştır. Ayrıca, sıçanların vücut sıcaklıklarının irisin enjeksiyonuna bağlı olarak arttığı ve bu artışın en fazla 24. saatte olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre, UCP2-5›in beynin farklı bölgelerinde ifade edildiği ve irisinin bu ifadeyi etkilediği ve bazı beyin işlevlerinde etkili rollere sahip olabileceği kanaatine varılmıştır (25).

Ayrıca arkuat çekirdekten NPY/AgRP projeksiyonları alan paraventriküler çekirdeğin hipotalamik bölümlerinde irisinin nöropeptid Y ile birlikte lokalizasyonu, irisinin enerji dengesinin merkezi düzenlenmesinde olası bir rolü olduğunu düşündürür. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, intra-hipotalamik irisin (1µl, 50- 200nmol/l) uygulamasının beslenme ve oreksijenik [agouti ile ilişkili peptid (AgRP), nöropeptid Y (NPY) ve orexin-A] ve anoreksijenik [kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript (CART) ve proopiomelanokortin (POMC)] peptitleri üzerindeki etkilerini incelenmiştir. İrisin enjekte edilen sıçanlar, muhtemelen uyarılmış CART ve POMC'nin aracılık ettiği ve hipotalamusta ve oreksin-A'yı inhibe ettiği gıda alımında azalma göstermiştir (26).

Stereotaksik operasyonların kullandığı bir diğer uygulama alanı ise gen tedavisidir. Nöroendokrin hastalıkların hayvan modellerinde deneysel gen tedavisinin uygulanması, güncel bir ilgi alanıdır. Örneğin hipotalamusta, diyabetes insipidustan muzdarip bir arginin vazopressin (AVP) mutantı olan Brattleboro sıçanlarında ve leptin reseptör mutasyonlarına sahip ve bu nedenle obez, hiperfajik ve hiperinsülinemik olan Koletsky (fak/fak) ve Zucker (fa/fa) sıçanlarında onarıcı gen tedavisi başarıyla uygulanmıştır. Bu modellerde sırasıyla AVP, leptin reseptörü b ve proopiomelanokortini eksprese eden viral vektörler, ilgili hipotalamik bölgelere stereotaksik olarak enjekte edilmiştir (27).

Ayrıca, sıçanlarda yaşlanma prolaktin sekresyonunun ve laktotropik hücre proliferasyonunun tonik inhibitör kontrolünde rol oynayan hipotalamik tuberoinfundibular dopaminerjik (TIDA) nöronların ilerleyici bir dejenerasyonu ve kaybına neden olur. Bu sıçanlarda insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-1) eksprese eden bir adenoviral vektörün stereotaksik enjeksiyonu, kronik hiperprolaktinemilerini düzeltmiş ve TIDA nöron sayılarını restore etmiştir (27). Bu çalışmalar, nöroendokrin modellerinde stereotaksik operasyon ile uygulanan gen tedavisi stratejilerinin daha fazla uygulanmasının oldukça faydalı olabileceğini düşündürmektedir.

Bazı nöroendokrin bozuklukların ve nörolojik hasarların deneysel olarak oluşturulmasında da stereotaksik cerrahi kullanılmaktadır.

Örneğin vasküler düz kas hücrelerinde sentezlenen ve salgılanan bir hormon olan Endotelin-1 (ET-1), bir vazokonstriktör olarak orta serebral arterin perivasküler yüzeyine uygulanması, bilinci açık hayvanlarda felci indüklemek için yegâne yöntemlerden biridir. Bu protokolde, orta serebral arterin üzerine bir ET-1 kılavuz probunun stereotaksik yerleştirilerek, bilinçli sıçanlarda felç indüksiyonu gerçekleştirilmektedir (28). Hormonların merkezi enjeksiyonunun yapıldığı diğer çalışmalarda da hormonların merkezi uygulamasının periferik dokularda ve metabolik regülasyonda etkili olduğu görülmektedir (29-31).

Tablo 1: Stereotaksik Cerrahinin Kullanıldığı Bazı Çalışmalar

Enjeksiyon Yeri	Enjekte Edilen Madde	Koordinatlar (Lateral,AP,DV)			Hayvan Türü	Çalışılan Konu
Dorsomedial hipotalamus (DMH)	Leptin	0.4 mm	1.9 mm	4 mm	C57BL/6J Fareler	Vücut sıcaklık, metabolizma
Medial basal hipotalamus (MBH)	Östradiol	0.4 mm	3.3 mm	9.6 mm	Dişi Wistar Strain Ratlar	Üreme
Sağ Lateral Ventrikül (RLV)	İrisin	1.5 mm	0.8 mm	3.5 mm	Erkek Wistar Albino Ratlar	Matobolizma ve Tiroit Hormonu
Hipotalamus Ventromedial Çekirdek (VMN)	Seratonin	0.4 mm	4.38 mm	7.8 mm	Fischer(C DF-344) Ratlar	Cinsel Davranış
3. Ventrikül (ICV)	İrisin	0 mm	2.4 mm	8.4 mm	Erkek Sprague Dawley (SD) Ratlar	Kan Basıncı
Medial Preoptik Alan (MPOA)	Östradiol	0.35 mm	0.2 mm	5.3 mm	Rat	Cinsel Davranış
Dorso Vagal Kompleks (DVC)	Tiloksapol	0.6 mm	13.3 mm	6.9 mm	Erkek Sprague Dawley (SD) Ratlar	Metabolizma
3.Ventrikül (ICV)	Leptin	0 mm	2.5 mm	9 mm		
Medial Basal Hipotalamus (MBH)	Tiloksapol	0.4 mm	3.3 mm	9.6 mm		
Dorsal Hipokampus (DH)	5,7-dihidroksitriptaminin (5,7-DHT)	1.5 mm ve 3.5 mm	3.6 mm	3.8 mm	Erkek Sprague Dawley (SD) Ratlar	Şizofreni
Ventral Hipokampus (VH)	5,7-dihidroksitriptaminin (5,7-DHT)	4.8 mm	5.6 mm	8 mm		

Sağ Lateral Ventrikül (RLV)	Leptin	1.5 mm	0.8 mm	3.5 mm	Long- Evan Ratlar	Sindirim
Orta Serebral Arter (MCA)	Endothelin-1	5.9 mm	0.2 mm	5.2 mm	Erkek Hooded Wistar ratlar	Vasküler Sistem

4. Sonuç

Beyinle ilgili birçok çalışmada kullanılan bir teknik olan stereotaksik cerrahi, uzun yıllar boyunca deney hayvanlarıyla yapılan araştırmalarda kullanılmaktadır. Stereotaksik cerrahi, sıklıkla kullanılan bir teknik olmakla birlikte gelişimini henüz tamamlanmamıştır. Günümüzde hala stereotaksik cerrahiye farklı bakış açıları getirilebilir. Bilim insanları yıllardır stereotaksik cerrahiyi endokrinolojik çalışmalar için kullanmaktadır.

Stereotaksik cerrahi ile hormonların etkilediği enerji metabolizması, karaciğer metabolizması, termoregülasyon, sıvı dengesi, büyüme ve gelişme, cinsel davranışlar, sindirim olayları gibi endokrinolojinin alanına giren birçok konuda çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle, bu hormonların fizyolojik ya da patolojik olarak etki mekanizmalarının aydınlatılmasında oldukça elzem bir teknik olduğu yapılan çalışmalarda görülmektedir. Zira, bir hormonun işleyiş mekanizmasının tamamen aydınlatılabilmesi için, o hormonun sadece periferik dokularda değil, aynı zamanda da beyin üzerindeki etkilerinin gün yüzüne çıkarılması gerekmektedir. Bu nedenle bu hormonların deneysel olarak yapılan in vivo çalışmalar ile beyin bölgesine infüze/ enjekte edilmesi gereklidir.

Ayrıca yapılan endokrinolojik çalışmalar ile birlikte her geçen gün farklı hormonlar gün yüzüne çıkmaktadır. Stereotaksik cerrahi, bu hormonların etki mekanizmalarının da aydınlatılabilmesi için çok önemli olan bir tekniktir.

Kaynakça

1. Huhtaniemi I, Martini L. Endocrinology – Study of the Hormonal Regulation of the Body. Reference Module in Biomedical Sciences. USA: Elsevier; 2015:1-4, ISBN 9780128012383.

2. Starling EH. The Croonian Lectures. On the chemical correlation of the functions of the body. London: The Lancet; 1905;166:339 341.

3. Burbach JP. Neuropeptides from concept to online database www. neuropeptides nl. Eur J Pharmacol. 2010;626(1):27-48.

4. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. 1. Basım. Ankara: Feryal Matbaacılık; 1999:65-56.

5. Ferré S. Hormones and Neuropeptide Receptor Heteromers in the Ventral Tegmental Area. Targets for the Treatment of Loss of Control of Food Intake and Substance Use Disorders. Curr Treat Options Psychiatry. 2017;4(2):167-183.

6. Parker JA, Bloom SR. Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite. Neuropharmacology. 2012;63:18-30.

7. Yeo GS, Heisler LK. Unraveling the brain regulation of appetite: lessons from genetics. Nat Neurosci. 2012;15:1343-9.

8. Balthazart J. How technical progress reshaped behavioral neuroendo crinology during the last 50… years and some methodological remarks. Horm and behav. 2020;118:104682.

9. Lisk RD. Estrogen-sensitive centers in the hypothalamus of the rat. J Exp Zool. 1960;145:197-207.

10. Lisk RD. Diencephalic placement of estradiol and sexual receptivity in the female rat. Am J Physiol. 1962;203:493-496.

11. Pleim ET, Lisciotto CA, DeBold JF. Facilitation of sexual receptivity in hamsters by simultaneous progesterone implants into the VMH and ventral mesencephalon. Horm and behav. 1990; 24(2):139-151.

12. Newman SW. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. Ann N Y Acad Sci. 1999;877:242-257.

13. Hull EM, Dominguez JM. Neuroendocrine Regulation of Male Sexual Behavior. Compr Physiol. 2019;9(4):1383-1410.

14. Ubuka T, Parhar IS, Tsutsui K. Gonadotropin-inhibitory hormone mediates behavioral stress responses. Gen Comp Endocrinol. 2018;265:202-206.

15. Adams W, Kusljic S, van den Buuse M. Serotonin depletion in the dorsal and ventral hippocampus: effects on locomotor hyperactivity, prepulse inhibition and learning and memory. Neuropharmacology. 2008;55(6):1048-1055.

16. Dünya Sağlık Örgütü. Obesity Preventing and Managing the Global Epidemic: Report of a WHO Consultation on Obesity. The World Health Organization, Geneva: 1998.

17. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. Annu. Rev. Immunol. 2011;29:415-445.

18. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. J Clin Invest. 2006;116:1793-1801.

19. Martínez V, Barrachina MD, Wang L, Taché Y. Intracerebro ventricular leptin inhibits gastric emptying of a solid nutrient meal in rats. Neuroreport. 1999; 10(15):3217-3221.

20. Wang L, Barachina MD, Martínez V, Wei JY, Taché Y. Synergistic interaction between CCK and leptin to regulate food intake. Regul Pept. 2000;92(1-3):79-85.

21. Chen CY, Lee WJ, Chong K, Lee SD, Liao YD. Impact of intracerebroventricular obestatin on plasma acyl ghrelin, des-acyl ghrelin and nesfatin-1 levels, and on gastric emptying in rats. Mol Med Rep. 2012;6(1):191-196.

22. Hackl MT, Fürnsinn C, Schuh CM ark. Brain leptin reduces liver lipids by increasing hepatic triglyceride secretion and lowering lipogenesis. Nat Commun. 2019;10:2717.

23. Zhang W, Chang L, Zhang C, ark. Central and peripheral irisin differentially regulate blood pressure. Cardiovasc Drugs Ther. 2015;29(2):121-127.

24. Tekin S, Erden Y, Ozyalin F, ark. Central irisin administration suppresses thyroid hormone production but increases energy consumption in rats. Neurosci Lett. 2018;674:136-141.

25. Erden Y, Tekin S, Sandal S, Onalan EE, Tektemur A, Kirbag S. Effects of central irisin administration on the uncoupling proteins in rat brain. Neurosci Lett. 2016;618:6-13.

26. Ferrante C, Orlando G, Recinella L, ark. Central inhibitory effects on feeding induced by the adipo- myokine irisin. Eur J Pharmacol. 2016;791:389-394.

27. Hereñú CB, Morel GR, Bellini MJ. Gene therapy in the neuroendocrine system. Frontiers of hormone research. 2006;35:135-142.

28. Abeysinghe H, Roulston CL. A Complete Guide to Using the Endothelin-1 Model of Stroke in Conscious Rats for Acute and Long-Term Recovery Studies. Methods Mol Biol. 2018;1717:115 133.

29. Asadi Y, Gorjipour F, Behrouzifar S, Vakili A. Irisin Peptide Protects Brain Against Ischemic Injury Through Reducing Apoptosis and Enhancing BDNF in a Rodent Model of Stroke. Neurochem Res. 2018;43(8):1549-1560.

30. Tekin S, Erden Y, Özyalin F, Ciğremis Y, Çolak, Sandal S. The effects of intracerebroventricular infusion of irisin on feeding behaviour in rats. Neurosci Lett. 2017;645:25-32.

31. Siteneski A, Cunha M, Lieberknecht V. Central irisin administration affords antidepressant-like effect and modulates neuroplasticity-related genes in the hippocampus and prefrontal cortex of mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2018;84:294-303.

BÖLÜM II

SIĞIR YETİŞTİRİCİLİĞİNDE SAĞIM SİSTEMLERİ

Milking Systems in Cattle Breeding

Serdar GÜLER[1] & Mahmut Şamil ŞAMLI[1]

[1]Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Zootekni Anabilim Dalı,
Konya, Türkiye, vethekserdar@hotmail.com
ORCID: 0000-0003-2499-9237

[1]Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Zootekni Anabilim Dalı, Konya,
Türkiye, vet.samilsamli@gmail.com
ORCID: 0000-0001-8956-3624

1. Giriş

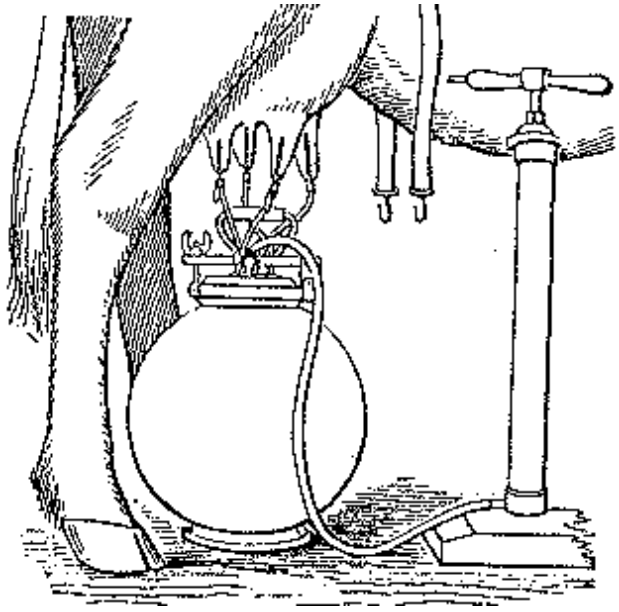
İlk süt sağım işleminin yaklaşık 3100 yıl kadar önce Mısır'da yapıldığı bilinmektedir. (1) Elle sağımda meme başının el ile sıkma-gevşetme hareketleriyle yapılması büyük sürülerde sağımcıların ellerinin şişmesine neden olduğundan işçi sayısının artırılmasını gerektirmekteydi. (2) Sütçü sığır yetiştiriciliğinde günümüzden yaklaşık iki asır öncesine kadar el ile sağım devam etmekteydi. Ancak sanayi devrimiyle birlikte birçok sektörde olduğu gibi sütçü sığır yetiştiriciliğinde de birtakım yenilikler meydana gelmiştir. Bu yenilik düşüncelerinden birisi de ineklerin insan eliyle değil de bir aparat veya makine ile sağılıp sağılamayacağı olmuştur. (3)

2. İlk Sağım Makineleri

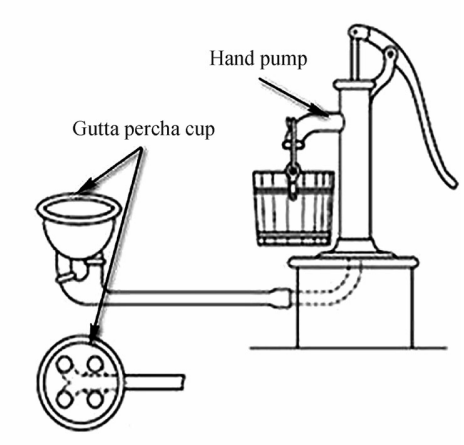
Sağım makinelerinin geçmişi 19. yüzyılın ilk yarısına kadar uzanmaktadır. İlk ilkel sağım makinesi 1819'da bir kateter ile meme başına girilerek meme

sfinkterinin açılmasını ve sütün dışarı akarak bir haznede toplanmasını sağlayan "kateter sağım makinesi" olarak adlandırılan makinedir. (3)

Ancak ilk zamanlarda böyle bir makinenin ineğe zarar verebileceğinden dolayı yanlış olduğunu düşünenler olmuştur. Öyle ki bir kimyacı ve aynı zamanda süt yağının hesaplanmasında kullanılan Babcock Testi'ni geliştiren Stephen Moulton Babcock, "National Dairyman" adlı dergide 'sağım makinelerinin sütün kalitesinin düşmesine ve süt hayvanlarının standartlarının düşmesine neden olacağını' yazmıştır. Ayrıca American Dairyman Association sekreteri Arnold L.B., 'The Farmers Advocate' adlı dergide elle sağmanın sığır memesi üzerine faydalarının olduğu ve bu nedenle makineli sağımdan uzak durulması gerektiğini yazmıştır. (3) Bunun nedeni, ilk geliştirilen makinelerin katerer ile sfinkteri zorlayarak meme içine girilmesi ve bu kateterlerin ilk başlarda ahşap malzemeden yapılmış olmasıydı. Daha sonraları ise saf gümüş, fildişi ve kemikten kateterler de yapılarak 19. yüzyılın ortalarında pazarlanmış, hatta bazıları 20. yüzyıla kadar satılmıştır. İlk makinenin geliştirilmesinden sonra sağım makinelerindeki gelişmeler devam etmiş ve 19. yüzyılın ikinci yarısında yüzden fazla makine patent almıştır. (3,4)

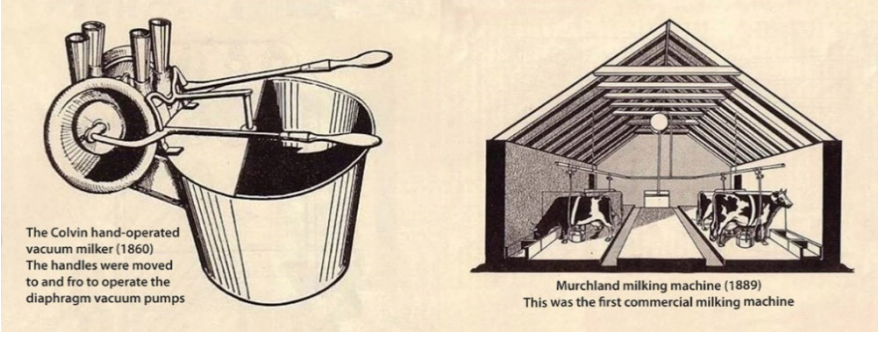


Şekil 1. Kateter sağım makinesi (3)



Şekil 2. İlk vakum sağım sistemi (Gutta percha) (5)

Kateter sağım makinelerinin meme dokusuna zarar vermesi, memeye enfeksiyon girişine neden olması gibi dezavantajlarından dolayı bazı alternatifler geliştirilmeye çalışılmıştır. 1851'de Hodges ve Brockenden ilk vakumlu sağım makinesini geliştirmişlerdir. Bu makinede kauçuktan üretilen 'gutta percha' kaba meme başı yerleştirilerek ve kabın bağlı olduğu el pompası kullanılarak sağım gerçekleştirilirdi. (3)



Şekil 3. Murchland sağım makinesi (6)

1889'da William Murchland kendi adını alan ilk sağım makinesini geliştirmiş ve 1892'de patent almıştır. (3)

3. Geleneksel (Konvansiyonel) Sağım Sistemleri

İlk sağımhane 1930'da 'sağım evi" adıyla kurulmuştur. (7) Sağım makineleri 1910-1950 yılları arasında rağbet görmemiştir. Bunun nedenleri arasında işçiliğin ucuz, süt fiyatlarının düşük olması ilk sıralarda yer almaktadır.

1940 yılında çiftçilerin yaklaşık %10'u sağım makinesi kullanmaktaydı. Ancak 2. Dünya savaşından sonra yukarıda saydığımız nedenler tam tersine dönmüş ve sürü büyüklüklerinin de artmasıyla beraber sağım makinesi kullanımı %40'a yükselmiştir. (8,9)

3.1. Seyyar Sağım Makineleri (Mobile Milking)

Küçük sürülerde ve genellikle aile işletmelerinde seyyar sağım makineleri kullanılır. Seyyar sağım makineleri ilk kez piyasaya sürüldüğünde tek bir inek için tasarlanmıştı. Zamanla makinelerin geliştirilmesiyle birlikte aynı anda 2 ve 4 adet inek sağabilen seyyar sağım makineleri de geliştirilmiştir. Ayrıca merada sağım yapılması amacıyla aynı anda birçok ineğin sağılmasına olanak sağlayan, motorlu bir taşıtla istenilen yere götürülebilen büyük seyyar sağım makineleri de mevcuttur.



Şekil 4. Tekli seyyar sağım makinesi (10)



Şekil 5. İkili seyyar sağım makinesi (11)



Şekil 6. Dörtlü seyyar sağım makinesi (12)



Şekil 7. Büyük seyyar sağım sistemi (13)

3.2. Abreast Sağım Sistemi

Geleneksel inek ahırlarının kullanılmadığı ve iklim gereği kapalı ahırların tercih edilmediği bölgelerde sağım odaları ortaya çıkmıştır. Bu sağım odalarında tercih edilen ilk sağım sisteminde, yan yana hizalanmış duraklara sağım makineleri yerleştirilmiştir. Ünitede her inek çifti için bir sağım ünitesi bulunur. Sağım için durağa giren ineklerin, yerlerinde kalmaları için kuyrukları da dahil olmak üzere arkalarına bir zincir sabitlenir. Süt, inekten toplama kutusuna bir boru hattı aracılığıyla ulaştırılır. (8)



Şekil 8. Abreast sağım sistemi 1 (14)

1922 yılında ortaya çıkan bu sistemde kullanılan yeni bileşenler dikkat çekiciydi. Eğer bu sistemden yararlanılır ve mekanik sağım geliştirilirse düşük iş gücü ve sermaye ile yeni süt sağım sistemlerinin önü açılmış olacaktı. Nitekim öyle oldu ve süregelen gelişmeler ile birlikte bugün modern çiftliklerde tam otomatik sağım sistemleri kullanılmaktadır. Yan yana sağım sistemi duraklar, süt depolama ve taşıma sistemi, vakum pompası ve sıcak su kazanından oluşmaktadır. Tüm bileşenler ilk yıllarda tekerlekli veya kızaklı olarak bir kulübeye monte edilmiş ve tarladan tarlaya, ahırdan ahıra taşınmıştır. Kışın olumsuz hava koşullarından etkilenmemek için ise ahırın yakınında betonarme bir alana park edilerek kullanılmıştır. (8) Günümüzde mera ve otlaklarda yapılan süt sığırcılığında bu sistem tercih edilmektedir.



Şekil 9. Abreast sağım sistemi 2 (15)

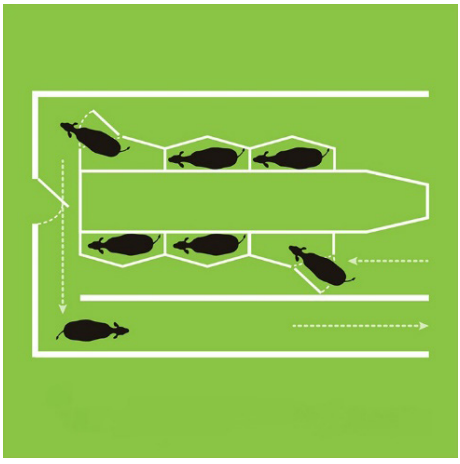
3.3. Tandem Sağım Sistemleri



Şekil 10. Tandem sağım sistemi (16)

Tandem sağım sistemlerinde inekler bireysel duraklarda sağılırlar. Tek hayvanlık bireysel duraklar içeren bu sistemde hayvanlar birer birer serbest bırakılır. Sağımı uzun süren bir ineği beklemek durumunda kalmamaları diğer hayvanlar için büyük bir avantajdır. Şekilde de görüleceği üzere inekler sıralandıklarında, öndeki hayvanın kuyruğu arkadaki hayvanın burnuna gelecek şekilde hizalanırlar.

Yan yana sağım sisteminden sonra bu sistemde sağım personelinin eğilmesi önlenmiştir. Aynı zamanda inekler personelin çalışma alanından ayrılmış ve personel için daha konforlu bir çalışma alanı sunulmuştur. (17) Sağım personelinin çalışma alanı olan sağım çukuru ile inekler arasında 75-100 cm bir mesafe vardır. (18)



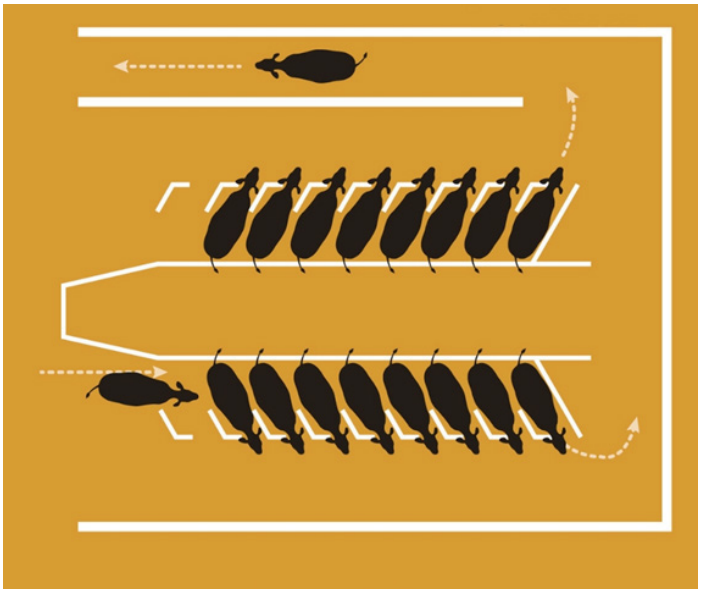
Şekil 11. Tandem sağım sistemi (19)

3.4. Balıkkılçığı/Balıksırtı Sağım Sistemi (Herringbone)

Bu sağım sistemi ilk olarak 1908-1909 yıllarında Avustralya'da icat edilmiştir. 1980'lere kadar İngiliz sığır yetiştiricileri tarafından pek rağbet görmemiş olmasına rağmen 1980'lerin başlarında yetiştiricilerin yaklaşık %70'i bu sistemi kullanmıştır. (20) Balıksırtı sağım sistemleri kendini kanıtlamış ve en sık kullanılan sistemlerden biri olmuştur. Bu sistem genellikle küçük sürülerde kullanılmaktadır.

İnekler yaklaşık 45° açıyla sağım sistemine yerleşir ve birbirlerine yakın durur. Sağımhanenin merkezinde sağım çukuru adı verilen personelin çalışma alanı bulunur. Sağım çukuru ineklerden yaklaşık 75-100 cm aşağıdadır. (18) Sağım çukurunda personelin ulaşabileceği iki sıra sağılmayı bekleyen inek vardır. İneklere sağım öncesi, sağım sırasında ve sağım sonrasında müdahale imkânı kolaydır. Tasarımın kompakt oluşu sağım personelinin çok sayıda noktayı izlemesi için imkân tanımaktadır. (20)

Balıksırtı sağım sisteminde kısa sürede daha fazla sağım gerçekleştirilmektedir. Kısa süren sağım ineklerin beslenmesi ve dinlenmesi için zaman kazandırmakta ve stresi azaltmaktadır.



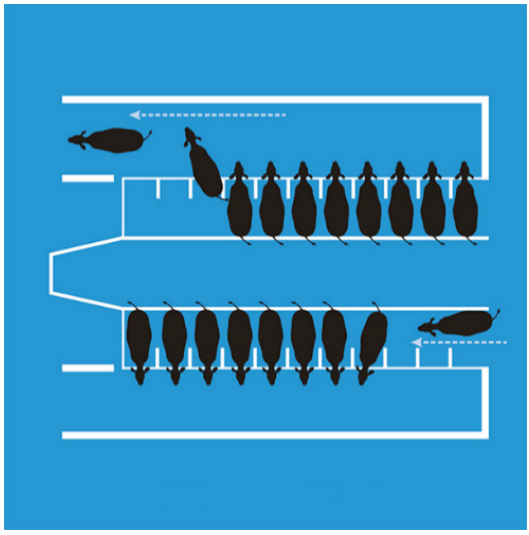
Şekil 12. Balıkkılçığı sağım sistemi (21)



Şekil 13. Balıkkılçığı sağım sistemi 2 (22)

3.5. Paralel Sağım Sistemleri

Paralel sağım sistemi, modern bir süt çiftliğinin artan ihtiyaçlarını gidermek için geliştirilmiştir. Adından da anlaşılacağı gibi bu sağım sisteminde inekler birbirine paralel olarak konumlanmaktadır. (17) İki sıra halinde karşılıklı paralel sıralanan ineklerin ortasında sağım çukuru yer alır. Sağım çukuru, sağımı yapacak personelin çalışma alanıdır.



Şekil 15. Paralel sağım sistemi (24)



Şekil 14. Paralel sağım sistemi (23)

Bu sistemde, inekler sağım çukuruna 90° açıyla konumlandırıldığından sağım personelinin daha hızlı ve daha etkili çalışabileceği, daha konforlu bir çalışma alanı vardır. (17) Kapasiteye göre değişmekle birlikte tüm inekler yerini aldıktan sonra sağım başlar ve hepsi sağım bittikten sonra serbest bırakılır. Bu nedenle sağımı bitenler, sağımı uzun süren inekleri beklemek zorundadır. (18) Sağım yaklaşık olarak 10 dakika sürmektedir.

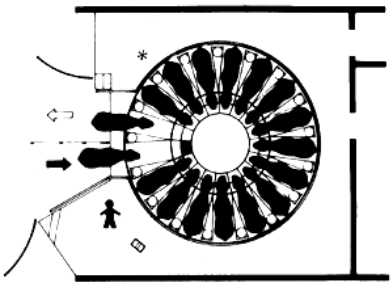
3.6. Döner Duraklı Sağım Sistemleri (Rotary)

Sağım sistemlerinin gelişimi, işgücü gereksinimini önemli miktarda azaltmıştır. (25) Önce yan yana sağım sistemleri, ardından sağım personelinin eğilmesini önlemek ve inekleri çalışma alanında ayırmak için tandem, paralel, balık sırtı sağım sistemleri geliştirilmiştir. (8) Düşük işgücü gereksinimleri ve iyi düzenlenmiş sağım üniteleri ile modern sağım sistemleri, süt üretiminin mekanizasyonunda açık ara en önemli faktör olmuştur.

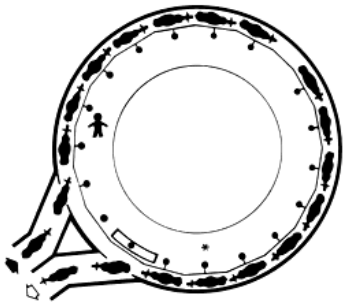


Şekil 16. Rotary sağım sistemi (26)

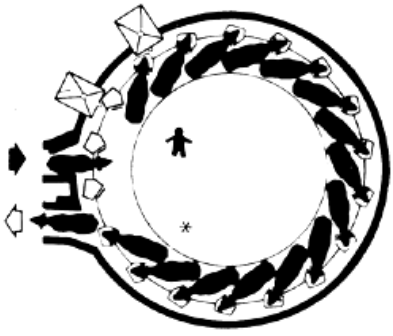
Diğer sağım sistemlerine kıyasla döner sağım sistemleri daha yüksek verimliliğe sahiptir ve bu nedenle kullanımında işgücünü önemli ölçüde azaltır. (27) Ancak sağım ekipmanları daha karmaşık ve pahalıdır, ayrıca montajı için daha fazla alana ihtiyaç vardır. Aynı zamanda döner tip sağım sistemleri, en az 200-300 ineğe sahip nispeten büyük işletmelerin kullanımı için tavsiye edilmektedir. (28)



Şekil 17. Rotary Abreast (29)



Şekil 18. Rotary Tandem (30)



Şekil 19. Rotary Balıkkılçığı (31)

Döner sağım sistemlerinde sağım durakları, sağım süresi ve stres göz önünde bulundurularak yavaş dönen bir platform üzerinde büyük bir daire şeklinde tasarlanmıştır. İnekler, tasarıma bağlı olarak içeri veya dışarı bakabilir. İnekler içeri rahatlıkla girebilir ve platformun boyutuna bağlı olarak, bir veya iki turu tamamlayarak sağımı bitirdikten sonra çıkabilirler. (32,33) Sağım personeli, sağım ekipmanını her memeye takmak için sağım hattını dolaşmak zorunda kalmaz ve rahatlıkla tek bir yerden tüm ineklere müdahale edebilir. Ancak yapılması gerekli her bir görev için yaklaşık 14 saniye olması bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır (meme hazırlığı, meme başı dezenfeksiyonu, sağım ekipmanlarının bağlanması,). Döner sağım sistemleri abreast, tandem ve balık kılçığı olmak üzere üçe ayrılır. Kurulum

maliyeti olarak en ucuzu abreast, en pahalı olanı ise tandem döner duraklı sağım sistemidir. (34)

4. Robotik Sağım Sistemleri

Teknolojinin gelişmesiyle birlikte sütçü sığır endüstrisinde de birtakım değişiklikler meydana gelmiştir. Bunlardan biri otomatik sağım sistemleri ya da diğer adıyla robotik sağım sistemleridir.

Robotik sağım sistemleri, sütçü sığır işletmelerinde iş gücünü azaltması ve yetiştiricilere daha sosyal bir yaşam imkânı sunması sonucu başta Avrupa ülkeleri, Amerika Birleşik Devletleri, Kanada ve Avustralya olmak üzere birçok ülkede yaygınlaşmaya devam etmektedir. (35) İlk robotik sağım sistemi 1992'de geliştirilmiş ve piyasaya sürülmüştür. (36,37) Son yirmi yılda Avrupa ülkeleri ve Amerika başta olmak üzere tüm dünyada oldukça fazla benimsenmiştir. (7,38) Sağladığı işgücü kolaylığına bağlı olarak yetiştiricilere daha rahat bir yaşam sunmasından dolayı da halen yaygınlaşmaya devam etmektedir. (39,40)

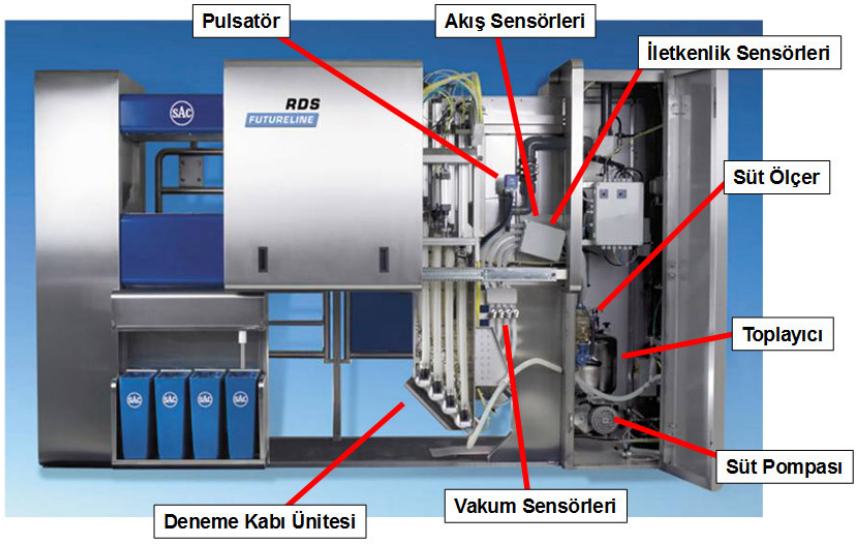
4.1. Robotik sağımın avantaj ve dezavantajları

Otomatik sağım sistemleri, her bir meme lobunun süt verimini ve somatik hücre sayısını ölçebilme imkânı sağlar. (41) Konvansiyonel sağım sisteminden robotik sağım sistemine geçiş yapan işletmelerde ilk altı ay içerisinde total bakteri sayısı ve somatik hücre sayısı artışı gibi süt kalitesini olumsuz etkileyen birtakım değişiklikler meydana gelir ve altıncı aydan sonra süt kalitesi yavaş yavaş düzelmektedir. (40)

Robotik sağım sistemlerindeki akıllı pulzasyon sistemi süt akışını meme sağlığını bozmadan %8 civarında artırır. (42) Farklı sağım sistemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada subklinik mastitis oranları robotik ve konvansiyonel sağım için sırasıyla %4,91 ve %13,57; klinik mastitis oranları ise sırasıyla %5,51 ve %11,66 olarak belirlenmiş ve aradaki farkın hem subklinik hem de klinik mastitis için önemli olduğu belirlenmiştir. (43)

Bu sağım sistemleri, inekleri günlük sağım sayısı bakımından konvansiyonel sağımda olduğu gibi sınırlandırmaz ve onlara maksimum verim performanslarını gösterme imkânı sunar. (44,45) Günlük sağım sayısı konvansiyonel sağıma göre artış imkânı bulur ve bu artış süt veriminin artmasıyla sonuçlanır. (46) Günlük sağım sayısının özellikle erken laktasyonda artması laktasyon süt verimi ve persistensini olumlu etkiler. (47) Günlük sağım sayısı laktasyonun dönemine göre uyarlanabilir (48) ve başarı ineklerin sağım rutinine alışmasına, istekli olarak

sağıma gelerek işçilik maliyetlerini azaltmasına, ineğin meme başı yapısına bağlı olarak robotun sağım başlıklarını meme başlarına sorunsuz takmasına, ineğin stres durumuna ve sürü yönetimine bağlıdır. (49) Ancak meraya dayalı süt sığırı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde entansif yetiştirilenlere oranla günlük sağım sıklığı daha azdır. (50)



Şekil 20. Robotik sağım makinesi parçaları (51)

Yapılan çalışmalarda konvansiyonel sağım sistemleriyle karşılaştırıldıklarında otomatik sağım sistemlerinin sağım sıklığı, işgücü, süt verimi ve hayvan refahı üzerine avantajlarının olduğu belirlenmiştir. (7) Konvansiyonel ve robotik sağım sistemleri karşılaştırıldıklarında, net gelirin konvansiyonel sağımda daha fazla; iş gücünün robotik sağımda daha az olmasına rağmen sermaye ile elektrik, su tüketimi ve tamir masraflarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. (39) Ayrıca iki sistem karşılaştırıldığında robotik sağımda iş gücünün %29 daha az olduğu ancak süt üretimi ve yem tüketimi bakımından anlamlı bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir. (52)

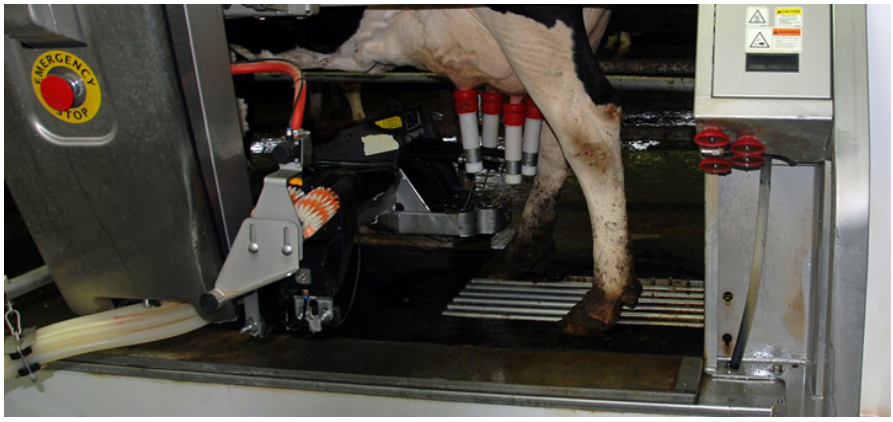
Sağım esnasında konsantre yem verilmesi sütçü sığırlarda konvansiyonel sağımdan robotik sağıma alışma sürecini olumlu etkilemekte ve konsantre yem verilen inekler sağım robotunu daha çok ziyaret etmektedir. (53) Ayrıca robotik sağım sistemlerine geçiş yapan işletmelerde elektrik masrafı artarken, su ve kimyasal madde kullanımı neredeyse yarı yarıya azalmaktadır. (7)

Robotik sağım sistemlerinde cep telefonu uygulaması bulunmakta ve ineklerin durumu takip edilebilmektedir. Suni tohumlama yapılacak, tedavi

uygulanacak inekler sağım sonrası telefon uygulamasından talimat verilerek ayrı bir bölmeye alınabilmektedir. Ayrıca antibiyotik tedavisi gören ineklerin sütünün sonradan buzağılara verilmek amacıyla ayrı kovalara alınması veya direkt olarak kanalizasyona verilmesi de ayarlanabilmektedir. Böylece antibiyotikli sütün süt tankına karışması engellenmiş olur.

4.2. Sağımın gerçekleşmesi

Robotik sağım sistemlerinde ineklerin boynundaki kimliklerini (transponder) okuyan ve sağım saati gelen ineklerin girişine izin veren bir giriş kapısı bulunur. İneğin girişinden sonra sağım esnasında sakin durmasını sağlamak için ortalama günlük süt verimine göre önüne otomatik olarak konsantre yem verilir. Robotik sağım sisteminde transponder okunduktan sonra robotik kol sistemde kayıtlı olan meme başlarının konumunu belirlemek için robotun markasına göre değişmekle birlikte lazer, ultrason veya görüntü analizi sistemi ile tarar. Meme pozisyonu belirlendikten sonra meme başları yuvarlak fırçalar ile dezenfekte edilir. Dezenfeksiyon işleminden sonra lazer taraması ile meme başları yerleşimine göre sağım başlıkları takılır. Başlıkların takılması ile sağım işlemi başlamış olur. Sağım esnasında her bir memeye ait süt sıcaklığı, bakteri sayısı, somatik hücre sayısı, iletkenlik, süt akış hızı gibi değerler otomatik olarak kaydedilir. Süt akışının kesilmesiyle meme başlıkları otomatik olarak çıkarılır. Ardından ilk başta olduğu gibi meme başları dezenfekte edilerek, meme başından mastitise neden olabilecek etkenlere karşı sprey püskürtülür ve inek dışarı bırakılır. Bu arada bir başka inek gelene kadar meme başlıkları sıcak su ile dezenfekte edilir. (7)

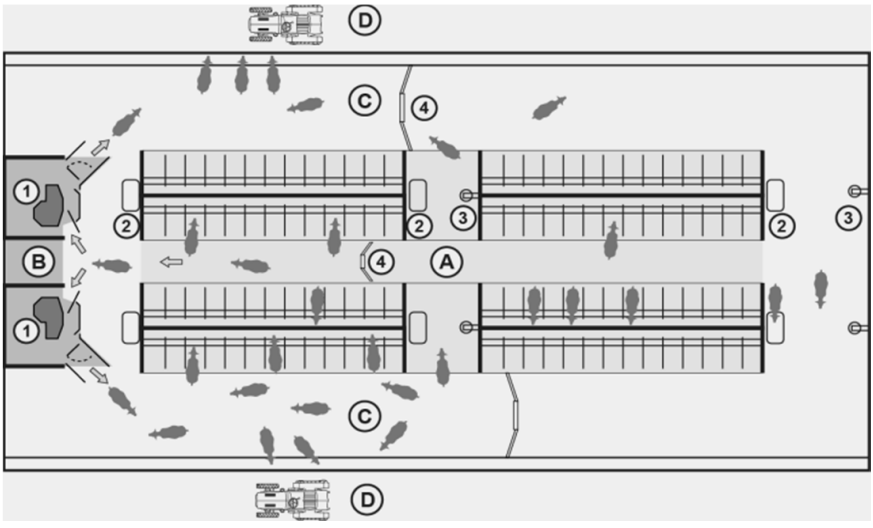


Şekil 21. Robotik sağım makinesi 1 (54)

Robotik sağım sistemlerinde bir ineğin sağım ünitesine girdikten sonra sağılana kadar geçen süre 1,12-2,61 dakika; sağım işlemi ise 6,71-7,69 dakika sürmektedir. Bir inek için ortalama sağım sayısı 2,36-2,85 civarındadır. Süt hattının dezenfeksiyon süresi ortalama 20 dakika, sütün soğutulduğu tankın yıkanması ise yaklaşık 60 dakika sürmektedir. Ortalama bir robot ile günde 61-68 inek sağılabilmektedir (55).



Şekil 22. Robotik sağım makinesi 2 (56)



Şekil 23. Robotik sağım işletmelerinin görünümü (55)

A: Dinlenme alanı, B: Süt odası, C: Yemleme alanı, D: Besleme hattı, 1: Robotik sağım sistemi, 2: Yalak tipi suluk, 3: Kaşıma fırçası, 4: Gübre sıyırıcı

5. Sonuç

Tarihsel süreç boyunca süt sağım sistemlerinde yaşanan gelişmeler, sağım personellerinin ve ineklerin konforunu sürekli artırarak günümüze kadar gelmiştir. Yaşanan gelişmeler, işçiliğin ucuz ve süt fiyatlarının düşük olduğu 1910-1950 yılları arasında istenilen rağbeti görmemiştir. Takip eden süreçte artan süt ihtiyacıyla beraber büyük sürüler oluşturulmaya başlanmıştır. Bu süreçte süt sağım makinelerine olan ihtiyaç sürekli olarak artmış ve süt sağım makineleri lüks değil ihtiyaç haline gelmiştir. Süt ihtiyacının artmasıyla birlikte yapılan araştırma ve geliştirme çalışmaları sonucunda birçok sağım sistemi geliştirilmiştir. En çok tercih edilenleri ise balık kılçığı, paralel, rotary sağım sistemi ve ekonomik duruma göre robotik sağım sistemidir.

Süt verimini etkileyen faktörler içinde direkt sağım sistemleri ve uygulamaları ile ilgili olanlar (sağım, hastalıklar, sağım sayısı ve idari uygulama) vardır. Bahsedilen bu gelişim süreci, bu faktörlerin olumsuz etkilerini azaltmıştır. Devam eden araştırma ve geliştirme çabalarının, hayvan refahını ve süt verimini artırıcı yönde olacağı beklenmektedir.

6. Kaynaklar

1. Üçer E. Örnek Süt Sığırcılığı İşletmelerindeki Süt Sağım Mekanizasyonunda İşgücü Gereksinimleri ve Maliyetlerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın. 2008.

2. Nalbant M. Süt sağma makinaları. Türkiye: Türkiye Zirai Donatım Kurumu Mesleki Yayınları; 1987.

3. Vleck RV. Early cow milking machines. http://www.americanartifacts.com/smma/milker/milker.htm. Erişim Tarihi: 10 Kasım, 2022.

4. Vleck RV. Cow Milker Patents. http://www.americanartifacts.com/smma/milker/patents.htm. Erişim Tarihi: 10 Kasım, 2022.

5. Anonim. İlk vakum sağım sistemi (Gutta perrcha). https://roboticsbiz.com/wp-content/uploads/2020/08/The-earliest-vacuum-milking-machine.jpg. Erişim Tarihi: 10 Kasım, 2022.

6. Anonim. Murchland sağım makinesi. https://www.ingenia.org.uk/getattachment/87292980-40fa-4e2a-a888-5e86a64d3e6f/robotic-milking.jpg. Erişim Tarihi: 10 Kasım, 2022.

7. Jiang H, Wang W, Li C, Wang W. Innovation, practical benefits and prospects for the future development of automatic milking systems. FASE 2017;4(1):37-47.

8. Akam DN. Technical Development of Milking Machines. BSAP Occasional Publication 1980;255-64.

9. Collins EJT. The uptake of the milking machine in England and Wales; 1992.

10. Anonim. Tekli seyyar sağım makinesi. https://5.imimg.com/data5/IK/XF/MY-41108745/portable-milking-machine-500x500.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

11. Anonim. İkili seyyar sağım makinesi. https://5.imimg.com/data5/SELLER/Default/2020/11/YU/IX/ZW/11097262/portable-single-bucket-cow-milking-machine-500x500.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

12. Anonim. Dörtlü seyyar sağım makinesi. https://agrimono.com/wp-content/uploads/2020/05/Four-Milking-Machine.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

13. Anonim. Büyük seyyar sağım sistemi. https://www.agromasters.gr/wp-content/uploads/2017/08/mobimaster-700x465.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

14. Anonim. Abreast sağım sistemi 1. https://d1hu4133i4rt3z.cloudfront.net/attachments/761/761258-91a5024eddfd47a9c3189d4cb8df0e32.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

15. Anonim. Abreast sağım sistemi 2. https://d1hu4133i4rt3z.cloudfront.net/attachments/763/763060-cb192076338d4f457e25d528fd075251.jpg. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

16. Anonim. Tandem sağım sistemi. https://www.milkline.com/56/tandem.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

17. Hillerton JE, Ohnstad I, Baines JR, Leach KA. Performance differences and cow responses in new milking parlours. Res J Dairy Sci 2002;69(1):75-80.

18. Whipp JI. Design and performance of milking parlours. Machine milking and lactation. 1992285-310.

19. Anonim. Tandem sağım sistemi. https://www.dairydiscoveryzone.com/sites/default/files/tandem_parlor.jpg. Erişim Tarihi: 11 Kasım 2022.

20. Grant O. The Diffusion of the Herringbone Parlour: A Case Study in the History of Agricultural Technology. 1998.

21. Anonim. Balıkkılçığı sağım sistemi. https://www.dairydiscoveryzone.com/sites/default/files/herringbone_parlor.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

22. Anonim. Balıkkılçığı sağım sistemi 2. https://fullwoodpacko.com/wp-content/uploads/2020/11/herringbone-gallery-02.jpg. Erişim Tarihi: 16 Kaım, 2022.

23. Anonim. Paralel sağım sistemi. https://s3.amazonaws.com/documents.boumatic.com/img/visuals/_featuredImage/FrontEndConversion_Front-Side.jpg?v=1661265215. Erişim Tarihi: 14 Kasım 2022.

24. Anonim. Paralel sağım sistemi. https://www.dairydiscoveryzone.com/sites/default/files/parallel_parlor.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

25. Vos HW. Some ergonomic aspects of parlour milking. Canadian Agricultural Engineering 1974;16(1):45-48.

26. Anonim. Rotary sağım sistemi. https://www.google.com.tr/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fwww.positiveaction.info%2Fpdfs%2Fparlour_supp_2017.pdf&psig=AOvVaw0MnoLmE6YJ17wOpodtvmUR&ust=1668450041384000&source=images&cd=vfe&ved=0CBAQjRxqFwoTCLjm2fXiq_sCFQAAAAAdAAAAABAN. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

27. Jacobs JA, Siegford JM. Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. J Dairy Sci 2012;95(5):2227-2247.

28. Ozolins A, Priekulis J, Laurs A. Research in rotary parlour operation. In: 11th International Scientific Conference: Engineering for rural development; 2012 2012; Jelgava, Latvia: Latvia University of Agriculture. 43-46.

29. Anonim. Rotary abreast sağım sistemi. https://www.fao.org/3/t0218e/T0218e83.gif. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

30. Anonim. Rotary tandem sağım sistemi. https://www.fao.org/3/t0218e/T0218e84.gif. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

31. Anonim. Rotary balıkkılçığı sağım sistemi. https://www.fao.org/3/t0218e/T0218e85.gif. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

32. Reppo B, Mikson E, Toropov S, Nurm N. Working environment of rotary milking parlour. Aktualni zadaci mehanizacije poljoprivrede. Zbornik radova, 35. međunarodnog simpozija iz područja mehanizacije poljoprivrede, Opatija, Croatia, 19-23 veljače 2007 2007309-320.

33. Sharipov DR, Yakimov OA, Gainullina MK, Kashaeva AR, Kamaldinov IN. Development of automatic milking systems and their classification. 2021: IOP Publishing. 012080.

34. Anonim. 7 Types of Milking Parlors, Best for Dairy Farms. https://dairyfarminghut.com/7-best-types-of-milking-parlors/. Erişim Tarihi: 13 Kasım, 2022.

35. Aykut Ö, Cennet O. Economic performance of robotic milking. MJAL 2018;8(2):35-51.

36. Schewe RL, Stuart D. Diversity in agricultural technology adoption: How are automatic milking systems used and to what end? Agr Hum Values 2015;32(2):199-213.

37. De Koning K, Rodenburg J. Automatic milking: State of the art in Europe and North America. Automatic milking - A better understanding. 1. Baskı. Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2004: 27-40.

38. Deng Z, Koop G, Lam T, van der Lans I, Vernooij J, Hogeveen H. Farm-level risk factors for bovine mastitis in Dutch automatic milking dairy herds. J Dairy Sci 2019;102(5):4522-4535.

39. Örs A, Oğuz C. Süt sağım robotları, satın almaya değer mi? In: XII. Ulusal Tarım Tarım Ekonomisi Kongresi, 3. Cilt; 2016 10 Mayıs 2016; Isparta, Türkiye. Isparta, Türkiye: Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü. 1605-1614.

40. De Koning K, Slaghuis B, Van Der Vorst Y. Milk quality on farms with an automatic milking system. Automatic Milking - A better understanding. 1. Baskı. Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2004: 311-320.

41. Berglund I, Pettersson G, Östensson K, Svennersten-Sjaunja K. Quarter milking for improved detection of increased SCC. Reprod Domest Anim 2007;42(4):427-432.

42. Bahlenberg P. İndividual pulsation ratios increase average milk flow by 8%. In: Proceedings of the Precision Dairy Conference and Expo; 2013; Mayo Civic Center, Rochester, Minnesota. 47-48.

43. Nogalski Z, Czerpak K, Pogorzelska P. Effect of automatic and conventional milking on somatic cell count and lactation traits in primiparous cows. Ann Anim Sci 2011;11(3):433-441.

44. Sitkowska B, Piwczynski D, Kolenda M, Rozanska-Zawieja J. The milking frequency of primiparous cows in their early stage of lactation and its impact on milking performance. Anim Prod Sci 2020;60(3):436-443.

45. Rotz CA, Coiner C, Soder K. Automatic milking systems, farm size, and milk production. J Dairy Sci 2003;86(12):4167-4177.

46. Rossing W, Hogewerf P, Ipema A, Ketelaar-de Lauwere C, De Koning C. Robotic milking in dairy farming. NJAS wageningen journal of life sciences 1997;45(1):15-31.

47. Güler S, Akmaz A. Sütçü sığırlarda laktasyon persistensini etkileyen faktörler. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi 2020;9(1):56-70.

48. van der Tol R, Kool P, Smink B. Increased AMS performance by optimized individual milk intervals. In: Proceedings of the Precision Dairy Conference and Expo; 2013; Mayo Civic Center, Rochester, Minnesota: University of Minnesota. 37-38.

49. Svennersten-Sjaunja K, Pettersson G. Pros and cons of automatic milking in Europe. Journal of Animal Science 2008;86(suppl_13):37-46.

50. Lyons NA, Kerrisk KL, Garcia SC. Effects of pre versus post-milking supplementation on cow traffic and performance in a pasture-based automatic milking system. In: Proceedings of the Precision Dairy Conference and Expo; 2013; Mayo Civic Center, Rochester, Minnesota: University of Minnesota. 43-44.

51. Anonim. Robotik sağım makinesi parçaları https://www.te-ta.com.tr/images/editorimages/edit/makine.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

52. Bijl R, Kooistra S, Hogeveen H. The profitability of automatic milking on Dutch dairy farms. J Dairy Sci 2007;90(1):239-248.

53. Prescott NB, Mottram TT, Webster AJF. Relative motivations of dairy cows to be milked or fed in a Y-maze and an automatic milking system. Appl Anim Behav Sci 1998;57(1):23-33.

54. Anonim. Robotik sağım makinesi 1. https://dairy-cattle.extension.org/wp-content/uploads/2019/08/Robotic-Milking.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

55. Halil Ü, Kuraloğlu H. Robotik sağım sistemlerinde optimum hayvan kapasitesinin belirlenmesi. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi 2016;12(2):149-156.

56. Anonim. Robotik sağım makinesi 2. https://www.lely.com/media/filer_public_thumbnails/filer_public/6c/27/6c277fc1-762f-43ea-85f7-72b3af2c1778/taurus_hero.jpg__900x520_q70_crop-smart_subject_location-1583%2C1220_subsampling-2_upscale.jpg. Erişim Tarihi: 14 Kasım, 2022.

BÖLÜM III

KEDİ VE KÖPEKLERİN D VİTAMİNİ METABOLİZMASI, EKSİKLİĞİ VE İHTİYACI

Vitamin D Metabolism, Deficiency and Need of Cats and Dogs

Reyda KIYICI[1]& Hasan Altan AKKAN[2]
Mehmet KARACA[3] & Bayram Kudret KARAAYVAZ[4]

[1](Dr. Öğr. Üyesi), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım Hayvancılık Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Süt ve Besi Hayvanı Yetiştiriciliği Programı, rkiyici@mehmetakif.edu.tr, ORCID 0000-0002-0667-5477

[2](Prof. Dr.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner İç Hastalıkları Anabilimdalı, hasanaltanakkan@mehmetakif.edu.tr, ORCID 0000-0002-5115-7687

[3](Prof. Dr.), Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner İç Hastalıkları Anabilimdalı, mkaraca@mehmetakif.edu.tr, ORCID 0000-0002-6070-2819

[4](Dr. Öğr. Üyesi), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım Hayvancılık Meslek Yüksek Okulu, Veteriner Laborant Programı, bkaraayvaz@mehmetakif.edu.tr, ORCID 0000-0002-2118-9813

1. Giriş

D vitamininin etkileri, hormonal, mineral metabolizması ve iskelet sağlığı ile ilgilidir. D vitamini, bağırsak kalsiyum ve fosfat emilimini arttırır, osteoklast farklılaşmasını ve kemikten kalsiyum geri emilimini uyarır ve kemik matriksinin mineralizasyonunu destekler. (1)

Raşitizm ve osteomalazi ile sonuçlanan, D vitamini eksikliğinin bu en şiddetli formu, ciddi iskelet mineralizasyon kusurları ve hipokalsemi ile karşımıza çıkmaktadır. (2) Yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliğinin kardiyovasküler hastalıkların, çeşitli kanser türlerinin ve tip 1 diabetes mellitus (T1D), multipl skleroz (MS) ve inflamatuar bağırsak hastalığı gibi otoimmün bozuklukların gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (3)

Son yıllarda, D vitamini reseptörünün (VDR) ve D vitamini aktive edici enzim 1-α-hidroksilazın (CYP27B1), bağırsak, pankreas, prostat ve bağışıklık sistemi hücreleri gibi kemik ve mineral metabolizmasında yer almayan birçok hücre tipinde eksprese edildiği bildirilmiştir. (3,4) Yapılan çalışmalar D vitamininin insan sağlığı açısından daha önce bilinenden çok daha geniş bir yer kapladığını ve önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Özellikle insan immünolojisi alanında, aktif metabolit kalsitriol-1,25 (OH)2D-'nin immün hücreler ve periferik dokular tarafından ekstrarenal sentezinin, lokal olarak aktif sitokinlere benzer immünomodülatör özelliklere sahip olduğu öne sürülmüştür. (5,6)

Kedi ve köpeklerin, derinin güneşine maruz kalması yoluyla D3 vitaminini sentezleyemedikleri için bu temel vitamini diyet yoluyla almaları önemlidir. (7,8) D vitamininin doğada aktif olmayan iki formu vardır: kolekalsiferol veya D3 vitamini ve ergokalsiferol veya D2 vitamini. D vitamini alındıktan sonra, 1,25-dihidroksivitamin D (1,25 (OH)2D3) olarak bilinen aktif bir vitamine dönüşene kadar çok adımlı bir enzimatik dönüşüme uğramaktadır. (9) Aktivasyondan sonra, D vitamini, kalsiyum ve fosfat homeostazının geleneksel rolünün ötesine geçen (10) biyolojik işlevlerine aracılık eden, steroid reseptörleri ailesini temsil eden bir reseptör olan D vitamini reseptörüne (VDR) bağlanır. (11)

Kemik metabolizması ve vitamin D fonksiyonları ile ilgili olarak, kalsitriolün hedef organları bağırsak, böbrekler, kemik dokusu ve paratiroid bezidir. (12,13) Bağırsakta kalsitriol, fosfat absorpsiyonunun yanı sıra transselüler ve pasif paraselüler kalsiyum taşınması üzerinde etki eder. (14,15) Böbreklerde kalsitriol, renal kalsiyum ve fosfat geri emilimini uyarır. Son olarak, kalsitriol, paratiroid hormonu (PTH) sekresyonunu düzenleyen paratiroid bezinde etki eder. Tüm bu

işlevler dolaylı olarak kemik büyümesini ve mineralizasyonunu düzenleyebilir. Ek olarak hem osteoblastların hem de kondrositlerin 1α-hidroksilaz enzimini ve VDR'yi (16) eksprese ettiği bilinmektedir ve D vitamininin kemik büyümesi ve mineralizasyon (17-19) ile kemiğin yeniden şekillenmesi üzerinde doğrudan etki edebildiği gösterilmiştir. (20)

D vitamininin kemik metabolizmasındaki önemi insanlarda iyi bilinmesine rağmen, eksikliği dünya çapında yaygındır. (21) Köpek ve kedilerde tam ve dengeli ticari mamaların yaygınlaşmasıyla birlikte geçmişte çok yaygın olan D vitamini eksikliği vakalarının teşhisinde azalma olmuştur. (22) Ancak, ev yapımı evcil hayvan mamalarına olan ilginin artmasıyla birlikte, D hipovitaminozu riski artmaktadır. (23,24) D vitamini eksikliğinin hipokalsemi ve hipofosfatemi ile sonuçlanabileceği ve sonuç olarak raşitizm veya osteomalazi ile ilişkili bozulmuş kemik mineralizasyonu ile karakterize edilen kemik hastalığına yol açabileceği bilinmektedir. (13,22) Ayrıca, diyetle alınan D vitamini eksikliği hem doğrudan hem de dolaylı olarak beslenmeyle ilgili sekonder hiperparatiroidizm. (NSHP) ile sonuçlanabilir. (13,25,26) Aşırı D vitamini de zararlıdır ve küçük hayvanlarda D hipervitaminozuna neden olur. Bunun nedeni, ticari gıda formülasyonunun yanlış hesaplanması (27-30), kemirgen öldürücülerin kazara tüketilmesi (31-35), kalsitriol glikozitler içerebilen yasemin gibi bazı bitkilerin tüketilmesi (36) ve kalsipotriol ve maksakalsitol gibi D vitamini analoglarına dayanan sedef hastalığı tedavisi için topikal merhemlerin kullanılması olabilmektedir. (37-40)

Akut D vitamini zehirlenmesi, polidipsi, poliüri anoreksi, kusma, kabızlık, nöbetler gibi klinik belirtilere neden olan hiperkalsemi ile sonuçlanır. Kronik zehirlenme durumunda, osteokondroz ve gecikmiş kemik yeniden şekillenmesi çoğunlukla büyümekte olan iri cins köpeklerde meydana gelebilmektedir. (41-43)

2. Küçük Hayvanlarda D Vitamini Metabolizması

Doğada kolekalsiferol ve ergokalsiferol olmak üzere iki D vitamini formu bulunur. Ergokalsiferol, UVB ultraviyole ışınlarına (290-315 nm) maruz kalma yoluyla mantarlarda ve bitkilerde bulunan ergosterolden sentezlenirken (44), kolekalsiferol, güneşe maruz kaldıktan sonra birçok memeli hayvanın derisinde sentezlenir. (45,46) Kolekalsiferolün öncüsü olan 7-dihidrokolesterol (bir kolesterol türevi), epidermisin derin katmanlarında, hücre zarlarının fosfolipid çift tabakasında bulunur. (41) 7-dihidrokolesterol, bir UVB fotonunu emer ve bu, pentanoperhidrofenantren döngüsünün B halkasının dokuzuncu ve 10'uncu karbonları arasındaki bağın fotolitik olarak kırılmasına izin vererek, iki kırık

halkası olan previtamin D3'ü oluşturur. Bu madde termostabildir ve ısı kaynaklı izomerizasyona uğrayarak özel, daha kararlı bir konfigürasyona sahip olan D3 vitaminine dönüşür. (47)

Köpekler ve kediler, 7-dihidrokolesterol'ü kolesterole dönüştüren 7-dihidrokolesterol-Δ7-redüktaz enziminin yüksek aktivitesi nedeniyle, güneşe maruz kalma yoluyla D3 vitamininin kutanöz sentezini gerçekleştiremezler. Bu nedenle, derideki 7-dehidrokolesterol konsantrasyonlarında önemli bir azalma meydana gelir. (9,45,46) How ve ark. yaptığı bir çalışmada (45), güneşe maruz kalmadan önce köpek, kedi ve sıçanların derilerindeki toplam 7-dehidrokolesterol konsantrasyonlarını belirlemişlerdir. Ölçüm sonucunda köpek ve kedilerin 7-dehidrokolesterol konsantrasyonlarının sıçanlara kıyasla ortalama olarak neredeyse 10 kat daha düşük olduğunu bildirilmişlerdir. Aynı çalışmada güneşe maruz kaldıktan sonra köpek ve kedi derisi ekstraktlarında D3 vitamini konsantrasyonlarında herhangi bir değişiklik olmazken, sıçan derisinde D3 vitamini konsantrasyonlarında 40 kat artış olduğu görülmüştür. Kedilerde yapılan bir in vivo çalışmada, 7-dihidrokolesterol-Δ7-redüktaz enzim inhibitörü verilen, D vitamini konsantrasyonu düşük olan yavru kedilerin, günde 2 saat ultraviyole ışığa maruz kaldıklarında D vitamini konsantrasyonunda progresif bir artış olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada enzim inhibitörü verilmeyen diğer grubun D vitamini konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. (46) Yazarlar yapılan bu çalışmada 7-dihidrokolesterol-Δ7-redüktazın yüksek aktivitesinin yeterli vitamin D3'ün deri sentezini önlediğini göstermişlerdir.

Kutanöz vitamin D3'ü sentezleyememe, Avustralya'da yapılan bir çalışmada köpeklerde D vitamini durumunda mevsimsel bir değişimin gözlenmediği gerçeğini haklı çıkarmaktadır. (48) D3 vitamininin köpek ve kedilerde deride sentezlenememesinin, doğada bir zamanlar bu hayvanların karaciğer ve yağ dokusunda D3 vitamini depolayan avları tüketmesiyle ilgili olduğuna inanılmaktadır. Bu nedenle av hayvanları düzenli tüketildiğinde D vitamini gereksinimleri karşılanmıştır. Dolayısıyla bu hayvanların kutanöz vitamin D3 sentezi yeteneğini geliştirmeleri gerekmemiştir. (9,49)

Köpekler ve kedilerde D vitamini konsantrasyonları tamamen diyetle alımlarına bağımlıdır. Besin kaynaklı olarak alınan D vitamininin, hem kolekalsiferol hem de ergokalsiferol formu, sindirim enzimlerine, safra asitlerine ve şilomikronlara bağlı bir süreçte emilir. (50) Emilimden sonra kolekalsiferol ve/veya ergokalsiferol, bir glikoprotein D vitamini bağlayıcı proteine (VDBP) bağlı olarak bağırsak lenfatik damarları ve portal sistem yoluyla karaciğere

taşınır ve burada karbon 25 üzerinden enzimler aracılığıyla meydana gelebilen bir hidroksilasyon sürecine girerler (51). Hayvanın dolaşımda yüksek kalsidiol konsantrasyonları varsa, emilen kolekalsiferol karaciğerde hidroksilasyon için taşınmak yerine yağ dokusunda ve daha az ölçüde kas dokusunda depolanabilir. (52)

Köpekler ergokalsiferol'ü kalsidiole ve kolekalsiferole dönüştürürler. (50) Bununla birlikte, kediler kolekalsiferolü daha verimli kullanır. (53) Köpekler daha omnivor bir doğaya sahiptir, bu nedenle doğada ergokalsiferol tüketirler ve daha sonra bu D vitamini formunu karaciğerde kalsidiol sentezlemek için kullanma becerisini geliştirirler. Buna karşılık, kediler katı etobur olarak kabul edilirler ve doğada ergokalsiferol tüketmezler, bu da onların bu maddeyi hepatik kalsidiol sentezi için daha az kullanma yeteneklerini haklı çıkarabilecek bir gerçektir. (9) Renal sentezin dolaşımdaki kalsitriolden büyük ölçüde sorumlu olduğunu belirtmekte fayda vardır. Bununla birlikte, insanlarda göğüs, paratiroid bezi, kolon, prostat, beta-pankreatik hücreler, plasenta, beyin, bağışıklık hücreleri, endotelyal hücreler ve keratinositler dahil olmak üzere diğer bazı dokuların 1α-hidroksilaz eksprese ettiği gösterilmiştir. (54) Kalsitriol aktif metabolit olmasına rağmen, kalsitriolün biyolojik yarı ömrü üç-altı saat arasında değişirken, 10 gün-üç hafta arasında değişen uzun bir biyolojik yarı ömre sahip olduğundan, D vitamini durumu dolaşımdaki kalsidiol konsantrasyonları ölçülerek değerlendirilir. (55) Ayrıca kalsidiol, kalsitriole kıyasla yaklaşık 1000 kat daha yüksek konsantrasyonlarda dolaşır. Hidrofobik (9,56) bir yapıya sahip olmanın yanı sıra daha az kararlı (13,57) olmasının kalsitriolün ölçülmesini zorlaştırdığı bildirilmektedir.

Kalsitriol Sentezi ve Katabolizmasının Düzenlenmesi

Kalsitriol sentezi regülasyonu, plazma kalsiyum ve fosfat konsantrasyonları, paratiroid hormonu (PTH), fibroblast büyüme faktörü (FGF-23), klotho geni ve kalsitonin (58,59) gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Hipokalsemik koşullarda, 1α-hidroksilaz promotör geninin uyarılmasıyla 1α-hidroksilaz aktivitesini doğrudan uyarılmasıyla veya indirekt olarak 1α-hidroksilaz mRNA ekspresyonunu ve daha sonra kalsitriol sentezini artırmak için cAMP'ye bağlı yol aracılığıyla 1α-hidroksilaz aktivitesini uyararak PTH salınımında bir artış meydana gelmektedir. (60)

Normokalsemik koşullar altında kalsitonin, transkripsiyon faktörü C/EBPβ'nin pozitif regülasyonu nedeniyle ortaya çıkan böbrek hücrelerinde

1α -hidroksilaz transkripsiyonunu indükleyerek serum kalsitriol konsantrasyonlarını korumak için hareket eder. (59) 24-hidroksilaz enzimi, D vitamini katabolizmasından sorumludur. Bu mitokondriyal enzim esas olarak proksimal renal tübüllerde bulunur, ancak bağırsak, keratinositler, fibroblastlar, lenfositler ve makrofajlarda da eksprese edilir. (61) 24-hidroksilaz enzimi iki metabolik yoldan geçer ve hem kalsidiol hem de kalsitriolde yan karbon zincirinde hidroksilasyonu destekler. Kalsitriol, hiperkalsemiye karşı koruyucu bir rol oynayarak 24-hidroksilaz aktivitesini uyarır. (62)

Yüksek serum fosfat konsantrasyonları durumlarında, osteoblastlar tarafından üretilen ve esas olarak osteositler tarafından üretilen önemli bir peptit olan FGF-23'ün sentezinde ve salınımında bir artış vardır, böylece böbreklerden fosforun atılımı uyarılır, 24-hidroksilaz aktivitesini arttırır, 1α- -hidroksilaz aktivitesini azaltır ve dolayısıyla kalsitriol sentezini azaltır, çünkü bu hormon bağırsak fosfor emilimi ve inorganik fosfatın tübüler reabsorpsiyon fonksiyonuna sahiptir. (62,63) Kalsitriol sentez regülasyonu, FGF-23'ün reseptörüne bağlanması için zorunlu ve gerekli bir koreseptör olan klotho adı verilen bir transmembran proteinden de etkilenir. (64)

3. Küçük ve Büyük Köpek Irkları Arasındaki D Vitamini Metabolizmasında Farklılıklar

Yapılan çalışmalar büyük ırk köpeklerin, düşük veya yüksek kalsiyum içerikli diyetler ile beslenen küçük ırk köpeklere kıyasla iskelet bozuklukları gelişimine daha fazla eğilimli olduğunu göstermektedir. (65) Hazewinkel ve Tryfonidou (66) tarafından yapılan bir çalışmada, aynı koşullar altında tutulan 14 haftalık büyük ırk ve küçük ırk köpeklerin D vitamini ana metabolitlerinin plazma konsantrasyonları ölçülmüştür. Çalışma sonucunda 25 (OH) D ve 1,25 (OH) 2D3 konsantrasyonlarında iki grup arasında fark olmadığı ancak büyük ırk köpeklerin, küçük ırk köpeklerden yaklaşık 10 kat daha düşük 24,25 (OH) 2D konsantrasyonlarına sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar, bu durumu büyük ve dev ırk köpeklerde görülen düşük plazma 24,25 (OH)2D konsantrasyonlarının, hızlı büyüme fazı sırasında endokondral ossifikasyondaki bozukluklarla ilişkilendirmektedir.

Başka bir çalışmada, Tryfonidou ve ark. (65), Danua yavrularının, minyatür kaniş yavrularına kıyasla daha yüksek plazma 1,25 (OH) 2D konsantrasyonları ve düşük plazma 24,25 (OH) 2D konsantrasyonları gösterdiğini bildirmiştir. Osteokondroz, kıkırdak mineralizasyonunun gecikmesine neden olan bir

olgunlaşma bozukluğudur. Hem 24,25 (OH)2D hem de 1,25 (OH)2D'nin kıkırdak hücrelerinin farklılaşmasında ve matriks mineralizasyonunda önemli rol oynadığı bilinmektedir. (67,68) Endokondral ossifikasyondaki bozuklukları önlemek için 24,25 (OH)2D ve 1,25 (OH)2D arasındaki fizyolojik denge çok önemlidir. (69)

Bu nedenle, büyük ve dev ırk köpeklerde bu D vitamini dihidroksile metabolitleri arasındaki dengesizlik, büyüme sırasında osteokondroz için daha büyük bir eğilim ile ilişkili görünmektedir. Yapılan bir diğer çalışmada Tryfonidou ve ark. (65), Danua yavrularında minyatür kaniş yavrularına göre daha yüksek plazma büyüme hormonu GH ve insülin benzeri büyüme faktörü IGF-1 konsantrasyonları gözlemlemişlerdir. Dev ırk köpeklerin daha düşük plazma 24,25 (OH)2D konsantrasyonlarına sahip olmasının nedeni henüz tam olarak açıklanamamıştır, ancak bu durumun bu hayvanlarda bulunan GH ve IGF-1 gibi hormonların dolaşımdaki konsantrasyonlarının daha yüksek olması ile açıklanabileceği görüşünü ileri sürmüşlerdir. (66) İnsanlarda, GH eksikliği olan çocuklarda (70), normal erişkinlerde (71) ve yaşlılarda (72) GH tedavisinden sonra dolaşımdaki 1,25 (OH)2D konsantrasyonlarında bir artış bildirilmiştir ve Condamine ve ark. (73), IGF-1'in, hipofosfatemi koşulları altında memeli böbrek hücrelerinde 1,25 (OH)2D sentezini uyardığını gözlemlenmiştir. Ek olarak, yüksek plazma GH ve IGF-I konsantrasyonları ile düşük plazma 24,25 (OH)2D konsantrasyonları (74) arasında bir ilişki olduğu ve ayrıca GH ve IGF-I'in 24-hidroksilaz aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. (75)

5. VDR Reseptörü

Brumbaugh ve Haussler (76), steroid hormonları için bir nükleer reseptör süper ailesine ait bir nükleer transkripsiyon faktörü olan D vitamini reseptörünü ilk kez tanımlamışlardır. (9,77,78) D vitamininin biyolojik aktivitesinin gerçekleşmesi için VDBP'ye bağlı dolaşımdaki kalsitriol hücre zarını geçer ve VDR'ye bağlanır. Bu bağlanmadan sonra, retinoik asit reseptörü (RXR) ile etkileşime girerek hedef genlerin D vitamini yanıt elemanları (VDRE) olarak bilinen promotör bölgeleri üzerinde etki gösteren bir kalsitriol-VDR-RXR heterodimeri oluşturan kalsitriol-VDR kompleksi oluşmaktadır. (79,80) Sonuç olarak, spesifik genlerin transkripsiyonunu veya baskılanmasını düzenleyen kalsitriol-VDR-RXR ile etkileşime giren pozitif ve negatif nükleer koaktivatörler ve transkripsiyon faktörlerini geliştiren bir dizi moleküler etkileşim gerçekleşir. (12,78,81) Gen indüksiyonu veya baskılanması altında, biyolojik bir yanıt için gerekli olan proteinlerin ekspresyonunda değişiklikler meydana gelir. (82,83)

Bu D vitamininin genomik yanıt süreci, insan genomunun neredeyse %10'unu temsil eden yaklaşık 2000 genin düzenlenmesini içerebilmektedir. (84)

VDR, kalsitriolün sfingolipid ve kolesterol açısından zengin hücre zarlarında bulunan VDR ile etkileştiği zaman ortaya çıkan genomik olmayan yanıtlar da gösterebilir. (85) Kalsitriolün bu reseptörlere bağlanmasına yanıt olarak, guanilat siklaz, fosfatidilinositol-3-kinaz (PIK 3), siklik adenozin monofosfat. (cAMP), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK); protein kinaz (PK) A ve fosfolipaz C (PLC) yolları, voltaja bağlı kalsiyum ve klor kanallarının açılması ve kalsiyumun sarkoplazmik retikulumdan mobilizasyonu gerçekleşir. Norman ve arkadaşlarına göre (86), bu mekanizmalar düz kas hücrelerinin endotelden göçüne, kalsiyumun duodenal epitel tarafından hızlı emilimine ve β-pankreatik hücreler tarafından insülinin ekzositozuna neden olur.

6. D Vitamininin Kemik Metabolizmasıyla İlgili İşlevleri

Kemik metabolizması ile ilgili D vitamini fonksiyonları ile ilgili olarak, kalsitriolün hedef organları bağırsak, böbrekler, kemik dokusu ve paratiroid bezidir. (12,13)

6.1. D Vitamininin Bağırsak Üzerindeki Etkileri

Bağırsakta, kalsitriol hem transselüler hem de pasif paraselüler kalsiyum taşınması üzerinde etkilidir. (8,9) Transselüler kalsiyum taşınması üç aşamadan oluşur: kalsiyum epitel kanalı geçici reseptörü potansiyel vanilloid tip 6 (TRPV6) yoluyla enterosit içine kalsiyum girişi; calbindin-D9k proteinine bağlı sitoplazmik kalsiyum transferi, kalsiyumun hücre içinden difüzyonunu ve kalsiyumun Ca2+–ATPaz (PMCA 1b) ve/veya bir Na-Ca değiştirici aracılığıyla bazolateral zardan ekstrüzyonunu kolaylaştırır (8), bu da kalsiyumun dolaşıma girmesine neden olur. D vitamini, TRPV6 ve calbindine-D9k'yi pozitif olarak düzenler ve sonuç olarak kalsiyum emiliminde bir artış olur. (87,88) D vitaminin TRPV6 ve calbindin-D9k regülasyonundaki önemi, intestinal calbindin-D9k mRNA'da %50'ye varan azalmanın yanı sıra TRPV6 mRNA'da %95'e varan azalmanın gözlemlendiği VDR'nin devre dışı bırakıldığı vahşi tip farelerde yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. (89,90)

Paraselüler taşıma esas olarak bağırsağın en distal bölgelerinde meydana gelir, ancak bağırsak boyunca da gerçekleşebilir. (91) Bu yol, bir lümen elektrokimyasal gradiyenti ve hücreler arası bağlantıların bütünlüğünden oluşur. (91,92) Enterositin apikal ve bazolateral membranları arasında yer alan sıkı

bağlantılar, epitel ve endotel hücre katmanlarında hücre adezyonunu sağlar. Bu bağlantılar, iyonların, proteinlerin, hücre iskeleti moleküllerinin ve sitoplazmik sinyal moleküllerinin geçişine birincil derecede bir engel oluşturur. (92) Ayrıca kalsitriol, konsantrasyon gradyanındaki farklılıklar nedeniyle kalsiyumun pasif olarak aktarıldığı kanalları oluşturan hücreler arası proteinler olan paraselinlerin ekspresyonunu uyarır. (87) Kalsiyum emilimine ek olarak, bağırsakta D vitamini ayrıca fosfat emilimi üzerinde de etkilidir. Kalsitriol, Na+ fosfat taşıyıcı (NaPi-IIb) yoluyla fosfat absorpsiyonunu uyarır, böylece kalsitriol, bir SLC34 çözünen taşıyıcılar ailesine (SLC34A2) karşılık gelen Na-Pi taşıyıcı ekspresyonunu arttırır. (93)

6.2. D Vitamininin Böbrekler Üzerindeki Etkileri

Kalsitriol renal kalsiyum geri emilimini uyarır, böylece renal epitel hücreleri yoluyla kalsiyumun taşınması, bağırsak epitel hücreleri yoluyla kalsiyumun taşınmasına benzer. Distal kıvrımlı tübüllerin ve toplayıcı kanalların apikal hücre zarında, kalsiyumun hücrelere taşınmasından sorumlu bir epitelyal kalsiyum kanalı (TRPV5) vardır. Kalsiyum taşınması, calbindin-D28K proteini aracılığıyla renal tübüler hücreler yoluyla gerçekleşir ve bazolateral hücre zarında, kalsiyumun kan dolaşımına taşınmasından sorumlu kalsiyum taşıyıcıları PMCA1b ve NCX vardır. (94) Ek olarak, epitelyal Ca21 kanalı (ECaC) adı verilen bir kalsiyum akış proteini keşfedilmiştir. ECaC, nefronun distal kısmında kalsiyumun aktif olarak yeniden emilmesinde rol oynar. (95-97) Kalsitriol, TRPV5, kalbindin-D28K, PMCA1b, NCX1 ve ECaC gen ekspresyonunu yukarı doğru düzenlemektedir. (13,98-100)

6.3. D Vitamininin Paratiroid Bezi Üzerindeki Etkileri

Kalsitriol reseptör mRNA'sının paratiroid bezinde yüksek ekspresyona sahip olduğu bilinmektedir. (101,102) D vitaminin aktif formunun bulunmasından sonra bu hormonun paratiroid bezi üzerindeki etkileri araştırılmaya başlanmış ve kalsitriolün primer sığır paratiroid hücre kültüründe PTH gen transkripsiyonunu azaltarak PTH üretimini azalttığı in vitro olarak gösterilmiştir. (103) Daha sonra, kalsitriolün sıçanlarda PTH mRNA düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir. (104) Kronik böbrek hastalığı (KBH) olan insanlarda PTH sentezini azaltma etkisi nedeniyle, sekonder renal hiperparatiroidizmi tedavi etmek için kalsitriol veya analogları kullanılmıştır. (105) Buna karşılık, Hostutler ve arkadaşları (106) tarafından sağlıklı ve kronik böbrek hastalığı (KBH) olan kedilerde yapılan bir çalışmada, kalsitriol ile 14 günlük oral tedaviden sonra serum

PTH konsantrasyonlarında ve serum iyonize kalsiyum konsantrasyonlarında hiçbir fark gözlenmediği bildirilmiştir. (106) İnsanlarda, KBH hastalarında kalsitriol tedavisi, PTH ve mineral metabolizması ile ilgisi olmayan renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi baskılama aktivitesi, proteinürinin azaltılması, glomerüler hipertrofi ile bağlantılı podosit kaybının azaltılması ve antiproliferatif ve antifibrotik etkiler dahil böbrekler üzerinde faydalı etkiler sağladığı bildirilmektedir. (107-110) Bu etkiler, kalsitriol tedavisinin KBH'nin ilerlemesini sınırladığı, sağ kalımı iyileştirdiği ve renal fonksiyonun korunması ile bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilen insan KBH hastalarında gösterdiği faydaları açıklamak için önemli görünmektedir. (109,111)

7. Küçük Hayvanlar İçin D Vitamini Gereksinimi ve Dozaj Önerileri

Yetişkin köpekler ve kediler ile üreme dönemindeki dişiler için D vitamini gereksinimlerini araştıran hiçbir çalışma bulunmadığından, öneriler büyüyen hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Mellanby (112) tarafından 1918'de yürütülen öncü bir çalışmada, raşitizmli köpekler için mamaya dahil edilen morina karaciğeri yağı ve tereyağı kullanımının bu hayvanların klinik durumunu iyileştirdiği gözlemledi. Dozlarla yapılan ilk çalışma 1939'da Arnold ve Elvehjem tarafından yayınlandı. (113) Bu yazarlar Danua yavruları ile iki deney gerçekleştirdiler ve büyümekte olan yavru köpekler için yaklaşık 3,8 kcal g-1'lik 100 g yiyecek için 20 IU D vitamini dozu önerdiler (212 IU kg^{-1} diyet 4 kcal g^{-1}) Kg başına 9,0 g kalsiyum ve 7,5 g fosfor). Ancak, köpekler için ilk D vitamini tavsiyesi ancak 1944 yılında Michaud ve Elvehjem (114) tarafından önerilmiş olup, burada yazarlar 10 IU ila 20 IU kg BW-1·d-1 alımını önermiştir. Son olarak, Tryfonidou (115) Danua yavrularına 500 IU kolekalsiferol.kg^{-1} içeren bir diyet kullandılar ve herhangi bir olumsuz kemik hastalığı gözlemlenmiştir. Kedilerle ilgili olarak, yapılan az sayıda çalışmada, kedi beslenmesinde farklı D vitamini konsantrasyonları değerlendirilmiştir. İlk çalışma Gershoff ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. (116) Araştırmacıların yaptığı çalışmada yavru kedilere haftada iki kez hayvan başına 250 IU kolekalsiferol oral takviye olarak uyguladıklarını ve bu hayvanlarda raşitizm önlendiğinin gözlemlendiği bildirilmiştir. (116) Ayrıca yazarlar, yetersiz D vitamini içeren besinler ile beslenen 12 aylıktan büyük kedilerde klinik belirtilerde gerileme gözlemledikleri için yetişkin kedilerin daha düşük D vitamini gereksinimlerine sahip olduklarını ileri sürmüşlerdir. Morris ve ark. (117) altı yavru kedi grubunu değerlendirdiği bir diğer çalışmada her grup farklı kolekalsiferol konsantrasyonlu bir diyet ile beslenmiştir (0.0,

120, 125, 250, 500, 750 veya 1000 IU kg^{-1} diyet). Bu çalışmada yazarlar, yavru kedilerin annelerine hamilelik ve emzirme döneminde düşük kolekalsiferol konsantrasyonlu diyetler vermiş ve böylece yavru kedi D vitamini rezervlerinde bir azalmaya neden olmuştur. Yavru kediler dokuz ila 22 haftalıkken diyetlerle beslendiği bu çalışmada plazma 25 (OH)D konsantrasyonlarının diyetle alınan kolekalsiferol ile doğrusal olarak arttığı fark edilmiştir. Ayrıca 0.0 ve 125 IU kolekalsiferol kg^{-1} rasyonuyla beslenen hayvanlar 34 haftalık olana kadar mamayı tükettiler. Çalışmanın bu bölümünde yazarlar, D vitamini eklenmeden mama tüketen hayvanların plazma 25 (OH)D konsantrasyonlarında keskin bir düşüş gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Ancak 125 IU kolekalsiferol kg-^{1} diyet ile beslenen kedilerin 22 ve 34. haftalarda dokuz haftalıkken olduğundan daha yüksek plazma 25 (OH)D konsantrasyonlarına sahip olduğu, bunun da 125 IU kolekalsiferol kg^{-1} içeren diyetin yavru kediler için daha uygun olacağını tespit etmişlerdir. Bununla birlikte yazarlar hem yavru kediler hem de hamile ve emziren kediler için bir güvenlik marjını korumak için 250 IU kolekalsiferol kg^{-1} dozunu tavsiye etmişlerdir. Morris ve Earle (118), büyüme döneminde olan yavru kedilerde, kalsiyum konsantrasyonları 3,8 ila 8,1 g/kg arasında ve sabit Ca:P oranı sahip olan, 125 IU kolekalsiferol kg^{-1} konsantrasyonunda saflaştırılmış diyet kullandıkları, başka bir çalışmada yazarlar, normal aralıkta plazma 25 (OH)D konsantrasyonlarını da gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

8. Köpek ve Kedilerde D Vitamini Eksikliği

Genetik mutasyonlara (118,119) bağlı konjenital anormalliklerle ilgili anormal D vitamini metabolizmasının yanı sıra dengesiz diyetlerin alımı da (13,24) D vitamini eksikliğine neden olabilmektedir. Son yıllarda ticari gıdaların üretiminin artmasıyla, köpek ve kedilerde diyetle alınan D vitamini eksikliği daha az yaygın hale gelmiştir. (22) Bununla birlikte, ev yapımı ve çiğ gıda kullanılan, uygun besleme stratejilerini içermeyen, dengesiz diyetlerin son zamanlarda artan kullanımı, hayvanlarda D vitamini eksikliği de dahil olmak üzere beslenme bozukluklarını beraberinde getirebilmektedir. (23,24) D vitamini eksikliği, raşitizm veya osteomalazi ile ilişkili bozulmuş kemik mineralizasyonu ile karakterize edilen kemik hastalığının klinik tezahürüne yol açabilen hipokalsemi ve hipofosfatemi ile sonuçlanmaktadır. (13,22) Raşitizm, büyüme kıkırdağının gecikmiş mineralizasyonu ve yeni birikmiş kemiğin yeniden şekillenmesinde başarısızlıkla karakterize edilen bir hastalıktır. (13,120) Osteomalazi ise kemiği yeniden şekillenmesi sırasında etkileyen anormal osteoid mineralizasyonudur, böylece mineralize olmayan kemik matrisi iskeletin tüm

kısımlarında birikir. (120,121) İnsanlarda, beslenme raşitizmi dünya genelinde bir hastalık sorunu olarak yeniden ortaya çıkmaya devam etmektedir. (121,122) İnsan raşitizmi genellikle maksimum büyüme hızına sahip olunan dönemler olan bebeklik döneminde ve ergenlik döneminde görülür. (123) Beslenmeyle ilgili raşitizm genç köpeklerde (120) ve kedilerde (115) rapor edilmiştir. (13) Ancak raşitizm, köpeklerde ve kedilerde D vitamini 1α-hidroksilaz eksikliği olarak da adlandırılan D vitamini bağımlı raşitizm tip I (VDDR-I), renal enzim 1α-hidroksilazı kodlayan gendeki bir kusur nedeniyle eksikliğinden kaynaklanan otozomal resesif bir hastalıktır.

Etkilenen hayvanlar normal serum kalsidiol konsantrasyonlarına ve düşük kalsitriol konsantrasyonlarına sahiptir. (118,124) Vitamin D'ye bağımlı raşitizm tip II (VDDR-II), hayvanlarda kalsitriole son organ direncinin bir sonucu olarak da ortaya çıkabilir ve bu genellikle VDR'yi kodlayan gende ikincil bir kusurdur. (118,119) Vitamin D'ye bağımlı raşitizm tip II. (VDDR-II), hayvanlarda kalsitriole karşı gelişen organ direncinin bir sonucu olarak da ortaya çıkabilir ve bu genellikle VDR'yi kodlayan gende ikincil bir kusurdur. (118,119) Bir kedide, hipokalsemi, hiperfosfatemi ve anormal kemik kalsifikasyonu, gecikmiş diş çıkarma ve hiperparatiroidizm gibi iskelet anormallikleri ile karakterize bir kedide VDDR-I vakası tespit edilmiştir. (124) Bu vakada araştırmacılar düşük kalsitriol konsantrasyonları ile birlikte yapılan genetik analizlerle VDDR-I teşhisini kanıtladıklarını bildirmişlerdir. Bundan sonra VDDR-I varyasyonları bildirildi. Grahn ve ark. (125) kedi vitamin D'ye bağımlı raşitizm tip 1A'ya (VDDR-IA) neden olan bir CYP27B1 mutasyonu vakası ile ilgili ve Teshima ve ark. (126) vitamin D'ye bağlı raşitizm tip 1B (VDDR-IB) olan bir kedide tanımlanan CYP2R1'in genetik bir varyantını tanımlamış ve bildirmiştir. Bu değişiklik, iyonize kalsiyum ve kalsitriolün düşük serum konsantrasyonlarına neden olmuştur ve radyografik incelemede hem kemik demineralizasyonu hem de anormal büyüme plakları gözlendiği bildirilmiştir. Her durumda, oral kalsitriol uygulaması kedinin sağlığını iyileştirdiği gözlenmiştir. (124,126) VDDR-I kedilerde bildirilmiş olmasına rağmen, yaygınlığına ilişkin çok az araştırma vardır. Ancak tanı genetik analiz gerektirdiğinden bu tür çalışmaların yapılması meşakkatli olmaktadır.

VDDR-II, köpeklerde ve kedilerde bildirilmiştir ve hipokalsemi, sekonder hiperparatiroidizm, düşük kemik mineralizasyonu, raşitizm ve bazı durumlarda alopesi ile karakterize edilen bir hastalıktır. (119,127) VDDR-I vakalarıyla karşılaştırıldığında dolaşımdaki kalsiyum konsantrasyonlarını artırmak daha zor olduğu için, etkilenen hayvanlar kalsiyum desteğiyle bağlantılı olarak daha

yüksek dozlarda kalsitriol verilerek tedavi edilmiştir. (119,127) Kalsitriol ve kalsiyum ilişkisine rağmen, VDDR-II'den etkilenen hayvanlar genellikle kalıcı hipokalsemi göstermiştir. Godfrey ve ark. (127), beş ay boyunca 110 ng/kg/gün kalsitriol ve 3410 mg/kg/gün kalsiyum karbonat uygulamasından sonra VDDR-II'li bir kedide plazma kalsiyum konsantrasyonlarında hiçbir değişiklik gözlemlemediklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Levine ve ark. (119), 64 ng/kg/gün kalsitriol ve 64 mg/kg/gün kalsiyum karbonat takviyesinden sonra VDDR-II teşhisi konan bir köpekte serum kalsiyum konsantrasyonlarında artış bulunamadığını gözlemlemişlerdir. Başka bir metabolik kemik hastalığı olan osteomalazi, köpeklerde veya kedilerde nadiren klinik belirtilere neden olur. Ancak kemik ağrısının tespit edilememesi ve evcil hayvanların radyografilerinin duyarsız olması bu durumun teşhisini güçleştirebileceğini düşündürmektedir. İnsanlarda, bu hastalığın insidansı dünya genelinde de büyük ölçüde hafife alınmıştır. (13) Osteomalazi, kıkırdak büyümesi durduktan sonra ortaya çıkan bir yetişkin hastalığıdır. Hayvanlarda klinik belirtiler yaşa, büyüme hızına ve aktivite seviyelerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Memelilerde lezyonlar, hızlı büyüme bölgelerindeki uzun kemiklerde daha belirgindir. Yetişkin canlının vücudunun ağırlığı altında kemikler bükülürler ve şekil bozuklukları ortaya çıkar. Yaşlı hastalarda kas güçsüzlüğünün yanı sıra kırıklar da oldukça yaygındır. (119,128) Böyle hastalarda kalsiyum takviyelerinin faydalı olduğu bildirilmektedir. (108)

9. Beslenmeye Bağlı Sekonder Hiperparatiroidizm

Beslenmeyle ilgili sekonder hiperparatiroidizm. (NSHP), dengesiz diyetler tüketen evcil hayvanlarda beslenme eksikliğinin yaygın bir sonucudur. (129,130) Düşük kalsiyum konsantrasyonları, optimal diyet kalsiyum konsantrasyonu varlığında bile aşırı diyet fosforu konsantrasyonları veya D vitamini eksikliği ile ilişkili olarak indüklenebilmektedir. (131) Diyetteki D vitamini eksikliği hem doğrudan hem de dolaylı olarak NSHP ile sonuçlanabilir. Kalsitriol reseptör mRNA'sı paratiroid bezinde yüksek oranda eksprese edildiği bildirilmektedir (101,102), böylece D vitamini de doğrudan PTH sekresyonunu etkiler. Kalsitriolün işlevlerinden biri de büyüme faktörlerindeki (dönüştürücü) azalmaya bağlı olarak paratiroid bezi hücrelerinin büyümesini baskılayarak PTH sentezini azaltmak olduğundan, düşük D vitamini alımı kalsitriolün dolaşımdaki konsantrasyonlarında azalmaya ve bu da PTH sentezinde artışa neden olur. (13,25)

Ayrıca, düşük D vitamini diyet konsantrasyonları mevcut olduğunda, kalsiyum emiliminde bir azalma olur ve bu da hipokalsemi ile sonuçlanabilir. (132,133) Dolaşımdaki düşük kalsiyum konsantrasyonları, paratiroid bezindeki kalsiyum reseptörlerini uyararak, NSHP gelişiminde D vitamininin dolaylı bir rolünü karakterize eden PTH'nin (26) üretimine ve salgılanmasına yol açabilir. Dolaşımdaki aşırı PTH'nin bir sonucu olarak osteositlerin ve osteoklastların sayısı artar ve kemikten hücre dışı sıvı kompartmanına kalsiyum mobilizasyonu gerçekleşir. (132,134)

NSHP teşhis edilen köpeklerde ve kedilerde yapılan çalışmalarda bu değişikliğin genellikle kemik büyümesi için yüksek kalsiyum ihtiyacı nedeniyle bu genç hayvanların tam ete dayalı diyetler ile beslenmeleri neticesinde geliştiği kanısına varılmıştır. (26,129,135) NSHP'den etkilenen altı yavru kediyle ilgili bir raporda, düşük kalsiyum ve fosfor konsantrasyonlarına sahip olan bir diyet ile beslenen altı kediden dördü tam ete dayalı bir diyetle beslendi ve diğer iki hayvanda, yalnızca sığır eti/tavuk ve pirinç içeren ev yapımı bir diyetle beslendi. Bazılarında spontan kırıklar veya eksitasyon, kas seğirmesi veya nöbetle sonuçlanan şiddetli osteopeni gözlemlenmiştir. Dengeli bir diyet ile beslenen, parenteral kalsiyum glukonat takviyesi alan ve kafes istirahati uygulanan dört kedide klinik olarak iyileşme gözlenirken, diğer iki kedide omurga kırıkları ve sekonder ilerleyici nörolojik bozukluklar nedeniyle ötenazi yapılmak zorunda kalındığı bildirilmiştir. (135)

Araştırmacılar, beslenme önerilerini karşılayan uygun mamaya geçişin hayvanın iyileşmesini desteklemek için yeterli olduğunu bildirmektedirler. (130) Kalsiyum mobilizasyonu nedeniyle kemiklerdeki morfolojik değişiklikler, kemiklerde gözenekli bir yapının oluşumuna ve kemiklerin kırılmaya eğilimli hale gelmesine sebep olmaktadır. Fibröz doku ile olgun kemik replasmanı, hayvanlarda özellikle çene kemiklerini etkileyen fibröz osteodistrofi gelişmesine yol açabilir. (13,129,130) De Fornel-Thibaud ve ark. (129), kalsiyum ve D vitamininden yoksun ev yapımı bir diyet tüketen altı yaşında, kısırlaştırılmış dişi bir rottweilerda maksilla ve mandibula şişmesinden dolayı lastik çene sendromu karakterize yüzde büyüme şekillenmiş köpeğin kafatasının radyografik ve tomodensitometrik incelemelerinde kafa kemiklerinde ileri derecede osteopeni gözlendiklerini bildirmişlerdir. Yapılan incelemeler sonucunda hayvanın son derece düşük serum kalsidiol konsantrasyonlarına (<0,7 nmol/L; referans aralığı 19 ila 90 nmol/L) ve yüksek plazma PTH konsantrasyonlarına (104,6 pmol/L; referans aralığı 2 ila 13 pmol/L) sahip olduğu gözlenmiş ve yeterli bir diyete geçildiğinde

artan kafatası mineralizasyonu ile hayvanda klinik iyileşme gözlediklerini bildirmişlerdir. NSHP'li hayvanların tedavisi, tam ve dengeli bir diyet içerir, ancak bazen kalsiyum takviyelerinin eklenmesi gerekir. Kemiklerdeki kırılma riskini azaltmak için tedavinin ilk birkaç haftasında kafes istirahatine dikkat edilmesi de önemli yer tutmaktadır. Komplike olmayan vakalar için prognoz iyidir ve genellikle diyet düzeltmesi vücuttaki kalsiyum, fosfor ve PTH seviyelerini normalleştirir. Öte yandan, spinal kırıklar veya daha ciddi kemik değişiklikleri gelişen komplike vakalar, kötü bir prognozu desteklemektedir. (135)

10. Küçük Hayvanlarda D Vitamini Toksikozu

Akut D vitamini toksikozu belirtileri, serum toplam kalsiyum konsantrasyonları 18 mg/dL'yi aştığında ve serum iyonize kalsiyum konsantrasyonları 1.40 mmol/L'den yüksek olduğunda karşımıza çıkan hiperkalsemi gelişimi ile ilişkilendirilmektedir. Klinik belirtiler arasında, idrarın konsantre edilmesinde ve susama merkezinin uyarılmasında zorluk nedeniyle polidipsi ve poliüri, gastrointestinal düz kasın uyarılabilirliğinin azalmasının bir sonucu olarak anoreksi, kusma ve kabızlık ve azalmış nöromüsküler uyarılabilirlik zayıflık, depresyon, kas seğirmesi ve nöbetlere neden olabilmektedir.

D vitamini toksikozu etiyolojisi hiperkalsemi ile ilişkili olduğundan kemik rezorpsiyonunu engelleyen yöntemler en iyi tedavi alternatifidir. Bu senaryoda, daha önce insanlar ve köpekler için tanımlanmış olan intravenöz bisfosfonat enjeksiyonları en iyi alternatiftir. (136,137) D vitamini toksikozunu tedavi etme yaklaşımının sadece hiperkalseminin ciddiyetine değil aynı zamanda gelişim dönemine (akut ve kronik) bağlı olduğunu dikkate almak önemlidir. Hafif hiperkalsemisi olan ve normal Ca×P ürünü olan asemptomatik hastalar acil tedavi gerektirmeyebilirken, Ca düzeylerinde şiddetli akut artış olan bireylerde daha agresif tedavi gerektirebilir. Kedilerde kazara gelişen besinsel D vitamini toksikozu bildirilmiştir (28-30) ve bu vakalarda, yumuşak doku kalsinozuna bağlı olarak solunum rahatsızlığı önemli bir klinik bulgudur. Hepsinin semptomlarına göre tedavi edilmiş, ancak yalnızca Crossley ve ark. (30), bisfosfonat kullanmış ve iyi bir klinik sonuç elde edildiği bildirilmiştir.

Crossley ve ark. (30) yaptığı çalışmada, D vitamini zehirlenmesi ve hiperkalsemisi olan üç kediden sadece birine pamidronat verilmiş, çünkü hiperkalsemi için konvansiyonel tedavi (sıvı tedavisi, furosemid, prednizon) diğerlerinden farklı olarak dolaşımdaki kalsiyum konsantrasyonlarını etkilemediği bildirilmiştir.

Hipervitaminoz D'nin nedenleri her zaman beslenme kaynaklı değildir ve en yaygın oluşum nedeni köpeklerde tanımlanan kolekalsiferol rodentisitlerdir. (31-34) Sarkoidoz ve Wegener granülomatozu gibi granülomatöz hastalıklar da metabolit aracılı hiperkalsemi olarak adlandırılan düzensiz kalsitriol üretimi yoluyla hiperkalsemiye sebep olabilmektedir. (138) Ek olarak, yasemin (36) gibi kalsitriol glikozitleri içeren bitkilerin ve sedef hastalığı tedavisinde kullanılan kalsipotriol ve maxacalcitol gibi D vitamini analoglarına dayalı topikal merhemlerin kazara tüketilmesi gibi D vitamini toksisitesinin başka olası nedenleri de vardır. (37-40)

11. D Vitamini ve Klasik Olmayan Etkileri

Yapılan çalışmalar ile D vitamininin kemik metabolizması ile ilgili olmayan çok sayıda fonksiyonla da ilişkili olduğu gösterilmektedir. (9,50) İnsan bağışıklık hücrelerinde D vitamini reseptörlerinin varlığının keşfedildiği 1983 yılından itibaren, D vitamininin kemik metabolizması üzerindeki etkilerinin dışında araştırmalar yoğunlaşmış ve hemen hemen tüm vücut dokularındaki hücrelerin D vitamini reseptörleri eksprese ettiği keşfedilmiştir. (3) Küçük hayvanlarda düşük D vitamini dolaşım konsantrasyonları ile kanser (139-142), konjestif kalp yetmezliği (143,144), gastrointestinal hastalıklar (145-149), akut pankreatit (150), akut poliradikülonürit (151), KBH (152-155) ve bulaşıcı hastalıkların bağlantılı olduğu ortaya konulmuştur. (156-159)

Ayrıca hastanede yatan kedilerde, 25(OH)D kategorik bir değişken olarak temsil edildiğinde, alt tertilde dolaşımdaki 25(OH)D konsantrasyonlarına sahip kedilerin, referans kategori ve orta tertildeki kedilere kıyasla daha yüksek ölüm riskine sahip olduğu gösterilmiştir. (160)

Kritik durumda hastanede yatan köpeklerle yapılan bir çalışmada, tanı anında 25(OH)D serum konsantrasyonlarının, kronik enteropatili köpekler için ölüm oranının bir göstergesi olduğu gözlenmiştir. (149)

Ek olarak kalsitriolün mastositomalı köpeklerde in vivo antineoplastik etkilerin yanı sıra; in vitro antineoplastik etkileri, osteosarkom (161), skuamöz hücreli karsinom (162), prostat epitel tümörü (163), anal kese adenokarsinomu (164), meme bezi kanseri dahil olmak üzere çeşitli köpek tümörü tiplerinde gösterilmiştir. (165) Her iki hipotezi de destekleyen kanıtlarla birlikte, düşük D vitamini durumunun yukarıda belirtilen hastalıkların nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu henüz net değildir. (9)

12. Sonuç

Sonuç olarak kedi ve köpeklerde D vitamini metabolizması, diğer memeli hayvan türlerinden farklılık göstermektedir. Üreme dönemindeki yetişkin (dişi ve erkek) kedi ve köpeklerin D vitamini gereksinimleri hakkında bilgi oldukça yetersizdir. Ev yemekleri veya ev yapımı yeni ternd diyetlerin D vitamini eksikliği geliştirme riskini arttırabildiği ve gıda formülasyonlarında uygulanan hataların, kazara tüketilen kemirgen öldürücülerin, kalsitriol glikozit içeren bitkilerin ve D vitamini analoglarına dayalı topikal merhemlerin yanlış kullanımı veya hayvanlar tarafından yanlışlıkla tüketimi sonucu olarak D vitamini zehirlenmeleri ortaya çıkabilmektedir.

Kaynaklar

1. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. Endocr. Rev. 2008; 29:726-776.

2. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. Clin. Endocrinol. 2012; 76:315-325

3. Mughal MZ. Rickets. Curr. Osteoporos. Rep. 2011; 9:291-299.

4. Holick MF. Vitamin D deficiency. N. Engl. J. Med. 2007; 357:266-281.

5. Hewison M, Gacad MA, Lemire J, Adams JS. Vitamin D as a cytokine and hematopoetic factor. Rev. Endocr. Metab. Disord. 2001; 2:217-227.

6. National Research Council. (NRC) Nutrient Requirements of Dogs and Cats; National Academies Press: Washington, DC: USA; 2006.

7. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: From science to health claims. Eur. J. Nutr. 2013; 52:429-441.

8. Zafalon RV, Risolia LW, Pedrinelli V, et al. Vitamin D metabolism in dogs and cats and its relation to diseases not associated with bone metabolism. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2020; 104:322-342.

9. Pike W, Christakos, S. Biology and mechanisms of action of the vitamin D hormone. Endocrin. Metab. Clin. 2017; 46:815-843.

10. Goltzman D. Functions of vitamin D in bone. Histochem. Cell Biol. 2018; 149:305–312.

11. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2005; 289: F8-F28.

12. Dittmer KE, Thompson KG. Vitamin D metabolism and rickets in domestic animals: A review. Vet. Pathol. 2011; 48:389-407.

13. Wasserman, RH. Vitamin D and intestinal absorption of calcium: A view and overview. In Vitamin D; Feldman, J.W.P.D., Glorieux, F., Eds, Academic Press: San Diego CA: USA; 2005; p. 411.

14. Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, et al. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D dependent Ca^{2+} absorption between enterocytes. Mol. Biol. Cell. 2008; 19:1912-1921.

15. St-Arnaud, R. The direct role of vitamin D on bone homeostasis. Arch. Biochem. Biophys. 2008; 473: 225-230.

16. Li YC, Pirro AE, Amling M,et al. Targeted ablation of the vitamin D receptor: An animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1997, 94, 9831–9835.

17. Baldock PA, Thomas GP, Hodge JM, et al. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: Suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. J. Bone Miner. Res. 2006; 21:1618-1626.

18. Fretz JA, Zella LA, Kim S, Shevde NK, Pike JW. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 regulates the expression of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 via deoxyribonucleic acid sequence elements located downstream of the start site of transcription. J. Mol. Endocrinol. 2006; 20: 2215-2230.

19. Anderson PH, Atkins GJ. The skeleton as an intracrine organ for vitamin D metabolism. Mol. Asp. Med. 2008; 29: 397-406.

20. Hurst EA, Homer NZ, Mellanby RJ. Vitamin D metabolism and profiling in veterinary species. Metabolites 2020; 10:371.

21. Uhl EW. The pathology of vitamin D deficiency in domesticated animals: An evolutionary and comparative overview. Int. J. Paleopathol. 2018; 23:100-109.

22. Laflamme DP, Abood SK, Fascetti AJ, et al. Pet feeding practices of dog and cat owners in the United States and Australia. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2018; 232: 687-694.

23. Verbrugghe AD, Paepe L, Verhaert J, et al. Metabolic bone disease and hyperparathyroidism in an adult dog fed an unbalanced homemade diet. Vlaams Diergeneeskd. Tijdschr. 2011; 80:61-68.

24. Dusso AS, Thadhani R, Slatopolsky E. Vitamin D receptor and analogs. Semin. Nephrol. 2004; 24:10-16.

25. Parker VJ, Gilor C, Chew DJ. Feline hyperparathyroidism: Pathophysiology, diagnosis and treatment of primary and secondary disease. J. Feline Med. Surg. 2015; 17:427-439.

26. Mellanby RJ, Mee AP, Berry JL, Herrtage ME. Hypercalcaemia in two dogs caused by excessive dietary supplementation of vitamin D. J. Small Anim. Pract. 2005; 46: 334-338.

27. Morita T, Awakura T, Shimada A, Umemura T, Nagai T, Haruna A. Vitamin D toxicosis in cats: Natural outbreak and experimental study. J. Vet. Med. Sci. 1995; 57: 831-837.

28. Wehner A, Katzenberger J, Groth A, et al. Vitamin D intoxication caused by ingestion of commercial cat food in three kittens. J. Feline Med. Surg. 2013; 15:730-736.

29. Crossley VJ, Bovens CP, Pineda C, Hibbert A, Finch NC. Vitamin D toxicity of dietary origin in cats fed a natural complementary kitten food. J. Feline Med. Surg. 2017; 3.

30. Gunther R, Felice LJ, Nelson RK, Franson AM. Toxicity of a vitamin D3 rodenticide to dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1988; 193:211-214.

31. Fooshee SK, Forrester SD. Hypercalcemia secondary to cholecalciferol rodenticide toxicosis in two dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1990; 196:1265-1268.

32. Livezey KL, Dorman DC, Hooser SB, Buck WB. Hypercalcemia induced by vitamin-D3 toxicosis in 2 dogs. Canine Pract. 1991; 16:26-32.

33. Berry CR, Gallaway A, Thrall DE, Carlisle C. Rodenticide toxicity in fourteen dogs. Vet. Radiol. Ultrasound 1993; 34:391-396.

34. Gerhard C, Jaffey JA. Persistent increase in serum 25-hydroxyvitamin D concentration in a dog following cholecalciferol intoxication. Front. Vet. Sci. 2020; 6: 472-477.

35. Finch NC. Hypercalcaemia in cats: The complexities of calcium regulation and associated clinical challenges. J. Feline Med. Surg. 2016; 18:387-399.

36. Durtnell RE. Canine vitamin D toxicosis. J. Small Anim. Pract. 1999; 40:550.

37. Hilbe M, Sydler T, Fischer L, Naegeli H. Metastatic calcification in a dog attributable to ingestion of a tacalcitol ointment. Vet. Pathol. 2000; 37:490-492.

38. Torley D, Drummond A, Bilsland DJ. Calcipotriol toxicity in dogs. Br. J. Dermatol. 2002; 147: 1270.

39. Nakamura K, Tohyama N, Yamasaki M, Ohta H, Morishita K, Takiguchi M. Hypercalcemia in a dog with chronic ingestion of maxacalcitol ointment. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 2016; 52: 256-258.

40. Schoenmakers I, Hazewinkel HAW, Voorhout G, Carlson CS, Richardson D. Effect of diets with different calcium and phosphorus contents on the skeletal development and blood chemistry of growing great danes. Vet. Rec. 2000; 147: 652-660.

41. Tryfonidou MA, Holl MS, Stevenhagen JJ, et al. Dietary 135-fold cholecalciferol supplementation severely disturbs the endochondral ossification in growing dogs. Domest. Anim. Endocrinol. 2003; 24:265-285.

42. Cline J. Calcium and vitamin D metabolism, deficiency, and excess. Top. Companion Anim. Med. 2012; 27:159-164.

43. How KL, Hazewinkel HAW, Mol JA. Dietary vitamin D dependence of cat and dog due to inadequate cutaneous synthesis of vitamin D. Gen. Comp. Endocrinol. 1994; 96: 12-18.

44. Morris, J.G. Ineffective vitamin D synthesis in cats is reversed by an inhibitor of 7-dehydrocholestrol-Δ7-reductase. J. Nutr. 1999; 129: 903-908.

45. Norman A. Vitamin D; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands; 2012.

46. Laing CJ, Malik R, Wigney DI, Fraser DR. Seasonal vitamin D status of greyhounds in Sydney. Aust. Vet. J. 1999; 77:35-38.

47. Morris, J.G. Idiosyncratic nutrient requirements of cats appear to be diet-induced evolutionary adaptations. Nutr. Res. Rev. 2002; 15:153-168.

48. Parker VJ, Rudinsky J, Chew DJ. Vitamin D metabolism in canine and feline medicine. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2017; 250:1259-1269.

49. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. Trends Biochem. Sci. 2004; 29:664-673.

50. Heaney RP, Horst RL, Cullen DM, Armas LA. Vitamin D3 distribution and status in the body. J. Am. Coll. Nutr. 2009; 28: 252-256.

51. Morris JG. Cats discriminate between cholecalciferol and ergocalciferol. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 2002; 86: 229-238.

52. Norman AW. From vitamin D to hormone D: Fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. Am. J. Clin. Nutr. 2008; 88: 491S-499S.

53. Dechant KL, Goa KL. Calcitriol. Drugs Aging 1994; 5: 300-317.

54. Souberbielle JC, Cavalier E, Delanaye P, et al. Serum calcitriol concentrations measured with a new direct automated assay in a large population of adult healthy subjects and in various clinical situations. Clin. Chim. Acta 2015; 451: 149-153.

55. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. Physiol. Ver. 1998; 78: 1193-1231.

56. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J. Bone Miner. Res. 2004; 1: 429-435.

57. Zhong Y, Armbrecht HJ, Christakos S. Calcitonin, a regulator of the 25-hydroxyvitamin D3 1α-hydroxylase gene. J. Biol. Chem. 2009; 284: 11059-11069.

58. Rost CR, Bikle DD, Kaplan RA. In vitro stimulation of 25- hydroxycholecalciferol 1α-hydroxylation by parathyroid hormone in chick kidney slices: Evidence for a role for adenosine 30,50-monophoshate. Endocrinology 1981; 108: 1002-1006.

59. Zierold C, Mings JA, Deluca HF. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3-24-hydroxylase mRNA by 1,25-dihydroxyvitamin D3 and parathyroid hormone. J. Cell. Biochem. 2003; 88: 234-237.

60. De Brito Galvao JF, Nagode LA, Schenck PA, Chew DJ. Calcitriol, calcidiol, parathyroid hormone, and fibroblast growth factor-23 interactions in chronic kidney disease. J. Vet. Emerg. Crit. Care 2013; 23: 134-162.

61. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. J. Lipid Res. 2014; 55: 13-31.

62. Norman AW, Okamura WH, Bishop JE, Henry HL. Update on biological actions of 1α, 25 (OH) 2-vitamin D3. (rapid effects) and 24R, 25 (OH) 2-vitamin D3. Mol. Cell. Endocrinol. 2002; 197: 1-13.

63. Seiler S, Heine GH, Fliser D. Clinical relevance of FGF -23 in chronic kidney disease. Kidney Int. 2009; 76: S34-S42.

64. Tryfonidou MA, Holl MS, Vastenburg M, et al. Hormonal regulation of calcium homeostasis in two breeds of dogs during growth at different rates. Anim. Sci. J. 2003; 81: 1568-1580.

65. Hazewinkel HA, Tryfonidou MA. Vitamin D3 metabolism in dogs. Mol. Cell. Endocrinol. 2002; 197: 23-33.

66. Planchot JJ, DuBois MB, Halpern S, Cournot-Witmer G, Garabedian M, Balsan S. In vitro action of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 24,25-dihydroxycholecalciferol on matrix organization and mineral distribution in rabbit growth plate. Metab. Bone Dis. Related Res. 1982; 4:135-142.

67. Boyan BD, Sylvia VL, Dean DD, Schwartz Z. 24,25-. (OH)2D3 regulates cartilage and bone via autocrine and endocrine mechanisms. Steroids 2001; 66: 363-374.

68. Burstein S, Chen IW, Tsang RC. Effects of growth hormone replacement therapy on 1.2 5-dihydroxyvitamin D and calcium metabolism. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1983; 56:1246-1251.

69. Brixen K, Nielsen HK, Bouillon R, Flyvbjerg A, Mosekilde L. Effects of short-term growth hormone treatment on PTH, calcitriol, thyroid hormone, insulin and glucagon. Acta Endocrinol. 1992; 127: 331-336.

70. Marcus R, Butterfield G, Holloway L, et al. Effects of short term administration of recombinant human growth hormone to elderly people. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990; 70: 519-527.

71. Condamine L, Vztovsnik F, Friedlander, G, Menaa C, Garabedian M. Local action of phosphate depletion and insulin-like growth factor I on in vitro production of 1,25-dihydroxyvitamin D by cultured mammalian kidney cells. J. Clin. Investig. 1994; 94: 1673-1679.

72. Lund B, Eskildsen PC, Lund B, Norman AWOH. Sorensen calcium and vitamin D metabolism in acromegaly. Acta Endocrinol. 1981; 96: 444-450.

73. Wu S, Grieff M, Brown AJ. Regulation of renal vitamin D-24-hydroxylase by phosphate: Effects of hypophysectomy, growth hormone and insulin-like growth factor I. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1997; 233: 813-817.

74. Brumbaugh PF, Haussler, M.R. lα, 25-dihydroxyvitamin D3 receptor: Competitive binding of vitamin D analogs. Life Sci. 1973; 13: 1737-1746.

75. Haddad, J.G.J. Transport of vitamin D metabolites. Clin. Orthop. Relat. Res. 1979; 142: 249-261.

76. Carrilo-Lopez N, Fernández-Martín JL, Cannata-Andía JB. The role of calcium, calcitriol and its receptors in parathyroid regulation. Nefrología 2009; 29: 103-108.

77. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, et al. The nuclear vitamin D receptor: Biological and molecular regulatory properties revealed. J. Bone Miner. Res. 1998; 13: 325-349.

78. Jehan-Kimmel C, Darwish HM, Strugnell SA, Jehan F, Wiefling B, DeLuca HF. DNA bending is induced by binding of vitamin D receptor-retinoid X receptor heterodimers to vitamin D responsive elements. J. Cell. Biochem. 1999; 74: 220-228.

79. Rachez C, Freedman LP. Mechanisms of gene regulation by vitamin D3 receptor: A network of coactivator interactions. Gene 2000; 246: 9-21.

80. Rochel N, Wurtz JM, Mitschler A, Klaholz B, Moras D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. Mol. Cell. 2000; 5: 173-179.

81. McKenna NJ, O'Malley BW. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. Cell 2002; 108: 465-474.

82. Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution. Genome Res. 2010; 20: 1352-1360.

83. Huhtakangas JA, Olivera CJ, Bishop JE, Zanello LP, Norman AW. The vitamin D receptor is present in caveolae-enriched plasma membranes and binds 1,25 (OH)2-vitamin D3 in vivo and in vitro. Mol. Endocrinol. 2004; 18: 2660-2671.

84. Massheimer V, Boland R, De Boland AR. Rapid 1,25 (OH)2-vitamin D3 stimulation of calcium uptake by rat intestinal cells involves a dihydropyridine-sensitive cAMPdependent pathway. Cell. Signal. 1994; 6: 299-304.

85. Feldman D, Pike JW, Glorieux FH. Vitamin D, 2nd ed, Elsevier Academic Press: San Diego, CA, USA; 2005.

86. Norman, A.W. Minireview: Vitamin D receptor: New assignments for an already busy receptor. Endocrinology 2006, 147, 5542–5548.

87. Zanello L, Norman AW. Stimulation by 1,25 (OH)2-vitamin D3 of whole cell chloride currents in osteoblastic ROS 17/2.8 cells: A structure-function study. J. Biol. Chem. 1997; 272: 22617-22622.

88. Le Mellay, V Grosse, B Lieberherr M. Phospholipase C beta and membrane action of calcitriol and estradiol. J. Biol. Chem. 1997; 272: 11902-11907.

89. Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ. Calcium absorption across epithelia. Physiol. Rev. 2005; 85: 373-422.

90. Meyer MB, Watanuki M, Kim S, Shevde NK, Pike JW. The human transient receptor potential vanilloid type 6 distal promoter contains multiple vitamin D receptor binding sites that mediate activation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in intestinal cells. Mol. Endocrinol. 2006; 20:1447-1461.

91. Li YC, Amling M, Pirro AE, et al. Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. Endocrinology 1998; 139:4391-4396.

92. Van Cromphaut SJ, Dewerchin M, Hoenderop JG, et al. Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: Functional and molecular aspects. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2001; 98:13324-13329.

93. Christakos S, Dhawan P, Porta A, Mady LJ, Seth T. Vitamin D and intestinal calcium absorption. Mol. Cell. Endocrinol. 2011; 347: 9-25.

94. Tsukita, S, Furuse, M, Itoh, M. Multifunctional strands in tight junctions. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2001, 2, 285–293.

95. Kutuzova GD, DeLuca HF. Gene expression profiles in rat intestine identify pathways for 1, 25-dihydroxyvitamin D3 stimulated calcium absorption and clarify its immunomodulatory properties. Arch. Biochem. Biophys. 2004; 432:152-166.

96. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of intestinal absorption and secretion. Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2016; 30:145-159.

97. Boros S, Bindels R, Hoenderop J. Active Ca2þ reabsorption in the connecting tubule. Pflugers Arch. 2009; 458:99-109.

98. Hoenderop JGJ, Willems PHGM, Bindels RJM. Toward a comprehensive molecular model of active calcium reabsorption. Am. J. Physiol. 2000; 278: F352-F360.

99. Hoenderop JGJ, Muller D, Suzuki M, Van Os CH, Bindels RJM. The epithelial calcium channel: Gatekeeper of active calcium reabsorption. Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 2000; 9: 335-340.

100. Hoenderop JGJ, Van der Kemp AWCM, Hartog A, et al. Molecular identification of the apical Ca21 channel in 1,25-dihydroxyvitamin D-responsive epithelia. J. Biol. Chem. 1999; 274: 8375–8378.

101. Hoenderop JGJ, Dardenne O, Van Abel M, et al. Modulation of renal Ca2þ transport protein genes by dietary Ca2þ and 1,25- dihydroxyvitamin D_3 in 25-hydroxyvitamin D_3-1α -hydroxylase knockout mice. FASEB J. 2002, 16, 1398–1406.

102. Hoenderop, J.G.J, Muller, D, Van Der Kemp, A.W, Hartog, A, Suzuki, M, Ishibashi, K, Imai, M, Sweep, F, Willems, P.H, Van Os, C.H, et al. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. J. Am. Soc. Nephrol. 2001, 12, 1342–1349.

103. Hoenderop JGJ, Muller D, Van Der Kemp AW, et al. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. J. Am. Soc. Nephrol. 2001; 12: 1342-1349.

104. Van Abel M, Hoenderop JGJ, Dardenne O, et al. 1,25- dihydroxyvitamin D3-independent stimulatory effect of estrogen on the expression of ECaC1 in the kidney. J. Am. Soc. Nephrol. 2002, 13, 2102–2109.

105. Naveh-Many T, Marx R, Keshet E, Pike JW, Silver J. Regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the parathyroid in vivo. J. Clin. Investig. 1990; 86: 1968 -1975.

106. Jacquillet G, Unwin RJ. Physiological regulation of phosphate by vitamin D, parathyroid hormone. (PTH) and phosphate. (Pi) Pflügers Arch. Eur. J. Phy. 2019; 471: 83-98.

107. Silver J, Russell J, Sherwood LM. Regulation by vitamin D metabolites of messenger ribonucleic acid for preproparathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1985; 82: 4270-4273.

108. Yuen NK, Ananthakrishnan S, Campbell MJ. Hyperparathyroidism of renal disease. Perm. J. 2016; 20: 78-83.

109. Hostutler RA, DiBartola SP, Chew DJ, et al. Comparison of the effects of daily and intermittent-dose calcitriol on serum parathyroid hormone and ionized calcium concentrations in normal cats and cats with chronic renal failure. J. Vet. Intern. Med. 2006; 20: 1307-1313.

110. De Borst H, Hajhosseiny R, Tamez H, et al. Active vitamin D treatment for reduction of residual proteinuria: A systematic review. J. Am. Soc. Nephrol. 2013; 24: 1863-1871.

111. Li XH, Feng L, Yang ZH, Liao YH. Effect of active vitamin D on cardiovascular outcomes in predialysis chronic kidney diseases: A systematic review and meta-analysis. Nephrology 2015; 20: 706-714.

112. Toussaint ND, Damasiewicz MJ. Do the benefits of using calcitriol and other vitamin D receptor activators in patients with chronic kidney disease outweigh the harms? Nephrology 2017; 22: 51-56.

113. Wu CC, Liao MT, Hsiao PJ, et al. Antiproteinuria effect of calcitriol in patients with chronic kidney disease and vitamin D deficiency: A randomized controlled study. J. Ren. Nutr. 2020; 30: 200-207.

114. Arai Y, Kanda E, Iimori S, et al. The use of vitamin D analogs is independently associated with the favorable renal prognosis in chronic kidney disease stages 4-5: The CKD-route study. Clin. Exp. Nephrol. 2017; 21: 481-487.

115. Arnold, A, Elvehjem, C.A. Nutritional requirements of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1939; 95: 187-194.

116. Michaud L, Elvehjem EA. The nutritional requirements of the dog. N. Am. Vet. 1944; 25: 657-666.

117. Tryfonidou MA, Stevenhagen JJ, Van Den Bemd GJ, et al. Moderate cholecalciferol supplementation depresses intestinal calcium absorption in growing dogs. J. Nutr. 2002; 132: 2644-2650.

118. Gershoff SN, Legg MA, O'connor FJ, Hegsted DM. The effect of vitamin D-deficient diets containing various Ca: P ratios on cats. J. Nutr. 1957; 63: 79-93.

119. Morris JG, Earle KE, Anderson PA. Plasma 25-hydroxyvitamin D in growing kittens is related to dietary intake of cholecalciferol. J. Nutr. 1999; 129: 909-912.

120. Morris JG, Earle KE. Growing kittens require less dietary calcium than current allowances. J. Nutr. 1999; 129: 1698-1704.

121. Takeda E, Yamamoto H, Taketani Y, Miyamoto KI. Vitamin D-dependent rickets type I and type II. Pediatr. Int. 1997; 39: 508-513.

122. LeVine DN, Zhou Y, Ghiloni RJ, et al. Hereditary 1,25-Dihydroxyvitamin D-Resistant Rickets in a Pomeranian Dog Caused by a Novel Mutation in the Vitamin D Receptor Gene. J. Vet. Intern. Med. 2009; 23: 1278-1283.

123. Malik R, Laing C, Davis PE, Allan GS, Wigney DI. Rickets in a litter of racing greyhounds. J. Small Anim. Pract. 1997; 38: 109-114.

124. Thacher TD, Clarke BL. Vitamin D insufficiency. Mayo Clin. Proc. 2011; 86: 50-60.

125. Hatun S, Ozkan B, Orbak Zet al. Vitamin D deficiency in early infancy. J. Nutr. 2005; 135: 279-282.

126. Wharton B, Bishop N. Rickets. Lancet 2003; 362:1389-1400.

127. Johnson KA, Church DB, Barton RJ, Wood AKW. Vitamin D-dependent rickets in a Saint Bernard dog. J. Small Anim. Pract. 1988; 29: 657-666.

128. Grahn RA, Ellis MR, Grahn JC, Lyons LA. A novel CYP27B1 mutation causes a feline vitamin D-dependent rickets type IA. J. Feline Med. Surg. 2012; 14: 587-590.

129. Teshima T, Kurita S, Sasaki Tet al. A genetic variant of CYP2R1 identified in a cat with type 1B vitamin D-dependent rickets: A case report. BMC Vet. Res. 2019; 15: 62.

130. Berry JL, Davies M, Mee AP. Vitamin D metabolism, rickets, and osteomalacia. Semin. Musculoskelet. Radiol. 2002; 6: 173-181.

131. Fornel-Thibaud P, Blanchard G, Escoffier-Chateau L, et al. Unusual case of osteopenia associated with nutritional calcium and vitamin D deficiency in an adult dog. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 2007; 43: 52-60.

132. Tal M, Parr JM, MacKenzie S, Verbrugghe A. Dietary imbalances in a large breed puppy, leading to compression fractures, vitamin D deficiency, and suspected nutritional secondary hyperparathyroidism. Can. Vet. J. La Rev. Vet. Can. 2018; 59: 36-42.

133. Cloutier M, Gascon-Barré M, Amour, P.D. Chronic adaptation of dog parathyroid function to a low-calcium-high-sodium-vitamin D-deficient diet. J. Bone Miner. Res. 1992; 7: 1021-1028.

134. Garabedian M, Tanaka Y, Holick MF, Deluca HF. Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization to 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in thyroparathyroidectomized rats. Endocrinology 1974; 94: 1022 -1027.

135. Veldurthy V, Wei R, Oz L, Dhawan P, Jeon YH, Christakos S. Vitamin D, calcium homeostasis and aging. Bone Res. 2016; 4: 1-7.

136. Brown EM. Role of the calcium-sensing receptor in extracellular calcium homeostasis. Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 2013; 27: 333-343.

137. Tomsa K, Glaus T, Hauser B, et al. Nutritional secondary hyperparathyroidism in six cats. J. Small Anim. Pract. 1999; 40: 533-539.

138. Rumbeiha WK, Kruger JM, Fitzgerald SF, et al. Use of pamidronate to reverse vitamin D3-induced toxicosis in dogs. Am. J. Vet. Res. 1999; 60: 1092-1097.

139. Selby PL, Davies M, Marks JS, Mawer EB. Vitamin D intoxication causes hypercalcaemia by increased bone resorption which responds to pamidronate. Clin. Endocrinol. 1995; 43: 531-536.

140. Adams JS. Vitamin D metabolite-mediated hypercalcemia. Endocrin. Metab. Clin. 1989; 18: 768-778.

141. Gerber B, Hauser B, Reusch CE. Serum levels of 25-hydroxycholecalciferol and 1,25 dihydroxycholecalciferol in dogs with hypercalcaemia. Vet. Res. Commun. 2004; 28: 669-680.

142. Selting KA, Sharp CR, Ringold R, Thamm DH, Backus R. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs–correlation with health and cancer risk. Vet. Comp. Oncol. 2016; 14: 295-305.

143. Wakshlag JJ, Rassnick KM, Malone EK, et al. Cross-sectional study to investigate the association between vitamin D status and cutaneous mast cell tumours in Labrador retrievers. Br. J. Nutr. 2011; 106: S60-S63.

144. Weidner N, Woods JP, Conlon P, et al. Influence of various factors on circulating 25 (OH) vitamin D concentrations in dogs with cancer and healthy dogs. J. Vet. Intern. Med. 2017; 31: 1796-1803.

145. Kraus MS, Rassnick KM, Wakshlag JJ, et al. Relation of vitamin D status to congestive heart failure and cardiovascular events in dogs. J. Vet. Intern. Med. 2014; 28: 109-115.

146. Gow AG, Else R, Evans H, Berry JL, Herrtage ME, Mellanby RJ. Hypovitaminosis D in dogs with inflammatory bowel disease and hypoalbuminaemia. J. Small Anim. Pract. 2011; 52: 411-418.

147. Lalor S, Schwartz AM, Titmarsh H, et al. Cats with inflammatory bowel disease and intestinal small cell lymphoma have low serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D. J. Vet. Intern. Med. 2014; 28: 351-355.

148. Titmarsh HF, Gow AG, Kilpatrick S, et al. Low vitamin D status is associated with systemic and gastrointestinal inflammation in dogs with a chronic enteropathy. PLoS ONE 2015; 10: e0137377.

149. Titmarsh H, Gow AG, Kilpatrick S, et al. Association of vitamin D status and clinical outcome in dogs with a chronic enteropathy. J. Vet. Intern. Med. 2015; 29: 1473-1478.

150. Kim DI, Kim H, Son P, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in dogs with suspected acute pancreatitis. J. Vet. Med. Sci. 2017; 79: 1366-1373.

151. Laws EJ, Kathrani A, Harcourt-Brown TR, Granger N, Rose JH. 25-Hydroxy vitamin D3 serum concentration in dogs with acute polyradiculoneuritis compared to matched controls. J. Small Anim. Pract. 2018; 59: 222-227.

152. Cortadellas O, Fernandez del Palacio MJ, Talavera J, Bayón A. Calcium and phosphorus homeostasis in dogs with spontaneous chronic kidney disease at different stages of severity. J. Vet. Intern. Med. 2010; 24: 73-79.

153. Galler A, Tran JL, Krammer-Lukas, et al. Blood vitamin levels in dogs with chronic kidney disease. Vet. J. 2012; 192: 226-231.

154. Gerber B, Hässig M, Reusch, C.E. Serum concentrations of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol in clinically normal dogs and dogs with acute and chronic renal failure. Am. J. Vet. Res. 2003; 64: 11611166.

155. Parker VJ, Harjes LM, Dembek K, Young GS, Chew DJ, Toribio RE. Association of vitamin D metabolites with parathyroid hormone, fibroblast growth factor-23, calcium, and phosphorus in dogs with various stages of chronic kidney disease. J. Vet. Intern. Med. 2017; 31: 791-798.

156. Lalor SM, Mellanby RJ, Friend EJ, et al. Domesticated cats with active mycobacteria infections have low serum vitamin D. (25 (OH) D) concentrations. Transbound. Emerg. Dis. 2012; 59: 279-281.

157. Rodriguez-Cortes A, Martori C, Martinez-Florez A, et al. Canine Leishmaniasis progression is associated with vitamin D deficiency. Sci. Rep. 2017; 7: 3346.

158. Rosa CT, Schoeman JP, Berry JL, Mellanby RJ, Dvir E. Hypovitaminosis D in dogs with spirocercosis. J. Vet. Intern. Med. 2013; 27: 1159-1164.

159. Timarsh HF, Lalor SM, Tasker S, et al. Vitamin D status in cats with feline immunodeficiency virus. Vet. Med. Sci. 2015; 1: 72-78.

160. Timarsh H, Kilpatrick S, Sinclair J, et al. Vitamin D status predicts 30 day mortality in hospitalised cats. PLoS ONE 2015; 10, e0125997.

161. Barroga; EF, Kadosawa T, Okumura M, Fujinaga T. Effects of vitamin D and retinoids on the differentiation and growth in vitro of canine osteosarcoma and its clonal cell lines. Res. Vet. Sci. 1999; 66: 231-236.

162. Kunakornsawat S, Rosol TJ, Capen CC, Middleton RP, Hannah SS, Inpanbutr N. Effects of 1,25 (OH) 2D3, EB1089, and analog V on PTHrP production, PTHrP mRNA expression and cell growth in SCC 2/88. Anticancer Res. 2001; 21: 3355-3363.

163. Kunakornsawat S, Rosol TJ, Capen CC, Omdahl JL, Leroy BE, Inpanbutr N. Effects of 1, 25 (OH) 2D3, 25OHD3, and EB1089 on cell growth and Vitamin D receptor mRNA and 1α-hydroxylase mRNA expression in primary cultures of the canine prostate. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2004; 89: 409-412.

164. Kunakornsawat S, Rosol TJ, Capen CC, Reddy GS, Binderup L, Inpanbutr N. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3. (1,25 (OH)2D3) and its analogues. (EB1089 and analog V) on canine adenocarcinoma. (CAC-8) in nude mice. Biol. Pharm. Bull. 2002; 25: 642-647.

165. Rassnick KM, Muindi JR, Johnson CS, et al. In vitro and in vivo evaluation of combined calcitriol and cisplatin in dogs with spontaneously occurring tumors. Cancer Chemother. Pharmacol. 2008; 62: 881-891.

BÖLÜM IV

BUZAĞI KAYIPLARININ NEDENLERİ

Causes of Calf Mortality

Murat GENÇ[1]

[1]*Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi*
Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
e-mail: muratgenc@atauni.edu.tr
ORCID: 0000-0002-9565-0887

1. Giriş

Sığır yetiştiriciliğinde en önemli parametreler üreme ve süt verimi olup, temel hedef maksimum süt üretimi sağlamak ve yılda her inekten sağlıklı bir yavru elde etmektir. Yavruların sağlıklı bir şekilde büyütülerek sektöre kazandırılması, işletmelerin ekonomik sürekliliği için son derece elzemdir. Doğan buzağılar, süt sığırı işletmelerinde sürünün devamlılığının sağlanması için sürünün yenilenmesinin yanı sıra, önemli bir de gelir kaynağıdır. Bu bağlamda sağlıklı buzağı yetiştirme, tüm süt verim yönlü üretim sistemlerinin en önemli parçası olduğu için, bir süt sığırı işletmesinde bakım ve idarenin en çok dikkat isteyen ve en detaylı olduğu kısmı burasıdır. Bu işletmelerde meydana gelen buzağı hastalık ve kayıpları hem ülkemizde, hem de dünya genelinde en önemli yetiştirme problemlerinin başında gelmektedir. (1, 2, 3) Buzağı ölümlerinin nedenleri ve maddi zararlarının araştırıldığı bir çalışmada, ölen her bir buzağı için 208 $ zarara uğrandığı sonucuna varılmıştır. Bu zarara veteriner hekim, ilaç, işgücü giderleri ve karkas imha masrafları da dâhil edildiği zaman toplam zararın 216 $ seviyesine yükseldiği belirlenmiştir. (4)

Süt sığırcılığı sektöründe yönetim ve buzağı yetiştirme uygulamalarında oldukça büyük ilerlemeler katedilmesine rağmen, sütten kesim öncesi buzağı kayıplarının %7.8 ile %12 arasında değiştiği ancak bu oranın ülkeden ülkeye,

hatta işletmeden işletmeye farklılık gösterdiği bilinmektedir. (5) Örneğin yapılan çalışmalarda doğum sonrası ilk 24 saatlik zaman diliminde gerçekleşen buzağı ölüm oranı İsviçre'de %2.4, Almanya'da %9.3-9.7, ABD'de %7.0-8.8 olarak hesaplanmıştır. (6, 7, 8, 9, 10) Aynı konu üzerine Güney Kore'de yapılan farklı bir araştırmada doğan 1.361 buzağıdan 146'sının sütten kesim dönemine kadar öldüğü belirlenmiş ve buzağı ölüm oranı %10.7 olarak bulunmuştur. Ayrıca en yüksek ölümlerin doğum sonrası ilk hafta içerisinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. (11) İngiltere'deki 19 çiftlikten 1.097 buzağının takip edildiği diğer bir çalışmada, doğan buzağıların %15'inin ilk laktasyona ulaşmadan öldüğü belirlenmiştir. (12) Avustralya'da sütten kesim öncesi buzağı ölüm oranı ortalama % 9.5 olarak hesaplanmıştır. (13) Ülkemizde ise, buzağı kayıp oranının aile tipi işletmelerde % 15, sürü sağlığı programı uygulanan profesyonel işletmelerde % 1-8 seviyelerinde olduğu ancak teknolojik imkânlardan yeteri kadar faydalanmayan ve iyi yönetilemeyen işletmelerde ise % 50'nin üzerine kadar çıkabildiği belirtilmektedir. (14) Kars ilindeki buzağı ölümlerinden kaynaklı ekonomik zararların tahmini üzerine yürütülen bir çalışmada 1140 buzağıdan 281'inin (%24.65) çeşitli hastalıklara yakalandığı, hastalananlardan 63'ünün (%5.52) ise öldüğü belirlenmiştir. (15)

Buzağı kayıpları, doğumdan önce (prenatal) ve doğumdan sonra (neonatal) olmak üzere iki başlık altında sınıflandırılır. Erken embriyonik ölümler, abortlar ve doğum esnasında şekillenen ölümlere kadar her türlü problemler doğum öncesi buzağı kaybı olarak değerlendirilir. Canlı bir şekilde dünyaya gelmiş fakat çeşitli sebeplere bağlı ölümler ise doğum sonrası buzağı kaybı olarak ele alınır. (3)

2. Doğum Öncesi Kayıplar

Sığırlarda fertilizasyon (döllenme) takiben başlayan gebelik, normal şartlarda ortalama 280 gün sonunda yavrunun doğumu ile sonlanmaktadır. Ancak her gebelik doğumla sonuçlanmamaktadır. Prenatal ölüm olarak da adlandırılan döllenme-doğum arasındaki kayıplar, embriyonik ölüm ve yavru atma (abort) olarak iki başlık altında sınıflandırılır. Fertilizasyondan gebeliğin ilk 6 haftasına kadar görülen yavru kayıpları embriyonik ölüm, gebeliğin 6. haftasından doğuma kadar olan sürede yavrunun ölmesi ve uterustan dışarıya atılması olgusu ise abort diye tanımlanır. Sağlıklı bir buzağı tohumlamadan sonra döllenmenin gerçekleşmesi, döllenme sonrasında ise embriyo kayıplarının ve yavru atıklarının görülmemesi sonucunda dünyaya gelir. (16, 17, 18)

Prenatal kayıplarının nedenleri genetik, fizyolojik, hormonal, çevresel ve diğer faktörler olmak üzere beş ana başlıkta değerlendirilmektedir. (19, 20, 21)

2.1. Genetik Faktörler

Kromozomlara ve bunlarla ilgili resesif (çekinik) genlere bağlı bozukluklardan kaynaklı kayıplardır. İki çekinik gen bir araya geldiğinde ortaya çıkan bu tip bozukluklar, embriyonik kayıpların yaklaşık %10'undan sorumludur. Bu durumun önüne geçmek için tohumlamaların döl verimi özellikleri bilinen boğa spermaları ile yapılması tavsiye edilmektedir. Döl verim yeteneği düşük olan bir boğanın döllerini sürüde tutmak, ileride telafisi çok zor olan durumların ortaya çıkmasına sebep olabilir. (19, 20, 21)

2.2. Fizyolojik faktörler

2.2.1. Süt verimi

İneklerde süt verimi ile döl verimi arasında negatif bir korelasyon vardır. Farklı bir ifade ile yüksek süt verimi, döl verimini direkt veya endirekt şekilde olumsuz olarak etkiler. Nitekim süt verimi fazla olan ineklerdeki embriyo kayıpları daha yüksek oranlarda görülmektedir. (21, 22)

2.2.2. Yaş

Bir ineğin hayatının her gününe düşen verimin maksimum olabilmesi için, ortalama 15-16 aylık yaşta iken tohumlanması ve 24 aylık yaşta da buzağılaması gerekir. Embriyo kayıpları, yaşlı ineklerde (en az 5 doğum yapmış), gençlere oranla daha fazla görülmektedir. (21, 23)

2.3. Hormonal faktörler

Progesteron, ovulasyon sonrasında gelişen corpus luteum tarafından salgılanan steroid yapıda bir hormondur. Bu hormon gebeliğin sağlanması ve sürdürülmesinde zorunlu olup, son derece büyük bir öneme sahiptir. Kızgınlıktan önceki günlerde bir ineğin serum progesteron hormon düzeyi düşük ise; takip eden ilk kızgınlıkta yapılan tohumlamada döl tutma ve/veya embriyosunun yaşama gücü de düşük olmaktadır. (24, 25)

2.4. Çevresel Faktörler

2.4.1. Sıcaklık

Yüksek çevre sıcaklığına bağlı olarak ortaya çıkan stres; sığırlarda oosit, embriyo ve reprodüktif zincirin tüm fonksiyonlarının zarar görmesine yol

açarak hem gebeliğin oluşmasını, hem de sağlıklı bir şekilde devam etmesini engelleyebilir. Bu nedenle vücut sıcaklığının yükselmesi, düşük döl veriminin önemli bir nedeni olarak kabul edilir. (26, 27, 28, 29) Yaz aylarında gebe kalma oranındaki düşüşün yanı sıra, embriyonal ölümler de oldukça fazladır. Şöyle ki ılık ve soğuk mevsimlerde %40-60 arasında seyreden gebelik oranları, yaz aylarında sıcaklık stresinin şiddetine bağlı olarak %10-20'lere ve hatta daha da aşağılara kadar düşebilmektedir. (29, 30, 31, 32, 33, 34, 35)

2.4.2. Enfeksiyonlar

Embriyonal dönemde gözlenen kayıpların bir diğer nedeni de bakteri, virüs veya diğer enfeksiyöz ajanlar tarafından oluşturulan uterus içi ve dışı hastalıklardır. Uterusta embriyonik hasar oluşturan enfeksiyonlar, spesifik olmaları ve olmamaları şeklinde ikiye ayrılır. Spesifik enfeksiyonlar virüs, bakteri ve protozoonların kan dolaşımı veya vajinal yolla; spesifik olmayanlar ise çoğunlukla bakterilerin vajinal yolla uterusa ulaşması sonucunda meydana gelir. (36) Ayrıca uterus içi enfeksiyonların yanı sıra akut mastitis olguları da, uterus ortamını bozarak embriyonik ölümlere neden olmaktadır. (37)

2.4.3. Bulaşıcı Hastalıklar

Bazı viral (BVD Virus, Schmallenberg Virus); bakteriyel (Leptospirosiz, Brucella, Chlamydia); paraziter (Neospora, Trichomonas fetus) ve protozoal (Leishmania sp, Toxoplasma gondi, Giardia intestinalis) ajanlar embriyoların ölümüne yol açabilir. (38)

2.4.4. Besleme

Süt ineklerinde beslenme, döl verimine direkt olarak etki eden önemli bir faktördür. Yetersiz ve kötü beslenen hayvanlarda döl veriminin düştüğü bilinmektedir. (39, 40) Enerji ve protein seviyesi dengeli hazırlanan bir rasyon, gebeliğin devamı için gereklidir. Pozitif enerji dengesindeki ineklerde embriyo kaybı düşük, negatif enerji dengesindekilerde ise yüksektir. Dolayısıyla vücut kondisyon skoru artan ineklerde, embriyonik ölümlerin azaldığı bildirilmektedir. Bu nedenle postpartum tohumlama öncesinde ineklerin vücut kondisyon skorları düzeltilmeli ve özel gereksinimler için yeterli ve dengeli rasyonlar düzenlenmelidir. (41, 42)

Hayvanların kokuşmuş, küflü, nitratlı ve nitritli yemlerle beslenmesi zehirlenmelere yol açabildiği gibi, gebelik oluşumuna veya mevcut gebeliğin sürdürülmesine de engel olabilmektedir. Ayrıca vitamin & mineral madde

eksiklikleri, dengesizlikleri ve toksisiteleri, üreme bozukluklarına sebebiyet verebilmektedir. Sığırlarda üreme dâhil tüm fizyolojik işlemler için son derece kritik bir öneme sahip olan mineraller, üreme fizyolojisi üzerinde de etkilidir. Özellikle kalsiyum, fosfor, selenyum, demir, çinko ve bakır vb. mineral madde eksiklikleri, bazı hastalıkların oluşumunda predispoze bir faktördür. Vitaminlerden ise özellikle A ve E vitamini eksiklikleri erken embriyo kayıplarına neden olmaktadır. (43)

2.4.5. Diğer sebepler

Ketozis ve asidoz gibi metabolizma hastalıkları; ineklerin sürekli ağrı çekmesine neden olan kronik topallık, travma, alerjik reaksiyonlar; hatalı ilaç ve aşı uygulamaları; uzun süren yolculuklar; vb. sebeplerdir. (17, 19, 21)

3. Doğum Sonrası Kayıplar

Postnatal dönemdeki buzağı ölümleri sıklıkla ilk 2 haftada görülmekte olup, bu tür kayıplarda doğum öncesi ve sonrası çeşitli faktörler (ananın sağlık durumu, kolostrum, aşılama, hijyen, çevre şartları, besleme, hastalıklar, vb.) etkilidir. (44, 45, 46)

3.1. Postnatal Buzağı Ölümlerinin Sebepleri

3.1.1. Gebelerin Bakım ve Beslenme Yetersizlikleri

Gebe ineklerin bakım ve beslenmesi, buzağıların bakım ve beslenmesinin ilk aşamasını oluşturur. Sağlıklı ve yaşama gücü yüksek buzağılar elde etmek için gebe ineklerin bu dönemdeki bakım ve beslenmeleri son derece kritik öneme sahiptir. Buzağıların ana rahmindeki gelişimlerinin yaklaşık üçte ikisi, gebeliğin son iki ayında gerçekleşir. Örneğin 40 kg olarak dünyaya gelen bir buzağı, canlı ağırlığının yaklaşık 25 kg'ını bu dönemde kazanır. Bu nedenle sağmal inekler gebeliklerinin son iki ayında mutlaka kuruya çıkarılmalıdır. Çünkü bu dönemde hem fetüsün hızlı gelişmesi, hem de doğum sonrası laktasyon dönemi için gerekli enerji, kalsiyum ve fosforun depolanması sağlanır. Kuru dönemde gebe ineğe uygulanacak doğru bir bakım ve besleme programı; ineğin rahat doğum yapması, doğumdan sonra kendisinin ve buzağısının çeşitli hastalıklara yakalanmaması için kritik öneme sahiptir. Kuru dönemde uygun olmayan bakım ve besleme; güç doğum, doğum felci, döl tutmama, mastitis, endometritis, abomasum deplasmanı, ketozis, laminitis gibi hastalıkların meydana gelme ihtimalini yükselir. (19, 45)

Gebe ineklere, buzağı sağlığı üzerine etkili olan septisemi aşıları (E. coli, Rota ve Corona virus aşıları) mutlaka uygulanmalıdır. (47) Gebe inekler dikkatli bir şekilde takip edilmeli, doğuma iki hafta kala ise temiz ve kuru bir doğum bölmesine alınmalıdır. (19, 24)

3.1.2. Güç Doğum

Doğumun herhangi bir müdahale olmadan gerçekleşmediği; hem ana, hem de yavrunun hayati tehlikeye girdiği olgulara güç doğum denir. Sığırlar normal şartlarda kendiliğinden doğum yapar ve güç doğumlarla normal doğumlar arasındaki oran %1-10 arasında değişmektedir. Güç doğum sonrasında dünyaya gelen buzağıların yaşama gücü, normal yoldan doğanlara göre oldukça düşüktür. İneklerde güç doğuma yol açan faktörler genel sebepler, anaya bağlı sebepler ve fetüse bağlı sebepler olmak üzere üç başlık altında değerlendirilir. (48)

3.1.2.1. Genel Sebepler

3.1.2.1.1. Kalıtsal Sebepler

Ebeveynlerdeki gizli ve resesif olan bazı genler, yavruda bozukluklara yol açar. Gebe hayvanı etkileyerek güç doğuma predispoze hale getiren bu genetik bozuklukların yanı sıra ingiunal fıtık, çift uterus, uterus ve vulva hipoplazisi, ikiz gebelik gibi durumlar da güç doğuma sebebiyet verebilir. (48, 49)

3.1.2.1.2. Yaş ve vücut büyüklüğü

Özellikle gelişimini tamamlamadan gebe bırakılan hayvanlarda, pelvis gelişimi tamamlanmadığından tehlikeli güç doğumlar görülebilir. Ayrıca küçük cüsseli ineklerin, iri ırklarla tohumlanması da güç doğum riskini artırır. (49, 50)

3.1.2.1.3. Bakım, Besleme, Çevre ve İklim Şartları

Çevre kirliliği; yem bitkileri ve yemlerdeki zararlı maddelerin birikmesine sebep olarak güç doğuma yol açabilir. Ahırlardaki traktör ve makine gürültüleri, ileri gebe hayvanların kalabalık ve sıkışık ortamlarda barındırılması, hava şartlarındaki ani değişiklikler ve aşırı sıcaklık, hava cereyanı, vb. faktörler de strese neden olarak normal doğumu engelleyebilir. (48, 50, 51)

3.1.2.1.4. Enfeksiyöz ve travmatik nedenler

Uterusu etkileyen ve tembelliğine yol açan bir takım enfeksiyonlar, gebelikte ve doğum zamanında görülen travmalar bu grupta değerlendirilir. (49, 52)

3.1.2.2. Anaya bağlı sebepler

Gebe hayvana bağlı olarak meydana gelen güç doğumlara maternal güç doğum adı verilir. Normal dışı doğum sancıları, uterusun vaziyet değişiklikleri (torsio uteri, deviatio uteri, hernia uteri), doğum kanalı problemleri (pelvis kanalının darlığı, cervix kanalının darlığı, vulva ve vaginanın darlığı), üreme sistemi organlarındaki neoplazmlar ve anomaliler maternal güç doğum sebepleridir. (51, 52)

3.1.2.3. Fetüse bağlı sebepler

Yavrunun büyüklüğüne, sayısına (ikizlik, üçüzlük gibi), duruş bozukluklarına, presentasyon ve pozisyonuna bağlı olarak güç doğum olguları meydana gelebilir. (48, 50, 51)

3.1.3. Doğmasal anomaliler

Atresia ani, atresia rekti, hernia umblicalis, bouleture, arqure, polymelia, arthrogrypposis, hydrocephalus, kist dermoid, epispadiasis, hipospadiasis, rektovaginal fistül, phocomelie ve palatoschisis, vb anomaliler ile dünyaya gelen buzağılar genellikle kısa bir süre içerisinde ölür. (48, 53)

3.1.4. Doğum sonrası hatalı ya da eksik uygulamalar

Yavru doğar doğmaz ilk iş olarak solunumu kontrol edilmeli, ağız ve burnu tıkayan yavru zarları ve sıvılar temizlenmelidir. Ardından göbek kordonu kontrol edilmeli, dip kısımdan kopmamış ise içindeki sıvı karına en yakın yerden başlanarak aşağıya doğru boşaltılmalıdır. Daha sonra göbek kordonu içine tentürdiyot dökülmeli, karına 4-5 cm uzaklıktan steril bir iple bağlanmalı ve bağlama noktasının 3-4 cm altından kesilmelidir. Şayet göbek kordonu doğum esnasında dipten kopmuş ise, üç gün boyunca sabah ve akşamları bölgeye tentürdiyot sürülmelidir. (19, 48).

Normal bir şekilde gerçekleşen doğumlardan sonra dünyaya gelen sağlıklı buzağılar, yaklaşık yarım saat sonra ayağa kalkar. Normal doğum yapan bir inek, hemen buzağısını yalayarak kurutmaya çalışır. Ancak, rüzgârlı ve soğuk havalarda veya ananın bu işi yapamadığı durumlarda buzağı temiz bir bez, havlu, sap veya samanla kurutulmalıdır. (24, 49)

Bu aşamadan sonra yapılması gerekli olan en önemli uygulama, buzağının hastalıklara karşı bağışıklık maddelerini (immünoglobulin) kazanabileceği ve onu en az 5-6 ay hastalıklardan koruyacak olan ağız sütünün (kolostrum) doğumu

takip eden ilk saatler içinde (ilk yarım veya bir saat) buzağıya içirilmesidir. Eğer buzağı anasını emmezse, anadan sağılan bu özel süt biberon veya bir şişe vasıtası ile mutlaka yavruya içirilmelidir. Çünkü kolostrumun yapısı zamanla değişir ve normal süte dönmeye başlar. Ayrıca buzağının bağırsaklarının bu sütteki özel maddeleri absorbe etme yeteneği de zamanla azalır. Normal şartlarda buzağı ilk 1-2 saat içinde en az 2 litre kolostrum almalı, daha sonra anasının yanından ayrılarak temiz ve bol altlıklı bireysel buzağı bölmelerine konulmalıdır. Buzağının tamamen kuruduğuna kanaat getirilirse ve hava şartları uygunsa açık buzağı kulübelerine konulmasında da mahsur yoktur. (19, 24, 48, 49)

3.1.5. İshal (diyare)

İshal, sığırcılık işletmelerindeki buzağı kayıplarının büyük bir kısmından sorumlu tutulmakta ve üç haftalıktan küçük buzağı ölümlerinin yaklaşık %75'ine sebebiyet vermektedir. (54, 55, 56) Buzağı ishalleri enfeksiyona bağlı ve/veya bağlı olmayan nedenler sonucunda ortaya çıkar. Yanlış işletme yönetimi, olumsuz çevre faktörleri, kuru dönemdeki gebe ineklerin yetersiz beslenmesi, kalitesiz veya yetersiz kolostrum verilmesi, vb. faktörler ishale neden olan nonenfeksiyöz faktörlerdir. Buzağılarda ishale yol açan enfeksiyöz nedenler; bakteriler (E. coli, Salmonella, Cl. perfiringes, Campylobacter jejuni, Chlamydia), viruslar (Rotavirus, Coronavirus, BVD virusu, Adenovirus, Parvovirus, Astrovirus, Calcivirus, Bredavirus), protozoonlar [Cryptospiridium parvum (C. parvum), Coccidia, Giardia] ve helmintler (Neoaskaris vitullorum) olarak sıralanabilir. (57, 58, 59)

Yeni doğan buzağılarda ishalden korunmak için yapılacak en önemli iki uygulama buzağıların bağışıklık sistemlerini güçlendirmek (zamanında ve yeterli miktarda kolostrum almalarını sağlamak) ve enfeksiyonun gelişimini sağlayacak çevresel faktörleri minimize etmektir. Bu bağlamda buzağı barınaklarının, kulübelerinin ve beslenmede kullanılan araç ve gereçlerin temizliği çok önemlidir. (19, 23, 60)

3.1.6. Enzootik Pneumoni

Bu tür akciğer ve solunum yolu hastalıkları, buzağıların ishalden sonra en çok görülen ikinci önemli sorundur. Buzağı pneumonisi olarak da adlandırılan bu hastalık, özellikle 2-6 aylık yaştaki ve yetersiz havalandırılan barınaklarda büyütülen buzağılarda meydana gelir. (61) Büyüklerle aynı yerde barındırılan, ortamda amonyağın biriktiği, yüksek nemli, sıkışık, kalabalık ortamlarda

yetiştirilen buzağıların bu solunum sistemi hastalığına yakalanma riskleri fazladır. (23, 62, 63)

Hastalığın oluşumunda rol oynayan risk faktörleri; bağışıklık sisteminin zayıflığı, uygun şartlarda yapılmayan nakliye, nutrisyonel yetersizlik (özellikle düşük kaliteli mama ile besleme), hayvanların susuz kalması, ani ve sert hava değişiklikleri, aşırı soğuk, altlık materyalinin olmaması, kuru ve hijyenik olmayan ortamlardır. Hastalığın asıl etkeni ise solunum sistemini etkileyen virüslerdir. Stres faktörlerinin hazırladığı ortamdan istifade eden virüsler hastalığı oluşturur. Bulaşma solunum yolu ile olur. Ateş, iştah kaybı, durgunluk, burun akıntısı, solunum hızında artış, öksürük gibi belirtilerle dikkat çeken bu hastalığın tedavisi çok zordur ve buzağıların yaklaşık %5 ile 30'unun ölümüne yol açar. Bundan dolayı buzağı pneumonisinin çözümü sürü yönetiminin gereksinimlerini ve koruyucu hekimlik uygulamalarını yerine getirmekten geçer. (19, 23, 62, 63, 64, 65)

3.1.7. Göbek Kordonunun Yangısı (Omphalitis)

Göbek kordonu gebelik döneminde anne ile yavrusunun ilişkisini sağlayan en önemli anatomik oluşumdur. (66, 67) Buzağılarda göbek kordonunda çeşitli bakteriyel enfeksiyonların ortaya çıkmasında doğum sırasında ve sonrasındaki olumsuz çevresel koşullar, göbek kordonuna doğru ve önerilen işlemlerin yapılmaması, yetersiz kolostrum alımı, genetik yatkınlıklar, genel durumda bozukluk ve zayıflık gibi çeşitli faktörler etkili olmaktadır. (67, 68)

Bu hastalık genellikle göbek kordonunun sikatrize olmasına kadar geçen süre zarfında (doğum sonrası ilk günlerde), bakterilerin üremesi sonucunda ortaya çıkar. Çoğu zaman ateş, iştahsızlık, ağrı ve büyümede yavaşlama gibi sorunlar ile birlikte seyreder. (68, 69, 70, 71) Göbek kordonu yangıları zamanında fark edilmezse ve uygun bir sağaltım yapılmazsa enfeksiyon etkenleri iç organlara kadar ilerleyerek septisemi, karın içi yapışmalar, poliartritis, pneumoni gibi komplikasyonlara ve ölümlere neden olur. Tam bu noktada göbek hijyeninin ve koruyucu hekimliğin önemi ortaya çıkmaktadır. (70, 71, 72, 73)

3.1.8. Septisemi

Özellikle 4 günlükten küçük buzağılarda bazı enfeksiyon etkenlerinin kana karışması sonucunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Buzağı septisemisinden E.Coli bakterisi sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca nadiren de olsa bazı Salmonella türleri, rotaviruslar, koronaviruslar ve kriptosporidiolar da hastalığa sebep olabilmektedir. (74, 75, 76)

Hastalığın hazırlayıcı sebepleri olarak; kolostrum yoluyla pasif immunitenin sağlanamaması, beslenme bozuklukları, ani iklim değişiklikleri, gebelerin doğum öncesi nakliyesi ve yüksek hastalık yapma gücüne sahip mikroorganizmaların çevreden alınması sayılabilir. Hastalık akut veya subakut olarak gelişebilir. Akut formda; buzağılar doğumdan 2-6 saat sonra hiçbir klinik belirti göstermeksizin komaya girerek ölür. (77, 78) Daha sıklıkla görülen subakut form, genellikle doğum sonrası ilk 3 haftada gözlenir. Sulu, pis kokulu, sarı renkte ve bazen kanlı ishal gibi belirtiler ortaya çıkar. Hasta buzağılarda ateş, iştahsızlık, halsizlik ve bazen de topallık görülür. (75)

Buzağı septisemisi, uygun dozda ve mümkün olan en erken sürede başlanması şartıyla antibiyotiklerle tedavi edilebilir. E.Coli'lerde antibiyotiklere karşı direnç gelişebildiği için, uygun antibiyotik seçimi çok önemlidir. (75, 78) Bu amaçla antibiyogram yapılmasında yarar vardır. Ayrıca ishal sebebiyle meydana gelen sıvı kaybını karşılamak ve genel durumu düzeltmek için, elektrolit ve sıvı takviyeleri yapılmalıdır. Diğer tüm buzağı hastalıklarında olduğu gibi septisemide de koruma ve kontrol için, barınakların genel sağlık kurallarına uygun olması sağlanmalıdır. Buzağıların çevreden hastalık yapıcı mikroorganizmalar ile enfekte olmamaları için, doğum sürecince ve sonrasında temizlik kurallarına uyulması gereklidir. Göbek kordonunun bakımı ihmal edilmemeli ve bölgenin temiz tutulması sağlanmalıdır. Buzağının kaldığı yerin ve altlığın temiz olmasına dikkat edilmelidir. Hayvan barınağındaki tüm alet ve ekipmanlar belirli periyotlarla dezenfekte edilmelidir. Gebe inekler kuru dönemde aşılanmalı ve böylelikle anada oluşan antikorların kolostrum yolu ile yavrulara geçmesi sağlanmalıdır. Son olarak hem hastalığa yakalanan hayvanların tedavisinde, hem de hastalanmamış hayvanların hastalıktan korunması amacıyla; buzağı septisemisine karşı hazırlanmış hiperimmun serumlar (Buzağı Septisemi Serumu) yeni doğmuş buzağılara uygulanabilir. (75, 76, 77, 78)

3.1.9. Beslenme Hastalıkları

Yetersiz ve yanlış besleme uygulamaları buzağılarda ishal, ruminal asidozis ve bir takım abomasal hastalıklara (abomasal timpani, abomasum impaksiyonu, abomasitis ve abomasal ülserler) yol açarak ölümlere neden olabilir. (19, 23, 79) Gereğinden fazla veya az, soğuk ve bozuk süt içen buzağıların bağırsaklarında bakteri üremesi gerçekleşir ve bu da ishale yol açar. Genel kural olarak 3. günden itibaren doğum ağırlıklarının yaklaşık %10'u oranındaki süt iki öğün şeklinde verilmelidir. Biberonla beslenen buzağılarda sütün 80 cm yükseklikten ve 45 derecelik açı ile içirilmesine dikkat edilmelidir.

Aksi halde süt akciğerlere kaçarak aspirasyon pneumonisine sebep olur ve ani yavru kayıpları görülebilir (19).

İlk haftadan itibaren buzağıların önünde, tahıl ağırlıklı, protein ve mineral içeriği iyi dengelenmiş kaliteli buzağı başlangıç yemi ve temiz su bulundurulmalıdır. Buzağı başlangıç yemine %5-10 oranında öğütülmüş iyi kaliteli kaba yem de katılabilir. Buzağıların sindirim sistemlerinin kaba yemi değerlendirebilecek kapasiteye ulaşmadan sütten kesilmesi, çok uzun süre süt ile besleme gibi hatalardan da uzak durulmalıdır. En uygun sütten kesme zamanı, buzağının günde tükettiği kesif yem miktarına bakarak belirlenmelidir. Bir buzağının günde 700-800 g buzağı başlangıç yemi tüketebiliyor olması, sütten kesilme zamanının geldiğini göstermektedir. (19, 23)

3.1.10. Paraziter Hastalıklar

Bu tür hastalıklar çiftlikte yaşayan hayvanlar arasında hızlı bir şekilde yayılabilmekte, verim düşüklüğü, hastalık ve ölümlere neden olarak yüksek miktarlarda kayıplar oluşturabilmektedir. Özellikle otlak ve meralara çıkarılan veya erişkin hayvanlarla beraber barındırılan buzağıların sindirim ve solunum sistemlerinde bir takım parazit ve artropodların yol açtığı ölümcül hastalıklar ortaya çıkabilir. (80, 81)

Buzağılarda en çok görülen paraziter hastalıklardan birisi olan Koksidiyoz (Coccidiosis), tek hücreli bir bağırsak paraziti (protozoa) tarafından oluşturulan, kanlı ishalle seyreden ve bazen ölümcül olabilen bir hastalıktır. Hastalığın belirtileri büyümede gerileme, tüylerde matlaşma, sıklıkla ıkınma, koyu renkli sulu dışkı, durgunluk ve halsizliktir. Hatta titreme, ayağını yere vurma, tepinme, boyun kaslarının gerilmesi, şaşılık gibi sinirsel belirtiler bile ortaya çıkabilir (Nervöz Koksidiyoz). (80)

Buzağılarda Koksidiyoz gibi şiddetli ishal oluşturan bir diğer paraziter enfeksiyon da Cryptosporidiosis'tir. Hastalığa yakalanan yavrularda aşırı dehidrasyon ve elektrolit kaybı sonucunda kayıplar görülebilir. (81, 82) Ayrıca akciğer ve bağırsak kıl kurtları gebelik esnasında plasenta veya doğumdan sonra süt yoluyla anadan yavruya geçebilir. O yüzden gebe ineklere doğumdan 1-2 ay önce mutlaka bir iç paraziter ilaç uygulaması yapılmalıdır. (80, 82)

4. Sonuç

Süt sığırı işletmelerinde sağlıklı buzağı yetiştirmek, sürünün geleceği için hayati önem taşır. Ancak, yeni doğan buzağılar yoğun çalışma ortamında

genellikle göz ardı edilmekte ve bu durum buzağıların telef olmasına yol açarak süt endüstrisinin geleceğini tehlikeye sokmaktadır. Özellikle son dönemlerde baş gösteren küresel gıda krizi göz önünde bulundurulduğunda, buzağı kayıplarının minimize edilmesi daha da büyük önem arz etmektedir.

Buzağı ölümlerinin en önemli nedeni yanlış yönetimdir. Dişinin gebe kalmasıyla başlayan ve doğan buzağıların sütten kesilmesine kadar devam eden bu kritik süreç, doğru bakım ve besleme koşullarının sağlanmasıyla en az kayıpla atlatılabilir. Öncelikle doğum bölmelerinin steril olması ve kontaminasyon riski taşımaması gereklidir. Buzağı barınakları, olumsuz hava şartlarına karşı koruma sağlamalı ve hijyenik olmalıdır. Buzağıların bağışıklık sistemlerini destekleyebilmek için, doğumdan sonra en geç ilk 2 saat içerisinde en az 2 litre kaliteli ağız sütü almaları sağlanmalıdır. Buzağıların beslenmeleri de hijyen ve sanitasyon kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmeli, ekipmanların her kullanımdan sonra temizlenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Varışlı Ö, Akyol N. Süt sığırcılığında üreme verimini etkileyen faktörler. Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg., 2018;58:1-6.

2. McGuirk SM. Disease management of dairy calves and heifers. Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract., 2008;24,139- 53.

3. Karslı MA, Evci Ş. Buzağı kayıplarının önlenmesinde inek ve buzağı beslemesinin önemi. Lalahan Hay. Araşt. Ens. Derg., 2018;58(3):23-34.

4. Wittum TE, Salman MD, Odde KG, Mortimer RG, King ME. Causes and costs of calf mortality in Colorado beef herds participating in the National Animal Health Monitoring System. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1993;203:232-236.

5. Murray B. Optimizing calf survival at birth. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs. http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/optbirth.htm

6. Bleul U. Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland. Livest. Sci., 2011;135(2-3), 257-264.

7. Meyer CL, Berger PJ, Koehler KJ. Interactions among factors affecting stillbirths in Holstein cattle in the United States. J. Dairy Sci., 2000;83:2657-2563.

8. Johanson JM, Berger PJ, Tsuruta S, Misztal I. A Bayesian threshold-linear model evaluation of perinatal mortality, dystocia, birth weight, and gestation length in a Holstein herd. J. Dairy Sci., 2011;94:450-460.

9. Gundelach Y, Essmeyer K, Teltscher MK, Hoedemaker M. Risk factors for perinatal mortality in dairy cattle: cow and foetal factors, calving process. Theriogenology, 2009;71:901-909.

10. Hoedemaker M, Ruddat I, Teltscher MK, Essmeyer K, Kreienbrock L. Influence of animal, herd and management factors on perinatal mortality in dairy cattle - a survey in Thuringia, Germany. Berl. Munch. Tierärzt. Wochenschr, 2010;123:130-136.

11. Hur TY, Jung YH, Choe CY, Cho YI, Kang SJ, Lee, HJ, Kwang SK, Baek KS, Suh GH. (2013). The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. Korean J. Vet. Res., 2013;53(2),103-108.

12. Brickell JS, McGo wan MM, Pfeiffer DU, Wathes DC. Mortality in Holstein-Friesian calves and replacement heifers, in relation to body weight and IGF-I concentration, on 19 farms in England. Animal, 2009;3:1175-1182.

13. Bunter KL, Johnston DJ, Wolcott ML, Fordyce G. Factors associated with calf mortality in tropically adapted beef breeds managed in extensive Australian production systems. Anim. Prod. Sci., 2014,54: 25-36.

14. Çelik E. Konya'nın Akşehir, Ilgın ve Kadınhanı ilçelerindeki perinatal buzağı kayıplarının prevalansının belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Konya Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2013.

15. Demir PA, Aydın E, Ayvazoğlu C. Estimation of the economic losses related to calf mortalities Kars province in Turkey. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 2019; 25(3):283-290.

16. Bagley CV. Abortion in cattle. Animal healty fact sheet, A/H beef/36. https://core.ac.uk/download/pdf/32565926.pdf

17. Erdem H, Çiftçi E, Işık MK, Yorgancılar MÜ, Yaralı C, ed. Buzağı Kayıplarının Önlenmesinde Buzağı Sağlığı ve Yetiştiriciliği. Türkiye: Medisan Yayınevi; 90. ISBN 978-975-7774-89-1. Baskı Yılı: 2020.

18. Diskin MG, Waters SM, Parr MH, Kenny DA. Pregnancy losses in cattle: potential for improvement. Reprod. Fertil. Dev., 2016;28:83-93.

19. Özhan M, Tüzemen N, Yanar M. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Türkiye: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları; 134. ISBN 975-442-094-7. Baskı Yılı: 2009.

20. Diskin MG, Morris DG. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. Reprod. Domest. Anim., 2008;43:260-267.

21. Zobel R, Tkalčić S, Pipal I, Buić V. Incidence and factors associated with early pregnancy losses in Simmental dairy cows. Anim. Reprod. Sci., 2011;127(3-4):121-125.

22. Grimard B, Freret S, Chevallier A, Pinto A, Ponsart C, Humblot P. Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. Anim. Reprod. Sci., 2006;91(1-2):31-44.

23. Şekerden Ö, Özkütük K. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Türkiye: Çukurova Üniversitesi Ziraat fakültesi Ders Kitabı; 122. Baskı Yılı: 2000.

24. Thatcher WW, Moreira F, Santos JE, Mattos RC, Lopes FL, Pancarci SM, Risco CA. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. Theriogenology, 2001;55(1):75-89.

25. Silva JC, Costa LP, Silva JR, 2002. Plasma progesteron profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy catle. Theriogenology, 2002;58:51-59.

26. Armstrong DV. Environmental modification to reduce heat stress. Western large herd management conference, Las Vegas Nevada, 1993; 1-8.

27. Abdalla H, Elghafghuf A, Elsohaby I, Nasr MA. Maternal and non-maternal factors associated with late embryonic and early fetal losses in dairy cows. Theriogenology, 2017;100:16-23.

28. Ray DE, Halbach TJ, Armstrong DV (1992): Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. J. Dairy Sci., 1992;75:2976-2983.

29. Çolak A, Çoban NS. Isı stresinin fertilite ve embriyonik ölümler üzerine etkisi. Bültendif, 2002;18:6-8.

30. Peralta OA, Pearson RE, Nebel RL. Comparison of three estrus detection systems during summer in a large commercial dairy herd. Anim. Reprod. Sci., 2005;88:155-167.

31. Bademkıran S, Güvenç K (2005): Sütçü sığırlarda sıcaklık stresinin döl verimi üzerine etkisi. İ. Ü. Vet. Fak. Derg., 2005;2:53-59.

32. Garcia-Ispierto I, Lopez-Gatius F, Santolaria P, Yaniz JL, Nogareda C, Lopez-Bejar M, De Rensis F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology, 2006;65:799-807.

33. Ju JC. Cellular responses of oocytes and embryos under thermal stress: hints to molecular signaling. Anim. Reprod., 2005;2(2):79–90.

34. García-Ispierto I, López-Gatius F, Santolaria P, Yániz JL, Nogareda C, López-Béjar M, De Rensis F. Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. Theriogenology, 2006;65(4):799-807.

35. López-Gatius F. Factors of a noninfectious nature affecting fertility after artificial insemination in lactating dairy cows. A review. Theriogenology, 2012;77(6):1029-1041.

36. Gilbert RO. The effects of endometritis on the establishment of pregnancy in cattle. Reprod. Fertil. Dev., 2011;24(1):252-257.

37. Ayad A, Touati K, Iguer-Ouada M, Benbarek H. Different factors affecting the embryonic mortality in cattle. Res. Opin. Anim. Vet. Sci., 2012;2(11):559-572

38. Vanroose G, de Kruif A, Van Soom A. Embryonic mortality and embryo–pathogen interactions. Anim. Reprod. Sci., 2000;60:131-143.

39. Humblot P. The frequency and variation of embryonic mortality and the use of pregnancy specific proteins to monitor pregnancy failure in ruminants. Annual ESDAR Conference, 1999;19-28.

40. Boland MP, Lonergan P, O'Callaghan D. Effects of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology and oocyte and embryo development. Theriogenology, 2001;55:1323-1340.

41. Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. Anim. Reprod. Sci., 2002;71(1-2):1-12.

42. Grimard B, Freret S, Chevallier A, Pinto A, Ponsart C, Humblot P. Genetic and environmental factors influencing first service conception rate and late embryonic/foetal mortality in low fertility dairy herds. Anim. Reprod. Sci., 2006;91(1-2):31-44.

43. Sharma MC, Joshi C, Das G, Hussain K, 2007. Mineral nutrition and reproductive performance of the dairy animals:A review. Indian J. Anim. Sci., 2007;77:599-608.

44. Gürdal M, Zülkadir U. (2019). Konya Ereğli'de özel bir işletmede yetiştirilen siyah alaca buzağılarda doğum-dört ay arası dönemdeki gelişimi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 2019;22:154-161.

45. Bleul U. Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland. Livest. Sci., 2011;135:257-264.

46. 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. Reprod. Domest. Anim., 2013;48:651-659.

47. Altuğ, N, Özdemir R, Cantekin Z. (2013). Ruminantlarda koruyucu hekimlik: I. aşı uygulamaları. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2013;10(1):33-44.

48. Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A, ed. Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji. 3. Baskı, Medipres Yayınevi, Malatya. Baskı Yılı: 2019.

49. Apaydın AM. Güç Doğum. Alaçam E, ed. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. 8. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. Baskı Yılı: 2015.

50. Juozaitiene V, Juozaitis A, Kardisauskas A, Zymantiene J, Zilaitis V, Antanaitis R, Ruzauskas M. Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. Acta Vet. Brno., 2017;86:345-352.

51. Zaborski D, Proskura WS, Grzesiak W, Rozanska-Zawieja J, Sobek Z. The comparison between random forest and boosted trees for dystocia detection in dairy cows. Comput Electron Agric., 2019;163:1-9.

52. Barraclough RAC, Shaw DJ, Boyce R, Haskell MJ, Macrae AI. The behavior of dairy cattle in late gestation: effects of parity and dystocia. J. Dairy Sci., 2019;103:714-722.

53. Kaya M, Okumuş Z, Doğan E, Çetin EM, Yanmaz LE. Erzurum yöresindeki buzağılarda doğmasal anomalilerin görülme sıklığı ve sağkalım oranları. F. Ü. Sağ. Bil. Vet. Derg., 2011;25(2):83-93.

54. Basoglu A, Sen I, Sevinc M, Simsek A. Serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha in neonatal calves with presumed septicemia. J. Vet. Intern. Med., 2004;18(2):238-241.

55. Berchtold J. Treatment of calf diarrhea: intravenous fluid therapy. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract., 2009;25(1):73-99.

56. Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H. The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of Escherichia coli strains by multiplex PCR. Zoonoses Public Health, 2009;56(2):94-101.

57. Yimer M, Gezhagne M, Biruk T, Dinaol B. A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. J. Vet. Med. Anim. Health, 2015;7(5):173-185.

58. Cho YI, Yoon KJ. An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. J. Vet. Sci., 2014;15(1):1-17.

59. Wei X, Wang W, Dong Z, Cheng F, Zhou X, Li B, Zhang J. Detection of infectious agents causing neonatal calf diarrhea on two large dairy farms in Yangxin County, Shandong Province, China. Front. Vet. Sci., 2021;7: 589126.

60. Boersema SJ, Silva JC, Mee J, Noordhuzien J. Infectious calf diarrhoea and septicemia in Farm health and productivity management of dairy young

stock. ISBN: 978-90-8686-129-3 1st ed. Netherland Wageningen Academic Publishers, 2010.

61. Smith DR. Management to decrease neonatal calf loss in beef herds. Bovine reproduction, 2021;897-908.

62. Hagglund S. Epidemiology, Detection and Prevention of Respiratory Virus Infections in Swedish Cattle. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2005.

63. Apley M. Bovine respiratory disease pathogenesis, clinical signs, and treatment in lightweight calves. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract, 2006;22(2):399–411.

64. Boyce JD, Adler B. The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of Pasteurella multocida M104 (B:2). Infect Immun., 2000;68(6):3463-3468.

65. Angen O, Thomsen J, Larsen LE, Larsen J, Kokotovic B, Heegard PMH, Enemark JMD. Respireatory diseases in calves: Microbiological investigations on trans-tracheally aspirated bronchoalveolar fluid and acute phase protein response. Vet. Microbiol., 2009;137(1-2):165-171.

66. Rings DM. Umbilical hernias, umbilical abscesses and urachal fistulas, surgical consideration. Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Prac., 1995;11:137-148.

67. Edwards RB, Fubini SL. A one-stage marsupialization procedure for management of infected umbilical vein remnants in calves and foals. Vet. Surg., 1995;24:32-35.

68. Dargatz D, Dewell G, Mortimer R. Calving and calving management of beef cows and heifers on cow-calf operations in the United Sates. Theriogenology, 2004;61:997-1007.

69. Adams SB, Fessler JF. Umbilical cord remnant infections in foals: 16 cases (1975-1985). J. Am. Vet. Med. Assoc., 1987;190:316-318.

70. Belge A, Bakır B, Atasoy N, Alkan İ. Buzağılarda göbek lezyonları. Y. Y. Ü. Vet. Fak. Derg., 1996;7:14-17.

71. Ganga NS, Ananda KJ, Kavitha RB, Kotresh AM, Shambulingappa BE, Patel SR. Navel ill in new born calves and its successful treatment. Vet. World, 2011;4(7):326-327.

72. Hathaway SC, Bulliens JA, Johnstone AC, Biss ME, Thompson A. A pathological and microbiological evaluation of omphalophlebitis in very young calves slaughtered in New Zealand. N. Z. Vet. J., 1993;41:166-170.

73. Lopez MJ, Markel MD. Umbilical artery marsupialization in a calf. Can. Vet. J., 1996; 37:170-171.

74. Basoglu A, Sen I, Sevinc M, Simsek A. Serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha in neonatal calves with presumed septicemia. J. Vet. Intern. Med., 2004;18:238- 241.

75. Fecteau G, Van Metre DC, Pare J, Smith BP, Higgins R, Holmberg CA, Jang S, Guterbock W. Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. Can. Vet. J., 1997;38:95-100.

76. Hassan N, Sheikh GN, Hussian SA, Nazir G. Variation in clinical findings associated with neonatal colibacillosis in lambs before and after treatment. Vet. World, 2014;7:262-265.

77. Ghanbarpour R, Oswald E. Characteristics and virulence genes of Escherichia coli isolated from septicemic calves in southeast of Iran. Trop. Anim. Health. Prod., 2009;41: 1091-1099.

78. Morris WE, Venzano AJ, Elizondo A, Vilte DA, Mercado EC, Miyakawa MEF. Necrotic enteritis in young calves. J. Vet. Diagn. Invest., 2011; 23:254-259.

79. Erdoğan HM, Gökçe E, Erkılıç EE. Buzağılarda Ön Mide ve Abomasum Hastalıkları. Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci., 2014;5(3):72-80.

80. Bangoura B, Bardsley KD. Ruminant coccidiosis. Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 2020;36(1):187-203.

81. Thomson S, Hamilton CA, Hope JC, Katzer F, Mabbott NA, Morrison LJ, Innes EA. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. Vet. Res., 2017;48(1):1-16.

82. Sevinç F, Ceylan O. Yeni doğan buzağılarda ishale neden olan başlıca paraziter hastalık: Cryptosporidiosis. Buzağı Sağlığı ve Yetiştiriciliği, 77. https://books.akademisyen.net/index.php/akya/catalog/download/904/995/20212?inline=1

BÖLÜM V

USUTU VİRUS VE DÜNYA'DAKİ DAĞILIMI

Usutu Virus and Its Distribution in The World

Seçil SEVİNÇ TEMİZKAN

(Dr. Öğr. Üyesi), Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Viroloji Anabilim Dalı, e-mail: secil.s.temizkan@yobu.edu.tr
ORCID: 0000-0002-2427-3877

1. Giriş

Zoonotik potansiyeli ve emerging viruslar arasında yer alması sebebiyle, Usutu Virus (USUV) son yıllarda dikkatleri üzerine çekmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre "Emerging disease" kavramı; bir popülasyonda ilk kez ortaya çıkan veya daha önce var olan, ancak görülme sıklığının artmasıyla gündeme gelen hastalıklar için kullanılmaktadır. Usutu virus, adını Güney Afrika Svaziland'daki Usutu Nehri'nden almıştır. USUV, ilk olarak 1959 yılında adını aldığı yerde keşfedilmiştir (1). USUV, çoğunlukla kanatlı hayvanları enfekte etmesine rağmen insanları da enfekte etmesi sebebiyle zoonotik öneme sahiptir. Yabani kuşlar, zoonotik arbovirusların rezervuar konakçıları ve vektörleri olarak önemli bir role sahiptir. Sivrisinekler yine virusun vektörleri arasındadır ve virusların yayılmasına aktif katkı sağlamaktadırlar.

USUV, *Flaviviridae* ailesindeki *Flavivirus* cinsine ait artropod kaynaklı (arbovirus) bir virustur. Japon ensefalit virusu (JEV) antijenik kompleksinin bir üyesi olarak USUV; Batı Nil virusu (BNV), Murray Valley Ensefalit virusu (MVEV) ve St Louis ensefalit virusu (SLEV) dahil olmak üzere çok sayıda insan ve hayvan patojeni ile yakından ilişkilidir (2).

USUV, konak hücre zarından türetilen lipid zarfa sahip, küçük ve küresel yapıda bir virustur. Virion 40-60 nm çapındadır ve 11 Kb uzunluğunda, tek zincirli ve pozitif polariteli bir RNA genomu içerir (3). Genom; 5' cap yapısı, özgün bir ORF yapısı ve 5' - 3' UTR bölgelerini barındırır. 5' ve 3' UTR

bölgelerinin uzunlukları farklı suşlara göre değişim gösterir. 5' UTR bölgesi 95-96 nt ve 3' UTR bölgesi 631-664 nt uzunlukta olabilir (4). UTR'ler, viral genomun translasyonu ve replikasyonu ile ilgilidir. ORF'un 3434 amino asitten oluşan bir poliproteinle çevrili olduğu tahmin edilmektedir. Bu poliprotein, üç yapısal (kapsid, zarf ve ön zar) ve sekiz yapısal olmayan proteinden (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, 2K, NS4B ve NS5) oluşur. Diğer sivrisinek kaynaklı flaviviruslar gibi, yapısal proteinleri kodlayan genler viral genomun 5' ucunda yer alır ve virion partikülünü oluşturur (5-6). Kapsid proteini (C), virionun merkezi çekirdeğini oluşturur ve viral RNA ile ilişkilidir. Zarf glikoproteini (E), konakçı hücrelere bağlanmaya aracılık eder ve konakçı hücrelere viral girişi teşvik eder. Ön zar proteini (prM), zarf katlanmasına yardımcı olarak virionun yapısının oluşturulması ve olgunlaşması için gereklidir (7-8). Yapısal olmayan proteinler, enfeksiyon sırasında farklı işlevlere hizmet eder ve işlevleri, diğer flavivirus genomları ile benzerlik temelinde belirlenir (9). NS1, farklı formlarda (örneğin; hücresel ve salgılanmış) bulunur ve viral genomun replikasyonu ve virion olgunlaşması için gereklidir (10). NS2A, NS2B, NS4A ve NS4B; virusun son halinin oluşabilmesi için gerekli olan ve IFN yanıtının inhibisyonunda rol oynayan küçük, hidrofobik proteinlerdir (11). NS3 ve NS5, farklı enzimatik aktivitelere sahip iki proteindir: NS3 proteini viral serin proteazı (yalnızca NS2B kofaktörü ile aktif), helikaz, nükleosit trifosfataz ve RNA trifosfatazı kodlar. NS5 proteini, N-terminalinde bir metiltransferazı (MTase) kodlarken, C-terminali RNA'ya bağımlı RNA polimerazı kodlar (11-12). Yapılan filogenetik çalışmalara göre; USUV suşları 8 farklı soyda toplanmıştır. Bunlar Afrika 1, 2, 3 ve Avrupa 1, 2, 3, 4 ve 5'tir (13).

Göçmen kuşlarla uzak alanlara yayılması ve sivrisineklerle de kısa mesafelerde yayılmaya devam etmesi sebebiyle USUV'un mücadelesinde virusun varlığının bilinmesi önemlidir. Zoonotik karakterde bir virus olduğu için halk sağlığını doğrudan tehdit etmektedir. Özellikle Türkiye gibi kuş göç yolları üzerinde bulunan ülkeler, sınırları içerisinde virus varlığını takip etmeli ve bilgileri güncel tutmalıdır. Komşu ülkelerdeki durumun bilinmesi virusun takibinin tutulmasında gerekli ön bilgiyi sağlayacaktır. Tüm dünya üzerinde literatüre geçmiş USUV'la ilgili durum özeti ülke bazında ayrılarak yazının devamında sunulmuştur.

2. USUV'un Ülkelere Göre Dağılımı

Almanya, Avrupa'nın tam ortasında yer almaktadır. USUV ilk olarak Almanya'da; 2010 ve 2011'de gerçekleştirilen, entomolojik araştırma sırasında

sivrisinek tabanlı bir gözetim programı kapsamında tespit edilmiştir. Bu çalışmada 70.378 dişi sivrisinek yakalanarak USUV varlığı açısından test edilmiştir. Çalışmada izole edilen virusun filogenetik analizi sonucunda, Avusturya'da ölü bir karatavukta tespit edilen suşla yakın ilişkiye sahip olduğu ortaya çıkmıştır (14). 2011'den önce yabani ve evcil kuşların ölüm oranlarında herhangi bir artış görülmezken, 2011'de 223 ölü kuşun USUV varlığı yönünden araştırılması sonucunda; 86 kuşta USUV'un RNA'sı tespit edilmiştir. Filogenetik analizlere göre, tespit edilen suşun 2001 yılında Viyana'da yüksek kuş ölümlerinden sorumlu suşla yakın ilişkide olduğu görülmüştür (15). 2011 ve 2013 yılları arasında 663 ölü kuşla yapılan bir çalışmada 209 kuşta USUV RNA'sı tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada göçmen ve yerleşik 902 kuşun kan örneklerinin incelenmesi sonucunda 8 örnekte USUV'a karşı antikor varlığı bulunmuştur (16). Bu veriler, virusun 2011 yılında yayıldığını ve Güneybatı Almanya'da yabani ve evcil kuşlarda salgınlara sebep olduğunu doğrulamıştır. Yapılan bir çalışmada 2011 ile 2015 yılları arasında 132 farklı bölgeden toplam 230 ölü kuşta (%85,7'si karatavuk) USUV RNA varlığı pozitif saptanmıştır (17). Ayrıca 2011 ve 2016 yılları arasında ülke genelinde toplanan 97.648 sivrisinekte arbovirus taraması yapılmıştır. 2 Culex pipiens havuzu USUV pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif tespit edilen virusların filogenetik analizleri sonucu, Freiburg'dan izole edilen suşun Avrupa 3; Emsdetten'de izole edilen suşun ise Afrika 3 soyundan geldiği bildirilmiştir (18). 2013'te Güneybatı Almanya'da, USUV enfeksiyonunun endemik görüldüğü bölgede, 15 km arayla 2 ölü yarasa (Pipistrellus pipistrellus) bulunmuştur. USUV ile ilgili olarak üzerinde inceleme yapılan bu 2 yarasada Avrupa 3 soyuna ait USUV varlığı tespit edilmiştir (19). 2015'te Berlin Hayvanat Bahçesi'nde (Kuzeydoğu Almanya) 2 yavru baykuşta yeni bir USUV soyu bildirilmiştir. Yeni tespiti yapılan bu virusun, Almanya'da varlığı bildirilmiş Avrupa 3 ve Afrika 3 soylarından farklı olarak, Afrika 2 soyuna ait olduğu dikkatleri çekmiştir (20). Ertesi yıl Leipzig şehri çevresinde çok sayıda ölü karatavuk bulunmuştur. İlaveten, hayvanat bahçesinde bulunan 14 karatavuk ve 1 büyük gri baykuşa USUV varlığı ile ilgili yapılan testlerin sonuçları pozitif saptanmıştır. Yapılan filogenetik analizlere göre, Doğu Almanya'da Avrupa 3, Afrika 2 ve Afrika 3 suşları birlikte sirkülasyon göstermektedir. Aynı çalışmada, Leipzig'e 50 km uzaklıkta bulunan Zeitz şehrinde hiçbir ölü kuş rapor edilmediği halde, 1 Culex pipiens'te USUV varlığı bildirilmiştir (21). 2017 ve 2018'de 1.709 canlı kuşta ve 2017'de teslim edilmiş olan ölü kuşlarda USUV taraması yapılmıştır. Canlı kuşların 57 kan örneği ve ölü kuşların 100 organ örneğinde USUV RNA pozitif bulunmuştur. Filogenetik analizlerde, Almanya'nın ilk

Avrupa 2 soyu tespiti yapılmıştır. Ayrıca Avrupa 3 ve Afrika 3 soylarının Kuzey Almanya'da yayıldığı ortaya çıkartılmıştır. USUV seroprevalans oranları her iki yılda da Doğu Almanya'da yüksek olduğu raporlanmıştır. Kuzey Almanya'da ise ilk kez yüksek seroprevalans oranları 2018'de, USUV'nun bu bölgede ortaya çıkmasıyla tespit edilmiştir (22). Almanya'da, göçmen ve yerleşik kuşlarda zoonotik artropod kaynaklı virusların izlenmesi amacıyla ülke çapında bir kuş gözetim ağı kurulmuştur. Bu çerçevede; 2018 ve 2019 yıllarında toplanan 6 ölü kuşta, USUV ve BNV ko-enfekte olarak saptanmıştır. USUV'ları dağılımına bakıldığında, 2 örneğin Afrika 2, 3 örneğin Afrika 3 ve 1 örneğin ise Avrupa 2 soyundan olduğu bildirilmiştir. BNV-USUV ko-enfeksiyonu için bir diğer bildirim, hayvanat bahçesindeki baykuş vakalarından gelmiştir. BNV vakası olarak tespit edilmiş canlı 4 baykuşun tümünde; BNV ve USUV'a karşı yüksek nötralize edici antikor titreleri ve 2'sinde her iki virusun nükleik asit varlıkları tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, gelecekte özellikle sivrisinek ve kuşların ortak yaşam alanlarına yakın yaşayan insanlarda ve diğer hayvanlarda BNV ve USUV ko-enfeksiyonu vakalarının artacağı düşünülmektedir (23). 2022'de yayınlanan bir rapor, 2019 ve 2020 yıllarına ait 2.345 kuş kanının moleküler ve serolojik incelenmeleri sonucunu bildirmiştir. Rapora göre; Avrupa 3 ve Afrika 3 soyları ülke geneli bulunurken, Avrupa 2 soyunun Doğu Almanya'da artış gösterdiği belirtilmiştir. Seroprevelans çalışmaları sonucunda ise, USUV seroprevelansının %3,11 ve %7,20 arasında olduğu raporlanmıştır. Her iki yılda da virusun batıya ve güneye doğru yayılma gösterdiği görülmüştür (24). USUV, kuşlar haricinde atları da enfekte etmektedir. Doğu Almanya'da atlardan toplanan 940 serum örneğinin 8'inde USUV'u nötralize eden antikorlar bulunmuştur (25). Avrupa'da ilk insan USUV enfeksiyonu vakası 2009'da İtalya'da ve ikinci olarak Almanya'da bildirilmiştir (26-27). Eylül 2011 ile Kasım 2012 tarihleri arasında USUV enfeksiyonu şüpheli Alman hastalardan alınan 31 serum numunesi, USUV'a özgü antikorlar bakımından test edilmiştir. Tüm örnekler negatif çıkmıştır. Ancak Ocak 2012'de Güneybatı Almanya'da toplanan 4.200 serum örneğinden birinde USUV- IgG ve IgM için pozitiflik tespit edilmiştir (27). 2016'da bir kan bağışçısında akut asemptomatik USUV enfeksiyonu (Avrupa 3) saptanmıştır (28). Sunulan veriler, USUV'un 2011'den beri Almanya'da endemik olarak dolaşarak periyodik epizootiklere neden olduğunu göstermektedir. 2020'li yıllarda Almanya'da USUV ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır.

Avusturya, Orta Avrupa'da konumlanmıştır. USUV; Avusturya'da ilk kez 2001 yılı yazının sonlarında, çeşitli kuş türlerinde toplu ölümlerin görülmesi

sonucunda tespit edilmiştir. Afrika'dan sonra ilk defa tespiti Avusturya'da yapılmıştır. Kır kırlangıcında virusu tespit etmeleri, göçmen kuşların virusun bulaşmasında ve yayılmasında etkili olduğunu düşündürmüştür (29). 2002 yılında, ağırlıklı olarak karatavuk olmak üzere kuş ölümleri devam etmiştir. Laboratuvar incelemesinde 72 kuşun 30 tanesi USUV için pozitif tespit edilmiştir (30). 2001'den 2006'ya kadar USUV, Avusturya'da kuş ölümlerinden sorumlu olmuştur. Yapılan çalışmalara göre; 2003 ve 2004 yıllarında seropozitif yabani kuşların oranı %10'dan düşük iken, 2005 ve 2006'da %50'den yukarıya yükseldiği görülmüştür. Bununla orantılı olarak; USUV pozitif kuşların oranının 2004'ten sonra önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Sürü bağışıklığı, son yıllarda Avusturya'da USUV ile ilişkili kuş ölümlerindeki önemli düşüşün olası bir açıklamasıdır (31). Öte yandan, 2006 ve 2007 yıllarında Viyena'da bulunan hayvanat bahçesinde yapılmış çalışmada, USUV seroprevalansı %8,75 tespit edilmiştir (32). Yabani kuşlarda sürü bağışıklığının artması sonucu USUV'un epidemiyolojisi etkilenerek son yıllarda kuş ölümlerinde azalmaya neden olmuştur (31). 2016 yılında 2 tane karatavukta USUV varlığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada yapılan moleküler analizlere göre, USUV sirkülasyonunun İtalya, Avusturya ve Macaristan arasında sürdüğünü göstermiştir. Etkilenen bölgelerin; 2017'de Doğu Avusturya'da, 2018'de güneye ve batıya doğru genişlemesiyle ikinci bir USUV ile ilişkili karatavuk ölüm dalgası gözlemlenmiştir. 2017'deki bir USUV Afrika 3 soyu vakası dışında, Avrupa 2 en yaygın genetik soy olmaya devam etmektedir (33-34). Birçok kuşun ölümünden sorumlu olan USUV'un ana vektörünün sivrisinekler olduğu tespit edilmiştir (35). Yine 2022 yılında Avusturya havaalanında, ulusal gözetim programını güçlendirmek için sivrisinek izleme programı kurulmuştur. Havaalanının seçilmesinin en temel sebebi, farklı ülkelerden insanların en yoğun olarak bulunduğu yer olmasıdır. USUV'un varlığını sürdürebilmesi için kuşlara ve sivrisineklere ihtiyacı vardır. Bu nedenle; havaalanında sivrisinek kontrolü virusla mücadelede oldukça önemlidir (36). Avusturya'daki insan vakalarına bakacak olursak; virusun, yabani kuşlarda aktif olduğu 2003 yılının Ağustos ve Eylül aylarında döküntü şikayeti bulunan genç bir adamın kanının analizi sonucunda USUV'a özgü nükleik asit tespit edilmiştir. İlaveten o yıl insanlarda yapılan kan taramalarında; 208 kişinin 54'ünde USUV'unu nötralize eden antikorlara rastlanmıştır (37). 2017 yılının Temmuz ve Ağustos aylarında, kan bağışı yapan 12.047 kişinin altısının USUV pozitif olduğu bildirilmiştir (38). Ertesi yıl 18 kişide USUV varlığı tespit edilmiştir. Avusturya'da insan vakalarının en yüksek olduğu yıl 2018'dir (39). Genelde insanlarda asemptomatik seyreden USUV'la ilgili, 2022

yılında nöroinvaziv karakterde 1 hastalık vakası bildirilmiştir (40). Sunulan veriler, USUV'un Avusturya'da yaygın olduğunu göstermiştir.

Belçika, Batı Avrupa'da yer almaktadır. Belçika'nın Meuse Vadisi'nde; tüm ömrü boyunca esaret altında tutulan 3 yaşındaki şakrak kuşu (Pyrrhula pyrrhula) 15 Ekim 2012'de spesifik olmayan klinik belirtiler (hareketsizlik, dalgalı tüyler, yarı kapalı gözler ve anoreksiya) ile birlikte ciddi nörolojik belirtiler (depresyon, koordinasyon bozukluğu, uçamama, sarsıntılı hareketler, tortikolis ve nistagmus) sebebiyle hastaneye kaldırılmıştır. Aradan beş gün geçtikten sonra yabani hayatta, yetişkin, benekli bir ağaçkakan (Dendrocopos major), benzer klinik belirtilerle aynı hastaneye getirilmiştir. Kuşların klinik muayenelerini takiben 36-48 saatlik gözlem sonrasında, nörolojik belirtilerin kötüye gitmesi sebebiyle ötanazileri gerçekleştirilmiştir. Sonrasında nekropsileri yapılmış ve USUV varlığı her ikisinde de saptanmıştır (41). 2016 yazının sonunda, özellikle Avrasya Karatavuklarında (Turdus merula) olmak üzere Belçika›nın Flanders kentinde alışılmadık derecede yüksek ölüm oranları tespit edilmiştir. Pasif bir gözetim programıyla, bölgenin sürekli kontrollerinin yapılması sonucunda, USUV salgınından kaynaklı ölümlerin olduğunu ortaya çıkartmıştır. Ayrıca nekropsi sonuç raporlarında, nekropsisi yapılmış kuşların %99'unda USUV'un Plasmodium ile ko-enfeksiyon şeklinde seyrettiği belirtilmiştir (42). Liege şehrinde ciddi nörolojik belirtilerle can çekişen 5 yabani, yetişkin kuşun (3 karatavuk, 1 kızılgerdan; Erithacus rubecula ve 1 serçe; Passer domesticus) hayattaki ve ölümden sonraki incelemeleri yapılmış ve USUV varlığı bildirilmiştir (43). Aynı şehirde o yılın kışında, 1 sivrisinekte de USUV varlığı tespit edilmiştir (44). Güney Belçika'da, vahşi yaşamı izleme sırasında, 2017 ve 2018 yıllarında kuşlarda ve yarasalarda USUV ile ilgili araştırma yapılmıştır. 15 farklı türden 253 kuşun 69'unda ve 10 yarasanın 2'sinde USUV RNA'sı tespit edilmiştir (45). USUV; ötücü kuşlar (Passariformes) ve baykuşlar (Strigiformes) dışında ilk defa kazsılarda (Anseriformes) rapor edilmiştir (46). Belçika'da yabani kuşlarda ve sivrisineklerde çalışmalara ilaveten; bir çalışmada koyunlar ve yaban domuzları hedef alınmıştır. 831 yaban domuzunun 28'inde ve 480 koyunun 2'sinde USUV'a karşı antikor varlığı bildirilmiştir (47). Belçika'da insan USUV enfeksiyonları hakkında bilgi henüz literatürde yerini almamıştır.

Birleşik Krallık; Avrupa anakarasının kuzeybatı kıyılarında, Kuzeybatı Avrupa'da konumlanmıştır ve Galler, İngiltere, İskoçya ve Kuzey İrlanda olmak üzere dört ülkeden oluşmaktadır. USUV'la ilgili olarak Birleşik Krallık'ta; 2001 ve 2002'de çeşitli kuş türlerinden ve kümes hayvanlarından alınan 91 serum örneği üzerinde yapılan serolojik bir araştırma, 49 örneğin USUV nötralize

edici antikorlar için pozitif olduğunu göstermiştir. Çalışmada; USUV'un Birleşik Krallık'ta bulunan kuşlara sivrisinekler veya göçmen kuşlar vasıtasıyla bulaşmış olabileceğini vurgulamıştır (48). USUV antikorları, 2004 yılında Cambridgeshire'daki bir İngiliz çiftliğinde sentinel yetiştirilmiş tavukların serum örneklerinde de doğrulanmıştır (49). "Sentinel" kavramı, bir tehlikeye karşı önceden uyarı sağlayarak insanlara yönelik riskleri tespit etmek için kullanılan, genellikle hayvanlar olan organizmalardır. Ağustos 2020'de, uzun vadeli bir hastalık gözetim programının bir parçası olarak, İngiltere, Greater London'dan 5 Avrasya karatavuğunda (Turdus merula) ve 1 serçede (Passer domesticus) USUV varlığı tespit edilmiştir. Filogenetik analizle, Hollanda ve Belçika'da yaygın olan USUV Afrika 3 soyu ortaya çıkmıştır (50). 2020'de USUV'un ilk tespit edilmesinin ardından, virusun kışı geçirip geçirmediğini açıklamak için bir ekip kurulmuş ve 2021'de konakçıların ve vektörlerin gözetimini üstlenmiştir. 175 ölü kuş bildiriminden, 1 karatavukta USUV enfeksiyonu vakası tespit etmiş ve tüm USUV genomu elde edilmiştir. Ek olarak, 86 kuşun serum örneğinin 10'unda USUV'ye özgü nötralize edici antikorlar saptanmıştır (51). Şuana dek Birleşik Krallık'ta raporlanan insan vakası bulunmamaktadır.

Burkina Faso, Afrika kıtasının batı bölümünde denize kıyısı olmayan bir kısımda bulunmaktadır. USUV varlığı ile ilgili tek ama oldukça kapsamlı bir çalışma bildirilmiştir. Çalışma kapsamında; 501 insan kanı USUV'a özgü hem nükleik asit hem de USUV'a karşı antikor varlıkları yönlerinden değerlendirilmiştir. 71 numunede USUV'a özgü antikor varlığı saptanmış olup, 52'si aynı zamanda BNV ile ilgili antikorları da bulundurmaktadır. Ancak hiçbir numunede USUV nükleik asit varlığı saptanmamıştır. Aynı çalışmada ilaveten; Burkina Faso'nun iki büyük şehrinin (Ouagadougou ve Bobo-Dioulasso) farklı mahallelerinden hayvan örnekleri toplanmıştır. Çalışmada tamamı evcil toplam 81 at, 52 köpek, 50 tavuk ve 21 güvercin örneği test edilmiştir. Atların 5'i ve güvercinlerin 1 tanesi USUV'a karşı antikor içerdiği bulunmuştur (52).

Çekya, Orta Avrupa'da bulunmaktadır. 2004 ve 2006 yılları arasında Çekya'da; 28 göçmen kuştan ve yerleşik türü temsil eden 54 evcil kuştan ve 391 yabani kuştan örnek alınmıştır. Örneklem, Güney Moravya balık havuzu ekosisteminde gerçekleştirilmiştir. USUV'a karşı seropozitif olan tek örnek Sakarmeke (Fulica atra) bulunmuştur (53). USUV'un Orta Avrupa soyu, 2011 yılında Çek Cumhuriyeti›nin Brno şehrinde ölü bulunan 1 karatavuktan (Turdus merula) izole edilmiştir. Virus RNA'sı, 2012 yılında Brno'da 2 ölü karatavukta daha tespit edilmiştir (54). Başka bir araştırmada; 2010 ve 2014 yılları arasında, Güney Moravya'daki balık havuzlarından sivrisinekler (Culicidae) toplanmıştır.

1.243 havuzda gruplandırılan toplam 61.770 sivrisinek; RT-PCR ile flaviviruslar için incelenmiştir. 1 havuz USUV RNA için pozitif çıkmıştır ve filogenetik analizi, Çek USUV suşunun Avusturya ve diğer Orta Avrupa suşları ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (55). Başka bir çalışmada; 2017'de Ceske Budejovice şehrinden, 2018'de Prag şehrinden ve 2017-2019 yılları arasında Brno şehrinden olmak üzere üç farklı yerden karatavuk kadavraları toplanmıştır. Toplanan kadavralarda %36 oranında USUV RNA'sı tespit edilmiştir. Sekanslanan izolatların Avrupa 1, Avrupa 2 ve Afrika 3 soylarından oldukları belirlenmiştir. Prag'da 2018 yılında ölen karatavuklar ise Avrupa 3 soyu ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca önemli bir kuş ölümü oranının görülmediği, Güney Bohemya olarak bilinen yerde; 1 sivrisinek havuzunda Avrupa 2 soyu USUV varlığı bildirilmiştir (56). Ülkede insanlardaki USUV'la ilgili olarak şuana kadar literatürde, tek bir çalışma bulunmaktadır. 2021 yılında, bildirilen rapora göre 1 kişide USUV enfeksiyonu saptanmıştır (57). Kuşlarda ve sivrisineklerde görülen çoklu genetik soyların tespiti, Çekya'da çok sayıda USUV varlığına işaret etmektedir.

Esvatini Krallığı; eski adı ile Svaziland olup, Afrika kıtasının güney kısmında yer almaktadır. USUV, 1959 yılında ilk defa bu ülkede ve Usutu nehrinin orada keşfedilmiştir. İsmini Usutu nehrinden almaktadır (58). Ancak daha sonrasında USUV'la ilgili bir veri raporlanmamıştır.

Fas, Afrika'nın kuzey ucunda yer almaktadır. 2008'de; 46 kuştan yapılan örneklemin 1'inde USUV'a ve 2'sinde USUV ve BNV'nun her ikisine karşı nötralize edici antikorlar bulunmuştur (59). 2016'da orduda bulunan at ve köpeklerde USUV üzerine tarama yapılmıştır ve 106 atın 4'ünde, 60 köpeğin 7'sinde USUV seropozitif sonuç alınmıştır (60). 2020'de 92 atın 2'sinin USUV ve BNV'na karşı seropozitif olduğu bildirilmiştir (61).

Fransa, Batı Avrupa'da yer almaktadır. USUV komşu ülkelerde sık sık tespit edilmesine rağmen, 2015 yılına kadar Fransa'da rapor edilmemiştir. Ağustos ve Eylül 2015'te, Doğu Fransa'daki Almanya sınırına yakın iki bölgede (Haut-Rhin ve Rhone) karatavuklarda toplu ölümler gözlemlenmiştir. 2'si Haut-Rhin'de ve 3'ü Rhone'da olmak üzere 5 kuş, flaviviruslar için moleküler tespite tabi tutulmuş ve tümünde pozitif sonuç alınmıştır. Haut-Rhin ve Rhone bölümlerinden gelen USUV suşları birbirinden farklı çıkmıştır. Tüm genom USUV izolatlarının filogenetik analizi, Almanya sınırındaki Haut-Rhin'de tespit edilen viral suşların genetik olarak Orta Avrupa'da izole edilen USUV suşlarına benzer olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, Rhone'daki bir karatavuktan izole edilen suş, İspanya'da tespit edilen USUV suşları ile

en yüksek genetik homolojiye sahiptir (62). Fransa'daki ilk insan USUV vakası 2016 yılında Camargue bölgesinde tespit edilmiştir. İdiyopatik yüz felci şikayetiyle gelen hastadan beyin omurilik sıvısı (BOS) örneği alınarak, moleküler analizi yapılmıştır. USUV varlığının belirlendiği bu örneğin filogenetik analizi sonucunda, ülkede karatavuklardan yaygın tespiti yapılmış USUV/İspanya suşu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (63). İlk insan vakasıyla eş zamanlı olarak, Camargue bölgesinde toplanan 11 Culex pipiens sivrisinek havuzundan örnek alınmıştır. Moleküler ve filogenetik analizler sonucunda; USUV varlığı ve Afrika 2 ile Afrika 3 soyları oldukları tespit edilmiştir. İlaveten; sivrisinek popülasyonunda farklı suşların aynı anda ortaya çıktığı vurgulanmıştır. Karatavuklardaki, sivrisineklerdeki ve insandaki USUV vakaları aynı dönemde meydana gelmiştir (64). Yabani toynaklılar arasında yürütülen bir serolojik çalışmada (2009–2014), 1014 yaban domuzundan ve 758 karacadan serum örnekleri alınmıştır. USUV antikorlarına sadece Güney Fransa'da; yaban domuzunda %8,0 ve karacada %1,0 oranlarında rastlanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde; USUV'un, 2009'dan 2014'e kadar Güney Fransa'da sürekli sirküle olduğu ve Fransız kuş ölümlerini izleme sistemi tarafından fark edilmediği görülmüştür (65). Ayrıca, 2009-2010'da yürütülen bir serolojik araştırmada, Camargue bölgesindeki sentinel yabani kuşlarda (saksağan; Pica pica) düşük titrelerde USUV nötralize edici antikorlara rastlanmıştır (66). 2018'de kuşlarda yüksek USUV tespit oranları gözlemlenmiştir. 2017'de sadece 4 bölgede tespit edilmişken; 2018'de 46 idari bölgede ölü kuşlardan USUV tespit edilmiştir (67). 2003-2019 yılları arasında, Fransa'nın güneyinde yer alan bir hayvanat bahçesindeki kuşlarda ve memelilerde USUV'un seroprevalansı araştırılmıştır. Araştırmada, 70 türden toplam 411 numune kullanılmıştır. Kuşlarda %14,59 oranında seropozitiflik saptanmış ve aynı çalışmada araştırılan diğer bir virus olan BNV'na karşı (%1,46) 10 kat yüksek bir orana sahip olduğu görülmüştür. Kuşlar arasında, büyük rhea (Rhea Americana) ve tavus kuşu (Pavo cristatus) en yüksek USUV seroprevalansını sergilemiştir. Enfeksiyonların, esas olarak bu virusların Avrupa'da yüksek sirkülasyon dönemine karşılık gelen 2016-2018 yılları arasında meydana geldiği farkedilmiştir. Araştırmada; köpekgillerde, özellikle Afrika yaban köpeklerinde (Lycaon pictus) USUV enfeksiyonunun serolojik kanıtları gözlenmiştir (68). 2016 ve 2020 yılları arasında Montpellier şehri de dahil olmak üzere Camargue bölgesinde insan, köpek, at, kuş ve sivrisinek örneklerinin serolojik ve moleküler analizleri ile tekrarlanan bir kesitsel çalışmada; BNV ve USUV prevalansını değerlendirilmiştir. Çalışmanın

sonucunda, her iki virusun da aktif olarak bulaştığını ve insanlarda, köpeklerde, kuşlarda ve sivrisineklerde daha yüksek USUV yaygınlığı gözlemlenirken, BNV yaygınlığının atlarda daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. 500 insan numunesinden 15'i USUV için ve 6'sı BNV için pozitif tespit edilmiştir (69).

Gine Cumhuriyeti, Kamerun Cumhuriyeti ve Demokratik Kongo Cumhuriyeti, Afrika kıtasında yer almaktadır. USUV'la ilgili bu üç ülke beraber bir çalışma yürütmüştür. Üç ülkenin 21 bölgesinde (Gine'de 8, Kamerun'da 4 ve Kongo'da 9), toplamda 2.579 yarasa'da arboviruslara karşı IgG antikor taramaları gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarda örneklerin; %2,3'ünün USUV'a seropozitif olduğu görülmüştür (70).

Hırvatistan, Orta ve Güneydoğu Avrupa'nın kesişim bölgesinde bulunmaktadır. Hırvatistan'da USUV dolaşımının ilk serolojik kanıtı, 2011 yılında batı Hırvatistan'dan iki atta USUV nötralize edici antikorların saptanmasıyla rapor edilmiştir (71). 2015'ten 2020'ye kadar olan dönemde, Kuzeybatı Hırvatistan'da sivrisineklerde USUV varlığına yönelik entomolojik bir araştırma yapılmıştır. Zagreb şehri ve Medimurje ilçesinde toplam 20.363 sivrisinek örneklenip, 899 havuzda gruplanmıştır. USUV RNA için gerçek zamanlı RT-PCR ile test edilmiştir. Ve sırasıyla 2016 (Aedes albopictus), 2017 (Culex pipiens kompleksi), 2018 (Culex. pipiens kompleksi) ve 2019'dan (Culex. pipiens kompleksi) birer havuz USUV için pozitif bulunmuştur. 2018 ve 2019 pozitif havuzları, USUV NS5 geninde %99,31 nükleotit homolojisini paylaşarak, her ikisi de USUV Avrupa 2 soyu içinde kümelenmiştir (72). Hırvatistan'da USUV'a özgü antikor varlığının insanlardaki ilk tespiti; 2012 yılında, Vukovar-Srijem İlçesinde ikamet eden bir insan örneğinde USUV nötralize edici antikorlara rastlanmasıyla olmuştur (73). USUV'un Hırvatistan'daki insanlardaki varlığı ise 2013 yılında BNV salgını esnasında tespit edilmiştir. BNV salgını sırasında; Zagreb ve çevresinde 3 kişinin nöroinvaziv USUV enfeksiyonu vakası raporlanmıştır (74-75). 2017'den 2020'ye kadar insanlarda, hayvanlarda ve vektörlerde entegre "Tek Sağlık" konseptinde arbovirus sürveyansına ilişkin bir proje yürütülmüştür (CRONEUROARBO). Projenin bir parçası olarak, 2018'deki büyük BNV salgını sırasında 3 kişide daha USUV vakası tespit edilmiştir. Tespit edilen suşların sekans analizi, USUV Avrupa 2 soyu olduğunu ortaya çıkarmıştır. Aynı projede, 1 karatavukta ve sivrisineklerde de USUV varlığı tespit edilmiştir. Projenin literatüründe; arbovirusların kontrol edilmesinde sürekli olarak multidisipliner "Tek Sağlık" sürveyansının önemi vurgulanmıştır (76). 2019'da, tekrar 1 kişide USUV seropozitiflik bildirilmiştir (58).

Hollanda, Avrupa kıtasının batısında yer almaktadır. Hollanda'da USUV ilk olarak 2016 yılında, karatavuklarda ve büyük gri baykuşlarda artan ölüm oranlarının dikkatleri çekmesi ve nekropside RT-PCR yapılması sonucunda tespit edilmiştir (77). 2014 ve 2015 yılları arasında, kuş gribi izleme programında toplanan 265 serum örneğinin 7'sinde USUV'a karşı antikor varlığı bildirilmiştir (78). 2016 ile 2018 yılları arasında ise 165 ölü karatavukta RT-PCR ile USUV varlığı taranarak, 118 örnekte poziftik saptanmıştır. 118 örneğin; 112'sinin tama yakın veya tam viral genomu elde edilmiş ve filogenetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Analizlerde; Avrupa 3 ve Afrika 3 soyları tespit edilmiştir (79). Hollanda'da USUV enfeksiyonunun insanlardaki durumu ile ilgili olarak; 2018 yılında 2 kan bağışçısında USUV Avrupa 3 soyu rapor edilmiştir (80).

İran, Güneybatı Asya'da yer almaktadır. İran'da yayınlanan bir literatürde; 2,5 yaşındaki bir kısrağın USUV veya BNV'a karşı seropozitif olduğunu söylemektedir. Ancak kesin ayırıcı teşhisi yapılmamıştır (81).

İspanya, Avrupa›nın güneybatısındaki İber Yarımadası'nda konumlanmıştır. USUV, İspanya'da ilk kez 2006 yılında bir sivrisinek havuzunda keşfedilmiştir (82). 2009'da Culex perexiguus cinsi sivrisineklerde USUV tespit edilmiştir. 2006 yılında ülkede bildirilmiş olan Culex pipiens cinsi sivrisineklerde saptanmış suşla, bulunan suşun aynı olduğu belirlenmiştir (83). 2011 yılında, Endülüs'te (Güney İspanya) yem olarak kullanılan su kuşlarında ve yabani yırtıcı kuşlarda flavivirus seroprevalansını belirlemek için epidemiyolojik bir araştırma yapılmıştır. Endülüs'ün örneklem bölgesi seçilmesinin sebebi; İspanya'da flavivirus sirkülasyonu açısından en yüksek riske sahip olduğu düşünülen bölge olmasıdır. USUV seroprevalansı, %49,4 ile diğer flaviviruslardan daha yüksek bir oranda görülmüştür (84). 2011 ve 2012 yılları arasında kekliklerde (Alectoris rufa) ve sülünlerde (Phasianus colchicus) uygulanan bir flavivirus sürveyans programında, USUV için %10'luk bir seroprevalans göstermiştir ve sülünlerde (%54) kekliklere (%7) göre daha yüksek seropozitiflik gözlenmiştir (85). Aynı yıllarda Mallorca Adası'nda; dolaşımdaki arbovirusların özellikle ensefalite neden olan flavivirusların izlenebilmesi amacıyla; sulak alanlara yakın yerlerdeki atlar sentinel hayvan olarak kullanılmıştır. 172 attan toplam 291 kan örneği alınmıştır. Sonuçlara göre USUV için seroprevalans %1,2 tespit edilmiştir (86). 2012'de Güney İspanya'da ensefalitten ölen iki ötücü kuşta (Turdus philomelos) USUV RNA tespit edilmiştir (87). 2013 yılında yakalanan farklı göçmen ve yerleşik kuşlarda Huelva, Cádiz ve Sevilla illerinde (Güney İspanya) BNV iletimi üzerine kapsamlı bir çalışma yürütülmüştür. Çalışma esnasında, yetişkin 1 karatavuktan (Turdus merula) alınan serum, hem BNV hem de Usutu virusunun

nötralizasyonunu göstermiştir (88). 2003'ten 2014'e kadar, yabani geviş getiren hayvanlarda USUV'ye maruz kalma değerlendirilmiştir. Serbest yaşayan ve yetiştirilen alageyik (Cervus elaphus), alageyik (Dama dama), muflon (Ovis aries musimon) ve karacadan (Capreolus capreolus) alınan serum numuneleri, biyobölgeye göre %0,1-0,2 seroprevalans oranları göstermiştir (89). 2013 ve 2014 yılları arasında Córdoba'dan (Güney İspanya) yabani güvercinlerde (Columba livia var. domestica) ve tutsak hayvanat bahçesi kuşlarında yürütülen bir serolojik araştırmada, %3,6 USUV seropozitif hayvan bulunmuştur (90). 2018 ve 2019 yıllarında Extremadura bölgesinde; 743 at, 6 katır ve 17 eşekten alınan serum örneklerinde yapılan taramada USUV 11 hayvanın seropozitif olduğu görülmüştür (91). 2002 ve 2019 yılları arasında, 10 hayvanat bahçesinde 120 memeli türüne ait 570 serum örneği toplanmış ve incelenmiştir. İncelemelerde, şempanze (Pan troglodytes), bayağı geyik (Taurotragus antilop), dev panda (Ailuropoda melanoleuca), malaya tapiri (Tapirus indicus) ve beyaz gergedan (Ceratotherium simum) olmak üzere 5 hayvan USUV seropozitif çıkmıştır (92). 2010 ile 2019 yılları arasında; Katalonya'da 3791 kuş ve 1856 at serumlarında USUV seropozitifliği bakılmıştır. 19 kuşta ve 11 atta seropozitiflik saptanmıştır (93). Ekim 2017 ile Aralık 2019 arasında Extremadura'da, 56 farklı türe ait 391 yabani kuştan 394 kan numunesi toplanmıştır. 2 kartal baykuşu (Bubo bubo), 1 kızıl akbaba (Gyps fulvus) ve 1 toy kuşu (Otis tarda) olmak üzere 4 kuşun USUV seropozitf olduğu bildirilmiştir. Toy kuşunda USUV ile ilgili durum Avrupa'da ilk kez tespit edilmiştir (94). Avrupa'da ilk kez sarı taçlı piskoposta (Euplectes afer) USUV varlığı 2022 yılında rapor edilmiştir (95). Pek çok hayvan türünde USUV tespiti, virusun İspanya'da dolaştığını göstermektedir. Ancak, şuana dek hiçbir insan USUV enfeksiyonu vakası bildirilmemiştir.

İsrail, Orta Doğu›da Doğu Akdeniz kıyısında yer almaktadır. İsrail'de; 2014'te 5 ve 2015'te 1 olmak üzere, toplam 6 sivrisinek havuzunda USUV RNA'sı tespit edilmiştir (96). Atlarla ilgili USUV'a yönelik ilk çalışma ise 2018 yılında yapılmıştır. Bu kapsamda 185 attan serum numunesi toplanmış ve USUV'a karşı nötralize edici antikorlar için test edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, 20 atın USUV seropozitif ve 16 atın ise USUV ve BNV'na seropozitif olduğu görülmüştür (97).

İsviçre, Batı Avrupa'da bulunmaktadır. İsviçre'de USUV; Zürih şehrinde yabani ve evcil ötücü kuşlar (Passeriformes) ile baykuşlarda (Strigiformes) ölüm oranlarının çok fazla artmasıyla, 2006 yazının sonunda görülmüştür. Tüm hayvanlar 2 km^2'lik bir alanda bulunuştur. Gözlenen klinik belirtiler arasında depresyon, dalgalı tüyler, koordinasyon bozukluğu, nöbetler ve perakut

ölüm raporlanmıştır. RT-PCR ile kesin tanısı konulmuştur. Kısmi nükleotit sekansı karşılaştırmalarında, 2006'da Zürih'te, 2001'de Viyana'da ve 2005'te Budapeşte'de ortaya çıkan virusler arasında %99'dan fazla özdeşlik olduğu görülmüştür (98). Avusturya salgınında en fazla etkilenenler karatavuklar iken, İsviçre salgınında en fazla serçeler etkilenmiştir (29). Ekim 2006 ile Ağustos 2007 arasında, Zürih Hayvanat Bahçesi'ndeki farklı kuşlardan alınan serumlar USUV'a özgü antikorlar yönünden analiz edilmiş ve %5,3'lük seropozitiflik görülmüştür. Ayrıca Strigiformes (baykuşlar) takımı, diğer kuş takımlarına kıyasla en yüksek USUV seroprevalansını sergilemiştir (32). 2011 ve 2012'de USUV, Ticino'daki sivrisineklerde rastlanmış ve yakın zamanda aynı bölgede doğrulanmıştır (99-100). İsviçre›deki ilk insan vakası; 2021'de Cenevre Üniversitesi Hastanesi'nde, 23 yaşında erkek bir hastada raporlanmıştır (101).

Güney Avrupa'da konumlanmış İtalya'da USUV ilk olarak 1996'da Toskana bölgesindeki kuş ölümlerinden alınan arşivlenmiş doku örneklerinin retrospektif analizinde tespit edilmiştir (102). 2006 ve 2008 arasındaki yazlarda, Kuzey İtalya'da 2 serbest yaşayan karatavuk ve 3 tutsak baykuşta USUV enfeksiyonu doğrulanmıştır. Filogenetik analiz, İtalyan USUV suşlarının diğer Orta Avrupa ülkelerinden gelenlerle %99,8-100 nükleotid özdeşliği olduğunu ortaya çıkarmıştır (103). Son yıllarda USUV'un Orta Avrupa'da yayılması sebebiyle 2001 yılından itibaren İtalya'nın bazı yerlerine sentinel hayvan olarak tavuk sürüleri yerleştirilmiştir. Periyodik kontroller esnasında Temmuz 2007'de Ravenna eyaletinde bulunan 20 hayvanlık bir sürüde 1 tavuk seropozitif bulunmuştur. İki ay sonra aynı sürüde başka 1 tavuk daha seropozitif tespit edilerek, USUV'nun Kuzeydoğu İtalya'da dolaşımının kanıtı ortaya konmuştur (104). İtalya'da USUV sirkülasyonunu izlemek için iki yıllık bir çalışma (2008-2009) yapılmıştır. Sentinel hayvan olarak; atlar, tavuklar, yabani kuşlar ve sivrisinekler örneklenmiş ve WND Ulusal Gözetim planı dahilinde USUV ve USUV antikorlarının varlığı açısından test edilmiştir. Sentinel hayvanlarda kanıtlanan serokonversiyon, bu iki yılda virusun Toskana, Emilia Romagna, Veneto ve Friuli Venezia Giulia bölgelerinde dolaştığını kanıtlamıştır. Veneto'da USUV, en az bin kuşu kapsayan ciddi bir karatavuk ölüm hastalığına neden olmuştur. Veneto ve Emilia Romagna bölgelerinden gelen 9 karatavuk (%52,9) ve 2 saksağanın (%0,5) organlarında 11 viral suş tespit edilmiştir. USUV, Toskana'da yakalanan 1 Culex pipiens havuzunda da tespit edilmiştir. NS5 kısmi dizilerinin hizalanmasına göre, Veneto, Friuli ve Emilia Romagna bölgelerinden izole edilen İtalyan USUV suşları arasında fark gözlenmemiştir. İtalyan Kuzeydoğu suş sekansları, bir insan hastanın beyninde tespit edilen

suşunkilerle aynı bulunmuştur ve Viyana ile Budapeşte izolatlarıyla yüksek bir benzerliğe sahiptir. Tersine, kuzeydoğu bölgelerinde dolaşan İtalyan türleri ile Toskana'da yakalanan 1 C. pipiens havuzunda tespit edilen USUV türü arasında çok az fark saptanmıştır. İtalyan Kuzeydoğu izolatının tam genom dizisi Avrupa'da dolaşan suşlarla karşılaştırıldığında; hem nükleotit hem de amino asit seviyesinde yüksek derecede benzerlik bulunmuştur. Kuzeydoğu İtalyan soy dizisi, Güney Afrika referans türü SAAR-1776 ile %97 özdeşlik sergilemiştir. Atlarda 2008'de (%89,2) 2009'a (%7,8) göre daha yüksek bir seroprevalans bulunmuştur (105). 2009'da USUV insan vakalarının meydana geldiği Kuzey İtalya'nın aynı bölgesinde, 2008'den beri sivrisinek izleme ve yabani kuş taramasına dayalı bölgesel bir BNV sürveyans programı uygulanmaktadır. Sivrisinek havuzları ve yabani kuşlar, BNV ve USUV bakımından test edilmiştir. 2009 yazında 56 havuz (54'ü Culex pipiens ve 2'si Aedes albopictus) USUV pozitifti. Ayrıca, test edilen 1218 yabani kuştan, sadece 11 kuş USUV pozitif saptanmıştır (106). 2010 yılında Emilia-Romagna Bölgesinde sivrisinek, kuş ve insan örnekleri USUV yönünden teste tabi tutulmuştur. 12 kuş ve 89 sivrisinek havuzu USUV pozitif tespit edilmiştir. 30 insan akut meningoensefalit vakasının değerlendirildiği bu çalışmada hiçbiri USUV pozitif sonuç vermemiştir (107). 2010 ve 2014 yılları arasında Emilia-Romagna ve Lombardiya bölgelerindeki (Kuzey İtalya) sivrisineklerden ve yabani kuşlardan izole edilen 15 USUV suşunun tüm genom dizileri, USUV Avrupa 2 ve Avrupa 4 soylarının dolaşımda olduğunu göstermiştir (108). 2011–2012'de, Campania bölgesindeki (Güney İtalya) 183 av köpeğinde genel prevalans %13,11 olan bir serolojik araştırma yapılmıştır (109). 2011 ve 2013 yılları arasında örneklenen Kuzey İtalya'dan (Piedmont ve Lombardy bölgesi) toplam 158 gri sincap (Sciurus carolinensis) %3,2 ila %3,8 arasında USUV seropozitifliği göstermiştir (110). Ayrıca, Mart 2012'den Haziran 2013'e kadar, Kuzeybatı İtalya'da 47 farklı yabani kuş türünden 297 serum numunesi toplanmıştır ve 4'ünde (%1,34) USUV için seropozitif olarak saptanmıştr (111). 2014'te Piemonte ve Liguria Bölgelerinde (Kuzeybatı İtalya) Batı Nil ve Usutu viruslarının varlığı, risk faktörü yaklaşımına dayalı olarak uygulanan bir entomolojik sürveyans yoluyla ilk kez kanıtlanmıştır (112). Kenelerin USUV taşıyıcıları olarak potansiyel rolünü değerlendirmek için, 2012 ile 2014 yılları arasında Kuzeybatı İtalya'daki 379 yabani kuştan 1721 kene toplanarak, test edilmiştir. Ancak sonuçlara göre; tüm örnekler negatif bulunmuş ve bu Ixodes spp. kenelerin USUV için uygun vektörler olmadığı anlamına gelmektedir (113). Avrupa'da insanlarda görülen USUV vakası ilk kez 2009'da İtalya'da

denk gelmiştir. USUV Avrupa 1 soyunun neden olduğu ilk insan USUV nöroinvaziv enfeksiyon vakaları 2009'da belgelenmiştir (26-114-115). Modena'da 2008 ile 2011 yılları arasında nörolojik bozukluğu olan veya olmayan 915 hastadan toplanan BOS ve serum örnekleri üzerinde retrospektrif olarak bir araştırma yapılmıştır. Örneklerin %1,1'inde USUV RNA ve %6,57'sinde USUV'a karşı oluşan antikorların varlığı tespit edilmiştir. Filogenetik analizlerde, İtalyan izolatlarının Orta Avrupa izolatları ile beraber kümelendiği görülmüştür (116). 2012'de Kuzeydoğu İtalya'da 359 kan bağışçısının USUV'a karşı oluşan IgG bakımından analizi yapılmış ve 4 kan donörünün seropozitif olduğu tespit edilmiştir (117). Bir araştırmada; Po nehri vadisindeki 33 orman işçisinden Ekim 2014 ile Aralık 2015 arasında toplanan üç ardışık kan örneğinde USUV'ye karşı antikorlar ölçülürken, aynı coğrafi bölgeden 200 kan bağışçısından alınan örnekler paralel olarak test edilmiştir. 6 orman işçisinde (%18,1) ve 2 kan bağışçısında (%1) nötralize edici ve IgG antikorları bulunmuştur. Sonuçlar, Kuzey İtalya'daki yüksek nüfuslu bir bölgenin parçası olan incelenen alandaki USUV sirkülasyonunun beklenenden daha yüksek olduğunu göstermektedir. Sağlıklı denekler, bitişik bir bölgede önceki bir raporda bulunandan (%0,23) daha yüksek bir yaygınlık sergilerken, risk altındaki nüfus çok daha yüksek bir yaygınlık değeri (%18,1) göstermektedir (118). 2016-2018 döneminde, Lombardiya bölgesindeki asemptomatik kan bağışçılarında USUV için beklenmedik bir yüksek seropozitiflik (%46,3) bulunmuştur. 54 örneğin 25'i pozitif sonuç vermiştir. (119). Ulusal sürveyans planına göre 2017 ve 2018'de (Haziran-Kasım) Lazio bölgesinde BNV için kan bağışı taraması zorunlu tutulmuştur. Bu yıllarda BNV negatif olan 5 hasta, USUV pozitif çıkmıştır. Filogenetik analizlere göre Avrupa 2,3 ve 4 soylarına ait oldukları belirlenmiştir (120). Ek olarak, 2018'de Kuzey İtalya'da 8 insan USUV enfeksiyonu vakası (1'i nöroinvaziv hastalık, 6'sı ateş ve 1 viremik kan donörü ile artralji ve miyalji) tespit edilmiştir. Bu çalışmanın dikkat çekici bir bulgusu, USUV RNA'nın takip sırasında 3 hastanın kan ve idrarında kalıcı olmasıdır. Ayrıca, 2 hastadan alınan USUV genom dizileri, aynı alandaki sivrisinek havuzlarında saptanan ve Avrupa 2 soyu içinde kümelenen USUV dizileriyle %99'un üzerinde özdeşlik paylaşmıştır (121). 2015 ile 2019 yılları arasında Ferrara'da 1.842 ölü kuşun moleküler analizi sonucunda 67 kuşun USUV pozitif olduğu saptanmıştır. Filogenetik analizlere göre Avrupa 2 soyu olduğu da doğrulanmıştır. Çalışma esnasında en yüksek enfeksiyon oranının Ağustos ayı olduğu gözlenmiştir. Güvercingiller (Columbiformes) en yüksek USUV prevalansını (%8) sergileyenler olmuştur (122). 2018'de; 8.889 insanın

2'si ve 56 sivrisinek havuzunun 17'si USUV pozitif raporlanmıştır. İnsanlardan izole edilen USUV'ların Avrupa 2 soyuna ait oldukları belirtilmiştir (123). Kuzeydoğu İtalya'da 2011 ile 2018 yılları arasında; 23.371 sivrisinek havuzunun ve 3.946 yabani kuşun USUV varlığı yönünden incelenmesiyle, 138 USUV tüm genomu elde edilmiştir. Sonuçlara göre; İtalya'da Avrupa 1,2,3 ve 4 soylarının hepsinin dolaşımda olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca virusun geçirdiği mutasyonlar sonucunda Avrupa 2A ve 2B olmak üzere iki yeni alt soy literatüre girmiştir (124). Kuzey İtalya'nın Emilia-Romagna bölgesindeki Bologna eyaletindeki bir vahşi yaşam kurtarma merkezinde Temmuz-Eylül 2018 arasında toplanan tüm yabani karatavuklarda USUV enfeksiyonu teşhis edilmiştir. Nörolojik klinik belirtileri olan 56 deneğin tümü USUV için pozitif tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen USUV genomları, 2009'dan beri Emilia-Romagna bölgesinde tespit edilmiş olan ve zaten Avrupa 2 olarak adlandırılan soyda yer almaktadır (125). 2019'da, aseptik menenjiti düşündüren semptomlarla enfeksiyon hastalıkları bölümüne başvuran 1 hastada USUV'a karşı antikor varlığı bildirilmiştir (126). 2012'den 2014'e kadar önemli geçiş yolları boyunca yer alan 11 İtalyan tesisinde ilkbahar ve sonbahar göçünün zirve yaptığı dönemlerde örnek alınan göçmen kuşlar üzerindeki moleküler ve serolojik araştırmaların sonuçlarına göre, %0,32'sinde USUV'a karşı nötralize edici antikorlar bulunmuştur (127). 2021'de Emilia-Romagna (Kuzey İtalya) ovalarında sivrisineklerde USUV varlığı bildirilmiştir (128).

Kenya Cumhuriyeti, Afrika kıtasının doğusunda yer almaktadır. 2007 ve 2012 yılları arasında ülkenin çeşitli yerlerinde sivrisinek kaynaklı arboviruslarla ilgili bir çalışma yapılmıştır. Kisumu şehrinde 1 örnekte USUV varlığı tespit edilmiş ve literatürde yerini almıştır (129).

Kuzey Avrupa'da yer alan Lüksemburg'da, bildirilmiş tek bir vaka mevcuttur. 2020 yılının Eylül ayında ölü 1 Avrasya karatavuğunda (Turdus merula) USUV varlığı rapor edilmiştir. İzolasyonu yapılan virusun, Afrika 3 soyundan olduğu belirtilmiştir (130).

Macaristan, Orta Avrupa'da konumlanmıştır. Macaristan'da, kuş gribi izleme programının bir parçası olarak 2003 yılından bu yana her yıl ölü yabani kuşların pasif gözetimi yapılmaktadır. 2003 ve 2006 yılları arasında 52 türe ait 332 ölü kuş analiz edilmiştir ve 2005'te Budapeşte'de ölü bulunan 1 karatavuğun (Turdus merula) organ örneklerinde USUV'a rastlanmıştır. Ertesi yıl Budapeşte'nin kentsel bölgelerinde ölü bulunan 6 karatavukta daha USUV varlığı tespit edilmiştir. Bir Macar USUV suşunun tüm genom analizi sonucunda, 2001'den beri Avusturya'da dolaşan suşla %99,9 oranında benzerliği olduğu

bulunmuştur. Bu sonuca göre, Budapeşte'deki karatavuk ölümlerinden sorumlu olan USUV türünün Afrika'dan değil, Avusturya'dan Macaristan'a yayıldığını düşündürmüştür (131). 2010 ve 2015 yılları arasında USUV, sporadik yabani kuş ölüm vakalarına neden olurken, 2016 yaz ve sonbaharında vaka sayısı önemli ölçüde artmıştır. 2016 yılında, 1 Alaca kargası (Garrulus glandarius), 1 sığırcık (Sturnus vulgaris) ve 10 karatavukta olmak üzere toplam 12 kuşta USUV enfeksiyonu testi pozitif çıkmıştır. 2010, 2011 ve 2015 yıllarında tespit edilen USUV'lar Avrupa 1 soyunda yer alırken, 2016 yılında tespit edilen bir USUV Avrupa 2 soyunda yer almıştır (33-58). 2017'de 100 kuşun 5'i ve 2018'de 153 kuşun 1 tanesi USUV pozitif rapor edilmiştir. 2017'de enfekte olan 5 kuştan 4'ü Avrasya karatavuğu ve 1'i Avrasya ağaç serçesi; 2018'de tespit edilen pozitif vaka ise 1 Avrasya karatavuğu olduğu literatürde yerini almıştır (34). Macaristan'daki ilk insan USUV enfeksiyonu, 2018'de aseptik menenjitli 1 hastada tanımlanmıştır. Tespit edilen USUV suşu ile 2016 yılında 1 karatavuktan izole edilmiş USUV suşu %100 özdeşlik göstermiş olup, Avrupa 2 soyu olduğu rapor edilmiştir (132). 2019'da insanlarda BNV ve USUV seroprevalansını tespit etmek amacıyla, 3.005 kan örneği değerlendirilmiştir ve 5 kan bağışçısında USUV seropozitif sonuç vermiştir. En yüksek seroprevalans Orta, Doğu ve Güney Macaristan'da ölçülürken, ülkenin batı kesiminin daha az etkilendiği kanıtlanmıştır (133).

Güney yarım kürede yer alan bir ada ülkesi olan, Madagaskar Cumhuriyet'i Afrika kıtasına bağlıdır. USUV'la ilgili olarak sadece bir çalışma vardır. Mali ile birlikte yürütülmüş bu çalışmada, 2008 yılında 232 tavuktan serum Madagaskar'da toplanmıştır. Analiz sonuçlarına göre 2 evcil ve 2 yabani tavukta olmak üzere toplam 4 hayvan USUV seropozitif olarak bildirilmiştir (134).

Batı Afrika'da yer alan Mali'de USUV'la ilgili tek bir çalışma bildirilmiştir. 2008 yılının mayıs ayında; 235 ördek ve 235 tavuk olmak üzere toplamda 470 hayvandan örneklem yapılmış ve USUV'a karşı 15'i seropozitif saptanmıştır. Ancak bu verilerin literatürde yer alması 2020 yılını bulmuştur (134).

Nijerya Federal Cumhuriyet'i, Afrika'nın batı kesiminde yer almaktadır. Literatürde, USUV seropozitifliği insanlarda rapor edilmiştir (135).

Polonya, Orta Avrupa'da yer almaktadır. 2008'de Polonya'da BNV'una karşı antikor taraması esnasında, Polonya'da kaydedilen ilk vaka olan 1 kara başlı martıda (Larus ridibundus) USUV'a karşı nötralize edici antikor varlığına rastlanmıştır (136). Aradan on yıl geçtikten sonra, Polonya'da kuşlarda ve atlarda USUV'a karşı antikor taraması yapılmıştır. 14 kuştan 1'inde ve 411 atın 115'inde USUV'a karşı antikor varlığı görülmüştür (137).

Doğu Avrupa'da bulunan Romanya'da, bildirilmiş tek bir çalışma mevcuttur. Mayıs 2018 ile Ekim 2019 tarihleri arasında, 3 ilçeden yabani kuşların kan örnekleri toplanmış ve USUV'a karşı %2,71 oranında seropozitiflik saptanmıştır (138).

Senegal Cumhuriyeti, Afrika'nın batısında konumlanmıştır. 2021-2013 yılları arasında, arbovirusların ülkedeki durumunun ortaya konması amacıyla 4.429 havuzda 42.969 sivrisinek 10 farklı virus için test edilmiştir ve USUV %11,6 oranıyla en fazla tespit edilen virus olmuştur (139). 2013'te; BNV ve USUV'un vektörlerinin yakalanması için kullanılan tuzakların etkinliği ile ilgili yapılmış bir çalışmada, tekrardan USUV'un Senegal'de varlığı bir kez daha literatürde yerini almıştır (140). USUV'un ülkedeki soylarının araştırılması amacıyla, 4 USUV izolatı filogenetik analize tabi tutulmuştur. İzolatlar, 1974 ile 2007 yılları arasında Senegal (3 tanesi) ve Orta Afrika Cumhuriyeti'nden (1 tanesi) seçilmiştir. Avusturya, Macaristan, İtalya ve Güney Afrika'dan elde edilmiş izolatlarla karşılaştırılmıştır. Bu çalışma, Afrika'daki USUV'un genetik çeşitliliğin ve filogenetik ilişkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuçlar, USUV'un Afrika'dan Avrupa'ya yayıldığı hipotezini desteklemektedir. Yine bu çalışmada kullanılan Orta Afrika Cumhuriyeti'nden seçilmiş örneğin, ilk sekanslanan insan USUV izolatı olması açısından da önemlidir (6). Genel olarak çalışmalara bakıldığında; sivrisineklerin ve kuşların virusun doğadaki varlığının sürüdürülmesinde ve insanlara bulaşmasında rol aldığı kanısı hakimdir. 2019'da Senegal'de yapılmış bir çalışmada, ilk defa 5 kemirgende USUV varlığı rapor edilmiştir. Çalışmada, sivrisinek ve kuşların gözlenmesinin yanında kemirgenlerin de yakından izlenmesinin halk sağlığı ve epidemiyolojik çalışmalarda önemli olacağı vurgulanmıştır (141).

Avrupa'da bulunan Sırbistan'da USUV; 2009-2010 yıllarında 349 atın 1 tanesinde serolojik olarak pozitif bulunmuştur (142). 2011-2012 yıllarında Voyvodina Eyaletinde test edilen 318 yaban domuzunun 4'ünde USUV serolojik olarak pozitif tespit edilmiştir (143). Ayrıca Voyvodina'da 23.753 dişi sivrisineğin (753 havuz) USUV'a özgü nükleik asit bakımından taranması sonucunda 3 havuzda USUV RNA varlığı doğrulanmıştır ve Avrupa 1 soyundan oldukları bildirilmiştir (144). 2017'de Voyvodina'da tespit edilen USUV'ların 2 tanesi sekanslanarak, Avrupa 2 soyundan oldukları bildirilmiştir (145). 2011-2013 yılları arasında 184 köpek ve 232 attan kan serumu örnekleri toplanmıştır ve 4 köpeğin, 7 atın USUV'a karşı serolojik olarak pozitif oldukları rapor edilmiştir (146). Sırbistan'da insanlardaki vakalara bakıldığında, USUV seropozitifliği raporlanmıştır. (147).

Orta Avrupa'da yer alan Slovakya'da, USUV'un yaygınlığına ilişkin çok az veri vardır. 2013 yılında toplam 145 attan serum örneği ve 2010 ile 2014 yılları arasında toplam 109 kuş serumu örneği toplanmıştır. Çalışmada, flavivirus antikor taraması yapılmış ve atların hiçbirisinde USUV'a karşı antikor tespiti yapılamamıştır. Yanlızca Levice County'deki 4 Avrasya büyük baştankarasında (Parus major) pozitiflik saptanmıştır (148). Slovak Karst Ulusal Parkı'nda yapılmış ilginç bir araştırmada ise; 2017 ve 2018 yıllarında yakalanan yeşil kertenkelelerin (Lacerta viridis) serum örneklerinde %26,8'inde USUV nötralize edici antikorlar bulunmuştur (58). 2018'de ülkenin güneybatı kesiminde (Komárno bölgesi, Nitra bölgesi) sivrisinek örneklemesi yapılmıştır. USUV Avrupa 2 soyu varlığı bildirilmiştir (149). 2018 ve 2019'da, 4.508 sivrisinek barındıran 421 havuzun 16'sında USUV pozitif tespit edilmiştir (150). 2018 yılında insanlarda BNV yönelik yapılmış bir çalışmada, Slovakya'daki ilk USUV'a karşı antikor varlığı taşıyan insan vakasına rastlanmıştır (151).

Orta Avrupa'nın güneyinde konumlanan Slovenya'da, şuana kadar sadece iki çalışmanın bildirilmiştir. Bu çalışmalardan birinde; 17 yıl boyunca (2002-2018); 84 hayvan türünden (kuşlar, kemirgenler, tavşanımsılar, etoburlar, toynaklılar, sürüngenler, tek tırnaklılar ve primatlar dahil) 261 hayvandan 501 serum örneği toplanmıştır ve USUV'a karşı antikor varlığı rapor edilmiştir. 261 hayvanın 14'ünde USUV pozitif tespit edilmiştir. Bu 14 hayvanın dağılımına bakıldığında; 1 yaban tavşanı, 2 avrasya kurdu, 1 Kuzeybatı kurdu, 2 kobay, 1 Patagonya marası, 1 kızıl tilki, 2 Doğu beyaz pelikanı, 2 Avrasya kartal baykuşu, 1 peçeli baykuş ve 1 kar baykuşu görülmektedir (152). Diğer çalışma ise Ljubljana Hayvanat Bahçesinde yürütülmüştür. 96 hayvan türünden toplanmış, 874 serum örneğinin USUV'a karşı antikor bakımından testi yapılmıştır ve 1 kuşta pozitif sonuç alınmıştır (153).

Asya kıtasının batısında bulunan Suudi Arabistan'da; 22'si erkek ve 28'i dişi olmak üzere 50 babunda flavivirus taramaları yapılmıştır ve 6 tanesi USUV seropozitif çıkmıştır (154).

Kuzey Afrika'da yer alan Tunus'ta USUV ile ilgili durumu değerlendirmek amacıyla, Kebili şehrinde 28 at, 37 katır ve 219 eşek toplam 284 tek tırnaklı hayvandan kan alınmıştır. Yapılan testler sonucunda, 9 eşek ve 1 katırda seropozitiflik gözlenmiştir (155). Başka bir çalışma ise kuşlar üzerinde gerçekleştirilmiş olup, 226 kuştan kan örnekleri alınarak, USUV'a karşı oluşan antikor varlıkları bakılmıştır. 9 örnekte seropozitif sonuç alınmıştır (156). 2019'da yine kuşlar üzerine başka bir çalışma yapılmış ve 165 kuştan oral

sürüntü ile kan örnekleri toplanmıştır. Oral sürüntülerin tümü negatif iken; 2 kan örneği seropozitif saptanmıştır (157).

Türkiye'de; USUV varlığı ile ilgili bir bilgi henüz literatürde bulunmamaktadır. Ankara Ünivesitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı'nda, Sabri Hacıoğlu doktora tezinde göçmen kuşlarda bazı önemli zoonotik viruslar üzerine çalışmıştır. Çalışmasında; USUV varlğını da değerlendirmiş ve tüm örnekleri negatif tespit etmiştir (158). Ayrıca Türkiye'nin de içinde yer aldığı 17 ülkenin katılımıyla yapılan "Evaluation of west nile virus diagnostic capacities in veterinary laboratories of the mediterranean and black sea regions" isimli çalışmada, ülkelerin laboratuvarlarının flaviviruslarla ilgili analiz kapasiteleri ölçülmüştür. USUV'un da değerlendirmede bir parametre olduğu görülmektedir (159). Bu çalışmaya katılım sağlayan laboratuvar ile tez çalışılmasının yürütüldüğü laboratuvar aynıdır. Kısacası henüz ülkemizde vaka bulunmasa da analizinin yapılabileceği laboratuvar imkanları mevcuttur.

Uganda Cumhuriyeti, Afrika kıtasının doğu kesiminde yer almaktadır. İlk olarak ülkedeki USUV varlığı, 1964 yılında rapor edilmiştir (160). Ardından 1972'de bir çalışmada daha durum teyit edilmiştir (161). Daha sonra 2008-2012 yılları arasında, toplamda 157.554 sivrisinek içeren 8.288 sivrisinek havuzu test edilmiştir. Çalışmada USUV'un da içinde yer aldığı 11 virus taranmıştır. Kibale Ulusal Park'ta ve Jinja şehrinde; USUV varlığı tekrardan bildirilmiştir (162).

Yunanistan, Güneydoğu Avrupa'da yer almaktadır. Bugüne kadar, Yunanistan'da USUV ile ilgili yapılmış tek bir çalışma bulunmaktadır. 2010 yılında, Veria şehrinde örneklemi yapılan 1 güvercinde, USUV'a karşı nötralize edici antikor varlığı tespit edilmiştir (163). Yunanistan›da insanlarda ve sivrisineklerde USUV enfeksiyonlarına ilişkin veri bulunmamaktadır.

3. Sonuç

Şimdiye kadar USUV enfeksiyonları Avrupa, Afrika ve Orta Doğu'da bildirilmiştir (96). USUV'un zoonotik önemi ve artan maruziyeti sebebiyle birçok ülkede öncelikli araştırma alanına girmiştir. Birçok hayvanda ve insanda varlığı raporlanmıştır. Özellikle Avrupa ülkeleri tek sağlık konseptine vurgu yapmakta ve düzenli sürveyans çalışmalarını sürmektedir. Ülkemizde USUV varlığıyla veya USUV'a karşı oluşan antikorların varlığıyla ilgili olarak henüz bir bilgi bulunmamaktadır. Türkiye'nin kuş göç yolları üzerinde yer alması sebebiyle, USUV ile ilgili olarak insanlarda ve hayvanlarda gerekli taramaların yapılması oldukça önemlidir. USUV ile mücadelenin başarılı olabilmesi için;

düzenli taramaların aksatılmadan yapılması, sivrisineklerle mücadeleye özen gösterilmesi ve yaban hayatın kontrol programları ile izlenmesi elzemdir.

Kaynaklar

1. Clé M, Beck C, Salinas S, ve ark. Usutu virus: A new threat? Epidemiol Infect. 2019;147(e232):e232.

2. Calisher CH, Gould EA. Taxonomy of the virus family Flaviviridae. Adv Virus Res. 2003;59:1-19.

3. Bakonyi T, Gould EA, Kolodziejek J, Weissenböck H, Nowotny N. Complete genome analysis and molecular characterization of Usutu virus that emerged in Austria in 2001: comparison with the South African strain SAAR-1776 and other flaviviruses. Virology. 2004;328(2):301-310.

4. Engel D, Jöst H, Wink M, ve ark. Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. MBio. 2016;7(1):e01938-15.

5. Ashraf U, Ye J, Ruan X, Wan S, Zhu B, Cao S. Usutu virus: an emerging flavivirus in Europe. Viruses. 2015;7(1):219-238.

6. Nikolay B, Dupressoir A, Firth C, ve ark. Comparative full length genome sequence analysis of Usutu virus isolates from Africa. Virol J. 2013;10(1):217.

7. Li L, Lok SM, Yu IM, ve ark. The flavivirus precursor membrane-envelope protein complex: structure and maturation. Science. 2008;319(5871):1830-1834.

8. Smit JM, Moesker B, Rodenhuis-Zybert I, Wilschut J. Flavivirus cell entry and membrane fusion. Viruses. 2011;3(2):160-171.

9. Murray CL, Jones CT, Rice CM. Architects of assembly: roles of Flaviviridae non-structural proteins in virion morphogenesis. Nat Rev Microbiol. 2008;6(9):699-708.

10. Watterson D, Modhiran N, Young PR. The many faces of the flavivirus NS1 protein offer a multitude of options for inhibitor design. Antiviral Res. 2016;130:7-18.

11. Pauli G, Bauerfeind U, Blümel J, ve ark. Usutu virus. Transfus Med Hemother. 2014;41(1):73-82.

12. Londono-Renteria B, Colpitts TM. A brief review of west Nile virus biology. Methods Mol Biol. 2016;1435:1-13.

13. Benzarti E, Garigliany M. In vitro and in vivo models to study the zoonotic mosquito-borne Usutu virus. Viruses. 2020;12(10):1116.

14. Jöst H, Bialonski A, Maus D, ve ark. Isolation of usutu virus in Germany. Am J Trop Med Hyg. 2011;85(3):551-553.

15. Becker N, Jöst H, Ziegler U, ve ark. Epizootic emergence of Usutu virus in wild and captive birds in Germany. PLoS One. 2012;7(2): e32604.

16. Ziegler U, Jöst H, Müller K, ve ark. Epidemic spread of Usutu virus in southwest Germany in 2011 to 2013 and monitoring of wild birds for Usutu and West Nile viruses. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015;15(8):481-488.

17. Lühken R, Jöst H, Cadar D, ve ark. Distribution of Usutu virus in Germany and its effect on breeding bird populations. Emerg Infect Dis. 2017;23(12):1994-2001.

18. Scheuch DE, Schäfer M, Eiden M, ve ark. Detection of Usutu, Sindbis, and Batai viruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in Germany, 2011–2016. Viruses. 2018;10(7).

19. Cadar D, Becker N, Campos R de M, Börstler J, Jöst H, Schmidt-Chanasit J. Usutu virus in bats, Germany, 2013. Emerg Infect Dis. 2014;20(10):1771-1773.

20. Ziegler U, Fast C, Eiden M, ve ark. Evidence for an independent third Usutu virus introduction into Germany. Vet Microbiol. 2016;192:60-66.

21. Sieg M, Schmidt V, Ziegler U, ve ark. Outbreak and cocirculation of three different Usutu virus strains in eastern Germany. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017;17(9):662-664.

22. Michel F, Sieg M, Fischer D, ve ark. Evidence for West Nile virus and Usutu virus infections in wild and resident birds in Germany, 2017 and 2018. Viruses. 2019;11(7):674.

23. Santos PD, Michel F, Wylezich C, ve ark. Co-infections: Simultaneous detections of West Nile virus and Usutu virus in birds from Germany. Transbound Emerg Dis. 2022;69(2):776-792.

24. Ziegler U, Bergmann F, Fischer D, ve ark. Spread of west Nile virus and Usutu virus in the German bird population, 2019-2020. Microorganisms. 2022;10(4):807.

25. Ganzenberg S, Sieg M, Ziegler U, ve ark. Seroprevalence and risk factors for equine west Nile virus infections in Eastern Germany, 2020. Viruses. 2022;14(6):1191.

26. Pecorari M, Longo G, Gennari W, ve ark. First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August-September 2009. Euro Surveill. 2009;14(50).

27. Allering L, Jöst H, Emmerich P, ve ark. Detection of Usutu virus infection in a healthy blood donor from south-west Germany, 2012. Euro Surveill. 2012;17(50).

28. Cadar D, Maier P, Müller S, ve ark. Blood donor screening for West Nile virus (WNV) revealed acute Usutu virus (USUV) infection, Germany, September 2016. Euro Surveill. 2017;22(14).

29. Weissenböck H, Kolodziejek J, Url A, Lussy H, Rebel-Bauder B, Nowotny N. Emergence of Usutu virus, an African mosquito-borne flavivirus of the Japanese encephalitis virus group, central Europe. Emerg Infect Dis. 2002;8(7):652-656.

30. Weissenböck H, Kolodziejek J, Fragner K, Kuhn R, Pfeffer M, Nowotny N. Usutu virus activity in Austria, 2001-2002. Microbes Infect. 2003;5(12):1132-1136.

31. Meister T, Lussy H, Bakonyi T, ve ark. Serological evidence of continuing high Usutu virus (Flaviviridae) activity and establishment of herd immunity in wild birds in Austria. Vet Microbiol. 2008;127(3-4):237 -248.

32. Buchebner N, Zenker W, Wenker C, ve ark. Low Usutu virusseroprevalence in four zoological gardens in central Europe. BMC Vet Res. 2013;9(1):153.

33. Bakonyi T, Erdélyi K, Brunthaler R, Dán Á, Weissenböck H, Nowotny N. Usutu virus, Austria and Hungary, 2010–2016: Usutu virus, Austria and Hungary, 2010–2016. Usutu virus, Austria and Hungary. 2017;6:1-7.

34. Weidinger P, Kolodziejek J, Bakonyi T, ve ark. Different dynamics of Usutu virus infections in Austria and Hungary, 2017-2018. Transbound Emerg Dis. 2020;67(1):298-307.

35. Camp JV, Kolodziejek J, Nowotny N. Targeted surveillance reveals native and invasive mosquito species infected with Usutu virus. Parasit Vectors. 2019;12(1):46.

36. Bakran-Lebl K, Camp JV, Kolodziejek J, ve ark. Diversity of West Nile and Usutu virus strains in mosquitoes at an international airport in Austria. Transbound Emerg Dis. 2022;69(4):2096-2109.

37. Takken W, Knols BGJ, eds. Emerging Pests and Vector-Borne Diseases in Europe: Ecology and Control of Vector-Borne Diseases. Wageningen Academic Publishers; 2007.

38. Bakonyi T, Jungbauer C, Aberle SW, ve ark. -raising awareness for diagnostic challenges. Eurosurveillance. 2017;22(41):17-00644.

39. Aberle SW, Kolodziejek J, Jungbauer C, ve ark. Increase in human West Nile and Usutu virus infections, Austria, 2018. Euro Surveill. 2018;23(43).

40. Graninger M, Hubmer S, Riederer F, ve ark. The first case of Usutu virus neuroinvasive disease in Austria, 2021. Open Forum Infect Dis. 2022;9(7):ofac255.

41. Garigliany MM, Marlier D, Tenner-Racz K, ve ark. Detection of Usutu virus in a bullfinch (Pyrrhula pyrrhula) and a great spotted woodpecker (Dendrocopos major) in north-west Europe. Vet J. 2014;199(1):191-193.

42. Rouffaer LO, Steensels M, Verlinden M, ve ark. Usutu virus epizootic and Plasmodium coinfection in Eurasian blackbirds (Turdus merula) in Flanders. Journal of wildlife diseases. 2018;54(4):859-862.

43. Garigliany M, Linden A, Gilliau G, ve ark. Usutu virus, Belgium, 2016. Infect Genet Evol. 2017;48:116-119.

44. Cadar D, Lühken R, van der Jeugd H, ve ark. Widespread activity of multiple lineages of Usutu virus, western Europe, 2016. Euro Surveill. 2017;22(4).

45. Benzarti E, Sarlet M, Franssen M, ve ark. Usutu virus Epizootic in Belgium in 2017 and 2018: Evidence of virus endemization and ongoing introduction events. Vector Borne Zoonotic Dis. 2020;20(1):43-50.

46. Benzarti E, Garigliany M, Hauman D, ve ark. First evidence of fatal Usutu virus natural infections in an anatidae, the common scoter (Melanitta nigra). Vector Borne Zoonotic Dis. 2019;19(10):777-780.

47. Adjadj NR, Vervaeke M, Sohier C, Cargnel M, De Regge N. Tick-borne encephalitis virus prevalence in sheep, wild boar and ticks in Belgium. Viruses. 2022;14(11):2362.

48. Buckley A, Dawson A, Moss SR, Hinsley SA, Bellamy PE, Gould EA. Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK. J Gen Virol. 2003;84(Pt 10):2807-2817.

49. Buckley A, Dawson A, Gould EA. Detection of seroconversion to West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus in UK sentinel chickens. Virol J. 2006;3:71.

50. Folly AJ, Lawson B, Lean FZ, ve ark. Detection of Usutu virus infection in wild birds in the United Kingdom, 2020. Euro Surveill. 2020;25(41).

51. Folly AJ, Sewgobind S, Hernández-Triana LM, ve ark. Evidence for overwintering and autochthonous transmission of Usutu virus to wild birds following its redetection in the United Kingdom. Transbound Emerg Dis. Published online 2022.

52. Tinto B, Kaboré DPA, Kagoné TS, ve ark. Screening of circulation of Usutu and West Nile viruses: A one health approach in humans, domestic animals and mosquitoes in Burkina Faso, west Africa. Microorganisms. 2022;10(10):2016.

53. Hubálek Z, Halouzka J, Juricová Z, ve ark. Serologic survey of birds for West Nile flavivirus in southern Moravia (Czech Republic). Vector Borne Zoonotic Dis. 2008;8(5):659-666.

54. Hubálek Z, Rudolf I, Čapek M, Bakonyi T, Betášová L, Nowotny N. Usutu Virus in Blackbirds (Turdus merula), C zech R epublic, 2011–2012. Transboundary and Emerging Diseases. 2011;61(3):273-276.

55. Rudolf I, Bakonyi T, Šebesta O, ve ark. Co-circulation of Usutu virus and West Nile virus in a reed bed ecosystem. Parasit Vectors. 2015;8(1):520.

56. Hönig V, Palus M, Kaspar T, ve ark. Multiple Lineages of Usutu Virus (Flaviviridae, Flavivirus) in Blackbirds (Turdus merula) and Mosquitoes (Culex pipiens, Culex. modestus) in the Czech Republic (2016-2019). Microorganisms. 2019;7(11):568.

57. Zelená H, Kleinerová J, Šikutová S, ve ark. First autochthonous West Nile lineage 2 and Usutu virus infections in humans, July to October 2018, Czech Republic. Pathogens. 2021;10(6):651.

58. Vilibic-Cavlek T, Petrovic T, Savic V, ve ark. Epidemiology of Usutu virus: The European scenario. Pathogens. 2020;9(9):699.

59. Figuerola J, Baouab RE, Soriguer R, Fassi-Fihri O, Llorente F, Jímenez-Clavero MA. West Nile virus antibodies in wild birds, Morocco, 2008. Emerg Infect Dis. 2009;15(10):1651-1653.

60. Durand B, Haskouri H, Lowenski S, Vachiery N, Beck C, Lecollinet S. Seroprevalence of West Nile and Usutu viruses in military working horses and dogs, Morocco, 2012: dog as an alternative WNV sentinel species? Epidemiol Infect. 2016;144(9):1857-1864.

61. Assaid N, Mousson L, Moutailler S, ve ark. Evidence of circulation of West Nile virus in Culex pipiens mosquitoes and horses in Morocco. Acta Trop. 2020;205(105414):105414.

62. Lecollinet S, Blanchard Y, Manson C, ve ark. Dual emergence of Usutu virus in common blackbirds, eastern France, 2015. Emerg Infect Dis. 2016;22(12):2225-2225.

63. Simonin Y, Sillam O, Carles MJ, ve ark. Human Usutu virus infection with atypical neurologic presentation, Montpellier, France, 2016. Emerg Infect Dis. 2018;24(5):875-878.

64. Eiden M, Gil P, Ziegler U, ve ark. Emergence of two Usutu virus lineages in Culex pipiens mosquitoes in the Camargue, France, 2015. Infect Genet Evol. 2018;61:151-154.

65. Bournez L, Umhang G, Faure E, ve ark. Exposure of wild ungulates to the Usutu and tick-borne encephalitis viruses in France in 2009-2014: Evidence of undetected Flavivirus circulation a decade ago. Viruses. 2019;12(1):10.

66. Vittecoq M, Lecollinet S, Jourdain E, ve ark. Recent circulation of West Nile virus and potentially other closely related flaviviruses in Southern France. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013;13(8):610-613.

67. Roesch F, Fajardo A, Moratorio G, Vignuzzi M. Usutu virus: An arbovirus on the rise. Viruses. 2019;11(7):640.

68. Constant O, Bollore K, Clé M, ve ark. Evidence of exposure to USUV and WNV in zoo animals in France. Pathogens. 2020;9(12):1005.

69. Constant O, Gil P, Barthelemy J, ve ark. One Health surveillance of West Nile and Usutu viruses: a repeated cross-sectional study exploring seroprevalence and endemicity in Southern France, 2016 to 2020. Euro Surveill. 2022;27(25).

70. Raulino R, Thaurignac G, Keita AK, ve ark. Seroprevalence of IgG antibodies against multiple arboviruses in bats from Cameroon, Guinea, and the Democratic Republic of Congo. Vector Borne Zoonotic Dis. 2022;22(4):252-262.

71. Barbic L, Vilibic-Cavlek T, Listes E, ve ark. Demonstration of Usutu virus antibodies in horses, Croatia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2013;13(10):772-774. doi:10.1089/vbz.2012.1236

72. Klobucar A, Savic V, Curman Posavec M, ve ark. Screening of mosquitoes for West Nile virus and Usutu virus in Croatia, 2015-2020. Trop Med Infect Dis. 2021;6(2):45.

73. Vilibić-Čavlek T, Barbić L, Stevanović V, Mlinarić-Galinović G. Usutski virus: novi Flavivirus u Hrvatskoj. Liječnički vjesnik. 2015;137:46-51.

74. Vilibic-Cavlek T, Kaic B, Barbic L, ve ark. First evidence of simultaneous occurrence of West Nile virus and Usutu virus neuroinvasive disease in humans in Croatia during the 2013 outbreak. Infection. 2014;42(4):689-695.

75. Santini M, Vilibic-Cavlek T, Barsic B, ve ark. First cases of human Usutu virus neuroinvasive infection in Croatia, August-September 2013: clinical and laboratory features. J Neurovirol. 2015;21(1):92-97.

76. Vilibic-Cavlek T, Savic V, Sabadi D, ve ark. Prevalence and molecular epidemiology of West Nile and Usutu virus infections in Croatia in the 'One

health'context, 2018. Transboundary and emerging diseases. 2018;66(5):1946-1957.

77. Rijks JM, Kik ML, Slaterus R, ve ark. Widespread Usutu virus outbreak in birds in the Netherlands, 2016. Euro Surveill. 2016;21(45).

78. Lim SM, Geervliet M, Verhagen JH, ve ark. Serologic evidence of West Nile virus and Usutu virus infections in Eurasian coots in the Netherlands. Zoonoses Public Health. 2018;65(1):96-102.

79. Oude Munnink BB, Münger E, Nieuwenhuijse DF, ve ark. Genomic monitoring to understand the emergence and spread of Usutu virus in the Netherlands, 2016-2018. Sci Rep. 2020;10(1):2798.

80. Zaaijer HL, Slot E, Molier M, Reusken CBEM, Koppelman MHGM. Usutu virus infection in Dutch blood donors. Transfusion. 2019;59(9):2931-2937.

81. Bakhshi H, Beck C, Lecollinet S, ve ark. Serological evidence of West Nile virus infection among birds and horses in some geographical locations of Iran. Vet Med Sci. 2021;7(1):204-209.

82. Busquets N, Alba A, Allepuz A, Aranda C, Ignacio Nuñez J. Usutu virus sequences in Culex pipiens (Diptera: Culicidae), Spain. Emerg Infect Dis. 2008;14(5):861-863.

83. Vázquez A, Ruiz S, Herrero L, ve ark. West Nile and Usutu viruses in mosquitoes in Spain, 2008-2009. Am J Trop Med Hyg. 2011;85(1): 178-181.

84. Jurado-Tarifa E, Napp S, Lecollinet S, ve ark. Monitoring of West Nile virus, Usutu virus and Meaban virus in waterfowl used as decoys and wild raptors in southern Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2016;49:58-64.

85. Llorente F, Pérez-Ramírez E, Fernández-Pinero J, Soriguer R, Figuerola J, Jiménez-Clavero MA. Flaviviruses in game birds, southern Spain, 2011-2012. Emerg Infect Dis. 2013;19(6):1023-1025.

86. Vanhomwegen J, Beck C, Desprès P, ve ark. Circulation of zoonotic arboviruses in equine populations of Mallorca island (Spain). Vector Borne Zoonotic Dis. 2017;17(5):340-346.

87. Höfle U, Gamino V, de Mera IGF, Mangold AJ, Ortíz JA, de la Fuente J. Usutu virus in migratory song thrushes, Spain. Emerg Infect Dis. 2013;19(7):1173-1175.

88. Ferraguti M, LA Puente JMD, Soriguer R, Llorente F, Jiménez-Clavero MÁ, Figuerola J. West Nile virus-neutralizing antibodies in wild birds from southern Spain. Epidemiol Infect. 2016;144(9):1907-1911.

89. García-Bocanegra I, Paniagua J, Gutiérrez-Guzmán AV, ve ark. Spatio-temporal trends and risk factors affecting West Nile virus and related flavivirus exposure in Spanish wild ruminants. BMC Vet Res. 2016;12(1):249.

90. Cano-Terriza D, Guerra R, Lecollinet S, ve ark. Epidemiological survey of zoonotic pathogens in feral pigeons (Columba livia var. domestica) and sympatric zoo species in Southern Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2015;43:22-27.

91. Guerrero-Carvajal F, Bravo-Barriga D, Martín-Cuervo M, ve ark. Serological evidence of co-circulation of West Nile and Usutu viruses in equids from western Spain. Transbound Emerg Dis. 2021;68(3):1432-1444.

92. Caballero-Gómez J, Cano-Terriza D, Lecollinet S, ve ark. Evidence of exposure to zoonotic flaviviruses in zoo mammals in Spain and their potential role as sentinel species. Vet Microbiol. 2020;247(108763):108763.

93. Napp S, Llorente F, Beck C, ve ark. Widespread circulation of flaviviruses in horses and birds in northeastern Spain (Catalonia) between 2010 and 2019. Viruses. 2021;13(12):2404.

94. Bravo-Barriga D, Aguilera-Sepúlveda P, Guerrero-Carvajal F, ve ark. West Nile and Usutu virus infections in wild birds admitted to rehabilitation centres in Extremadura, western Spain, 2017-2019. Vet Microbiol. 2021;255(109020):109020.

95. Marzal A, Ferraguti M, Muriel J, ve ark. Circulation of zoonotic flaviviruses in wild passerine birds in Western Spain. Vet Microbiol. 2022;268(109399):109399.

96. Mannasse B, Mendelson E, Orshan L, ve ark. Usutu virus RNA in mosquitoes, Israel, 2014-2015. Emerg Infect Dis. 2017;23(10):1699-1702.

97. Schvartz G, Tirosh-Levy S, Erester O, ve ark. Exposure of horses in Israel to west Nile virus and Usutu virus. Viruses. 2020;12(10):1099.

98. Steinmetz HW, Bakonyi T, Weissenböck H, ve ark. Emergence and establishment of Usutu virus infection in wild and captive avian species in and around Zurich, Switzerland--genomic and pathologic comparison to other central European outbreaks. Vet Microbiol. 2011;148(2-4):207-212.

99. Engler O, Savini G, Papa A, ve ark. European surveillance for West Nile virus in mosquito populations. Int J Environ Res Public Health. 2013;10(10):4869-4895.

100. Wipf NC, Guidi V, Tonolla M, Ruinelli M, Müller P, Engler O. Evaluation of honey-baited FTA cards in combination with different mosquito traps in an area of low arbovirus prevalence. Parasit Vectors. 2019;12(1):554.

101. Zanella MC, Cordey S, Laubscher F, ve ark. Unmasking viral sequences by metagenomic next-generation sequencing in adult human blood samples during steroid-refractory/dependent graft-versus-host disease. Microbiome. 2021;9(1):28.

102. Weissenböck H, Bakonyi T, Rossi G, Mani P, Nowotny N. Usutu virus, Italy, 1996. Emerg Infect Dis. 2013;19(2):274-277.

103. Manarolla G, Bakonyi T, Gallazzi D, ve ark. Usutu virus in wild birds in northern Italy. Vet Microbiol. 2010;141(1-2):159-163.

104. Lelli R, Savini G, Teodori L, ve ark. Serological evidence of USUTU virus occurrence in north-eastern Italy. Zoonoses Public Health. 2008;55(7):361-367.

105. Savini G, Monaco F, Terregino C, ve ark. Usutu virus in Italy: an emergence or a silent infection? Vet Microbiol. 2011;151(3-4):264-274.

106. Tamba M, Bonilauri P, Bellini R, ve ark. Detection of Usutu virus within a West Nile virus surveillance program in Northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011;11(5):551-557.

107. Calzolari M, Gaibani P, Bellini R, ve ark. Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna Region (Italy) in 2010. PLoS One. 2012;7(5):e38058.

108. Calzolari M, Chiapponi C, Bonilauri P, ve ark. Co-circulation of two Usutu virus strains in Northern Italy between 2009 and 2014. Infect Genet Evol. 2017;51:255-262.

109. Montagnaro S, Piantedosi D, Ciarcia R, ve ark. Serological evidence of mosquito-borne flaviviruses circulation in hunting dogs in Campania region, Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 2019;19(2):142-147.

110. Romeo C, Lecollinet S, Caballero J, ve ark. Are tree squirrels involved in the circulation of flaviviruses in Italy? Transbound Emerg Dis. 2018;65(5):1372-1376.

111. Llopis IV, Rossi L, Di Gennaro A, ve ark. Further circulation of West Nile and Usutu viruses in wild birds in Italy. Infect Genet Evol. 2015;32:292-297.

112. Pautasso A, Radaelli MC, Ballardini M, ve ark. Detection of West Nile and Usutu viruses in Italian free areas: Entomological surveillance in Piemonte and Liguria Regions, 2014. Vector Borne Zoonotic Dis. 2016;16(4):292-294.

113. Llopis IV, Tomassone L, Grego E, Silvano F, Rossi L. Investigation into Usutu and West Nile viruses in ticks from wild birds in Northwestern Italy, 2012-2014. New Microbiol. 2017;40(1):56-57.

114. Cavrini F, Gaibani P, Longo G, ve ark. Usutu virus infection in a patient who underwent orthotropic liver transplantation, Italy, August-September 2009. Euro Surveill. 2009;14(50).

115. Caracciolo I, Mora-Cardenas E, Aloise C, ve ark. Comprehensive response to Usutu virus following first isolation in blood donors in the Friuli Venezia Giulia region of Italy: Development of recombinant NS1-based serology and sensitivity to antiviral drugs. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14(3): e0008156.

116. Grottola A, Marcacci M, Tagliazucchi S, ve ark. Usutu virus infections in humans: a retrospective analysis in the municipality of Modena, Italy. Clin Microbiol Infect. 2017;23(1):33-37.

117. Gaibani P, Pierro A, Alicino R, ve ark. Detection of Usutu-virus-specific IgG in blood donors from northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 2012;12(5):431-433.

118. Percivalle E, Sassera D, Rovida F, ve ark. Usutu virus antibodies in blood donors and healthy forestry workers in the Lombardy region, Northern Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017;17(9):658-661.

119. Percivalle E, Cassaniti I, Sarasini A, ve ark. West Nile or Usutu virus? A three-year follow-up of humoral and cellular response in a group of asymptomatic blood donors. Viruses. 2020;12(2):157.

120. Carletti F, Colavita F, Rovida F, ve ark. Expanding Usutu virus circulation in Italy: detection in the Lazio region, central Italy, 2017 to 2018. Euro Surveill. 2019;24(3).

121. Pacenti M, Sinigaglia A, Martello T, ve ark. Clinical and virological findings in patients with Usutu virus infection, northern Italy, 2018. Euro Surveill. 2019;24(47).

122. Lauriano A, Rossi A, Galletti G, ve ark. West Nile and Usutu viruses' surveillance in birds of the province of Ferrara, Italy, from 2015 to 2019. Viruses. 2021;13(7):1367.

123. Scaramozzino P, Carvelli A, Bruni G, ve ark. West Nile and Usutu viruses co-circulation in central Italy: outcomes of the 2018 integrated surveillance. Parasit Vectors. 2021;14(1).

124. Zecchin B, Fusaro A, Milani A, ve ark. The central role of Italy in the spatial spread of USUTU virus in Europe. Virus Evol. 2021;7(1):veab048.

125. Musto C, Tamba M, Calzolari M, ve ark. Usutu virus in blackbirds (Turdus merula) with clinical signs, a case study from northern Italy. Eur J Wildl Res. 2022;68(2).

126. Vilibic-Cavlek T, Ferenc T, Vujica Ferenc M, ve ark. Cross-reactive antibodies in tick-borne encephalitis: Case report and literature review. Antibodies (Basel). 2022;11(4):72.

127. Mancuso E, Cecere JG, Iapaolo F, ve ark. West Nile and Usutu virus introduction via migratory birds: A retrospective analysis in Italy. Viruses. 2022;14(2):416.

128. Calzolari M, Bonilauri P, Grisendi A, ve ark. Arbovirus screening in mosquitoes in Emilia-Romagna (Italy, 2021) and isolation of Tahyna virus. Microbiol Spectr. 2022;10(5):e0158722.

129. Ochieng C, Lutomiah J, Makio A, ve ark. Mosquito-borne arbovirus surveillance at selected sites in diverse ecological zones of Kenya; 2007 - 2012. Virol J. 2013;10(1):140.

130. Snoeck CJ, Sausy A, Losch S, Wildschutz F, Bourg M, Hübschen JM. Emerging infectious diseases. In: Usutu Virus Africa 3 Lineage. Vol 28. ; 2020.

131. Bakonyi T, Erdélyi K, Ursu K, ve ark. Emergence of Usutu virus in Hungary. J Clin Microbiol. 2007;45(12):3870-3874.

132. Nagy A, Mezei E, Nagy O, ve ark. Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018. Euro Surveill. 2019;24(28).

133. Nagy A, Csonka N, Takács M, Mezei E, Barabás É. West Nile and Usutu virus seroprevalence in Hungary: A nationwide serosurvey among blood donors in 2019. PLoS One. 2022;17(4):e0266840.

134. Chevalier V, Marsot M, Molia S, ve ark. Serological evidence of West Nile and Usutu viruses circulation in domestic and wild birds in wetlands of Mali and Madagascar in 2008. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(6): 1998.

135. Oderinde BS, Mora-Cárdenas E, Carletti T, Baba MM, Marcello A. Prevalence of locally undetected acute infections of Flaviviruses in North-Eastern Nigeria. Virus Res. 2020;286(198060):198060.

136. Hubálek Z, Wegner E, Halouzka J, ve ark. Serologic survey of potential vertebrate hosts for West Nile virus in Poland. Viral Immunol. 2008;21(2):247-253.

137. Bażanów B, Jansen van Vuren P, Szymański P, ve ark. A survey on west Nile and Usutu viruses in horses and birds in Poland. Viruses. 2018;10(2):87.

138. Coroian M, Silaghi C, Tews BA, ve ark. Serological survey of mosquito-borne arboviruses in wild birds from important migratory hotspots in Romania. Pathogens. 2022;11(11):1270.

139. Ndiaye EH, Diallo D, Fall G, ve ark. Arboviruses isolated from the Barkedji mosquito-based surveillance system, 2012-2013. BMC Infect Dis. 2018;18(1):642.

140. Diallo D, Ndiaye EH, Fall G, ve ark. Evaluation of the performance of different traps for sampling Usutu and West Nile viruses and mosquito (Diptera: Culicidae) vectors in Senegal. J Med Entomol. 2019;56(1):149-155.

141. Diagne MM, Ndione MHD, Di Paola N, ve ark. Usutu virus isolated from rodents in Senegal. Viruses. 2019;11(2):181.

142. Lupulovic D, Martín-Acebes MA, Lazic S, ve ark. First serological evidence of West Nile virus activity in horses in Serbia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2011;11(9):1303-1305.

143. Escribano-Romero E, Lupulović D, Merino-Ramos T, ve ark. West Nile virus serosurveillance in pigs, wild boars, and roe deer in Serbia. Vet Microbiol. 2015;176(3-4):365-369.

144. Kemenesi G, Buzás D, Zana B, ve ark. First genetic characterization of Usutu virus from Culex pipiens mosquitoes Serbia, 2014. Infect Genet Evol. 2018;63:58-61.

145. Petrović T, Šekler M, Petrić D, ve ark. Flaviviruses at the territory of Serbia – present situation and challenges. Archives of Veterinary Medicine. 2019;11(2):53-70.

146. Vasić A, Răileanu C, Körsten C, ve ark. West Nile virus in the Republic of Serbia-Diagnostic performance of five serological tests in dog and horse sera. Transbound Emerg Dis. 2022;69(5):e2506-e2515.

147. Potkonjak A, Petrović T, Ristanović E, ve ark. Molecular detection and serological evidence of tick-borne encephalitis virus in Serbia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017;17(12):813-820.

148. Csank T, Drzewnioková P, Korytár Ľ, ve ark. A serosurvey of Flavivirus infection in horses and birds in Slovakia. Vector Borne Zoonotic Dis. 2018;18(4):206-213.

149. Čabanová V, Šikutová S, Straková P, ve ark. Co-circulation of West Nile and Usutu flaviviruses in mosquitoes in Slovakia, 2018. Viruses. 2019;11(7):639.

150. Čabanová V, Tichá E, Bradbury RS, ve ark. Mosquito surveillance of West Nile and Usutu viruses in four territorial units of Slovakia and description of a confirmed autochthonous human case of West Nile fever, 2018 to 2019. Euro Surveill. 2021;26(19).

151. Dorko E, Bušová A, Csank T, ve ark. WEST NILE VIRUS-A NEW INFECTION IN THE SLOVAK REPUBLIC? Central European Journal of Public Health. 2018;26:S51-S55.

152. Kvapil P, Račnik J, Kastelic M, ve ark. A sentinel serological study in selected zoo animals to assess early detection of West Nile and Usutu virus circulation in Slovenia. Viruses. 2021;13(4):626.

153. Kvapil P, Račnik J, Kastelic M, ve ark. Detection of antibodies against tick-borne encephalitis virus and other flaviviruses in a zoological collection in Slovenia. Front Vet Sci. 2021;8:688904.

154. Olarinmoye AO, Niphuis H, Verschoor E, ve ark. Serological detection of Flavivirus infections in Saudi baboons. Ecohealth. 2021;18(3):283-287.

155. Ben Hassine T, De Massis F, Calistri P, ve ark. First detection of co-circulation of West Nile and Usutu viruses in equids in the south-west of Tunisia. Transbound Emerg Dis. 2014;61(5):385-389.

156. Ayadi T, Hammouda A, Poux A, Boulinier T, Lecollinet S, Selmi S. Evidence of exposure of laughing doves (Spilopelia senegalensis) to West Nile and Usutu viruses in southern Tunisian oases. Epidemiol Infect. 2017;145(13):2808-2816.

157. Ayadi T, Hammouda A, Beck C, Boulinier T, Lecollinet S, Selmi S. Flaviviruses in migratory passerines during spring stopover in a desert oasis. Zoonoses Public Health. 2019;66(5):495-503.

158. Hacıoğlu S. Samsun ve Hatay İllerindeki Göçmen Kuşlarda Önemli Bazı Zoonotik Virusların Araştırılması https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=xIFCJmGWvNJr3xA-U6Y13Q&no=pqXfYjhn5qD4VUDGVm9vDg Erişim Tarihi 04 Aralık, 2022.

159. Pérez-Ramírez E, Cano-Gómez C, Llorente F, ve ark. Evaluation of West Nile virus diagnostic capacities in veterinary laboratories of the Mediterranean and Black Sea regions. Pathogens. 2020;9(12):1038.

160. Williams MC, Simpson DI, Haddow AJ, Knight EM. The isolation of west Nile virus from man and of Usutu virus from the bird-biting mosquito Mansonia aurites (Theobald) in the Entebbe area of Uganda. Ann Trop Med Parasitol. 1964;58(3):367-374.

161. Henderson BE, McCrae AW, Kirya BG, Ssenkubuge Y, Sempala SD. Arbovirus epizootics involving man, mosquitoes and vertebrates at Lunyo, Uganda 1968. Ann Trop Med Parasitol. 1972;66(3):343-355.

162. Mossel EC, Crabtree MB, Mutebi JP, ve ark. Arboviruses isolated from mosquitoes collected in Uganda, 2008-2012. J Med Entomol. 2017;54(5):1403-1409.

163. Chaintoutis SC, Dovas CI, Papanastassopoulou M, ve ark. Evaluation of a West Nile virus surveillance and early warning system in Greece, based on domestic pigeons. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2014;37(2):131-141.

BÖLÜM VI

İNTRA-ABDOMİNAL ADEZYONLARIN FİZYOPATOLOJİSİ VE ÖNLEME YOLLARI

Physiopathology of Intra-abdominal Adhesions and Prevention Methods

Nevzat Emre ASLAN[1] & Hanifi EROL[2]

[1]Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Yozgat, Türkiye, e-mail: n.emre.aslan@yobu.edu.tr,
ORCID: 0000-0001-8970-7763

[2]Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Cerrahi Anabilim Dalı,
Kayseri, Türkiye, e-mail: hanifierol@erciyes.edu.tr,
ORCID: 0000-0001-8140-3108

1. Giriş

İlk olarak 1836 yılında tüberkülozlu bir hastanın postmortem muayenesi sırasında rastlanılan ve 1849 yılında lenfatik damarların fibröz yapışıkları olarak tanımlanan adezyon, genellikle abdominal cerrahi sonrası oluşan, abdomen duvarlarının iç kısmında ve organlar arasında fibröz bantlar şeklinde görülerek; asemptomatik, hafif seyirli ve hatta hayati tehdit oluşturabilen yapılardır (1,2). Kan pıhtılaşma mekanizması ile ilişkili olan defektlerin iyileşme süreci sonrasında oluşan adezyonlar ince bağırsak tıkanıklıklarına, kronik abdominal ve pelvik ağrılara neden olur (3). Ayrıca subperitonal organlar, bağırsak halkaları, karın duvarında görülebilen, fibröz yağ dokudan ya da fibröz bantlardan oluşan adezyonların bağırsak tıkanıklıklarının yanı sıra gençlerde mekanik ileusa sebep olduğu bildirilmektedir (4). İntra-abdominal adezyonlar, cerrahi işlem sonrası 7 ile 10 içinde oluştuğu ve bu süreç içerisinde

adezyonu önlemek amacıyla birçok çalışma yapıldığı belirtilmiştir (5). İlk olarak 1942 yılında, 5 başlık altında adezyonu önlemek amacıyla yapılan tanımlar daha sonra yapılan araştırmaların temelini oluşturmuştur. Sırası ile bu tanımlar;

* Peritoneal hasarı önlemek ya da sınırlandırmak,

* Seröz eksudatın koagülasyonunu önlemek,

* Fibrin birikimini çözümlemek ya da ortadan kaldırmak,

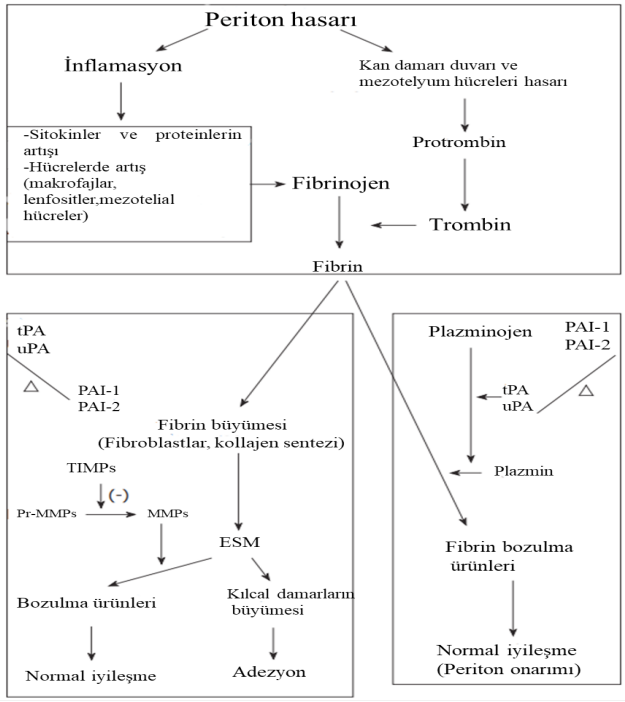
* Mezotelizasyon gerçekleşene kadar fibrin kaplı peritoneal yüzeyleri ayrı tutmak,

*Fibroblastik proliferasyonu engellemek olarak açıklanmıştır (6).

2. Adezyon Fizyopatolojisi

Mezotelyal hücrelerden oluşan, tek katmanlı periton karın boşluğunu kapsayan örtü görevi gören anatomik yapılardır. Peritonda travma sonrası oluşan mezotelyal hasara inflamasyon eşlik eder ve mezotelyal hücrelerin bazal membrandan ayrılması sonucu mezotelyal hücrelerin olmadığı soyulmuş alanlar oluşur (7). Travma ile birlikte, ortaya çıkan peritoneal eksudatta fibrinojen miktarının oldukça fazla olduğu ve peritoneal boşlukta fibrinojenin fibrine dönüşmesiyle tetiklenen trombin koagülasyonu aktive edilmektedir. Bununla birlikte, abdominal cerrahi ve enfeksiyon sonrasında fibrinolizis ve pıhtılaşma arasındaki denge pıhtılaşma lehine bozulur (8,9). Böylece fibrokollajen doku büyümesi için fibrin oluşumu gözlenir. Ayrıca fibrin pıhtıları abdominal boşlukta, immünolojik savunmaya karşı mikroorganizmaları korur. Bu süreci takiben intra-abdominal adezyon veya apse oluşumu görülür (10). Fibrin matriksi, ekstra selüler matriks (ESM) ile birlikte fibroblastlar üretilir ve depolanır. ESM, matriks metalloproteaz proenzim (MMPs)'i tarafından tamamen bozularak normal iyileşmeye yol açar. Ancak bu süreci takiben MMPs doku inhibitörleri tarafından inhibe edildiğinde adezyon oluşur (Şekil 1) (4). Abdominal boşluktaki cerrahi işlemler ve lokal enfeksiyonlar fibrinolizis ve koagülasyon arasındaki dengeyi bozduğu ve mezoteliyal travmanın peritonda fibrinolitik sistem ve periton sıvısı üzerine belirgin etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu etki plazminojen aktivatör inhibitörü-1 (PAI-1) konsantrasyonunda artış ve fibrinolitik aktivitenin azalması sonucu tissue-tip plazminojen aktivatör (tPA) seviyesinin de azalması olarak açıklanmıştır. PAI-1 konsantrasyonundaki artıştan dolayı periton sıvısı içerisindeki fibrinolitik aktivitenin azaldığı belirtilmiştir (11). Fibrinolitik sistemin aktive olması plazminojenin plazmine dönüşmesine yol açar. Plazmin fibrinin parçalanmasında oldukça etkilidir. α_2-makroglobulin, α_1-antitripsin ve α_2-antiplazmin gibi birçok proteaz inhibitörleri plazmini baskılar. Fazla miktarlarda plazminojen aktivatörlerinin üretimi için küçük miktarlarda plazmine ihtiyaç vardır

(10). tPA'nın fibrine affinitesi olduğu ve plazminojen aktivasyonundan %95 oranında sorumlu olduğu belirtilmiştir (8). Bunun yanı sıra; endoteliyal hücreler, mezotelyal hücreler ve makrofajlar tarafından salınan Ürokinaz-tip plazminojen aktivatör (uPA) ise fibrinin parçalanmasında görev alan plazminojen aktivatörlerdendir (12). Ayrıca, uPA'nın dokunun yeniden şekillenmesinde önemli rol alabileceği vurgulanmıştır (11). Bu yüzden adezyon oluşumunda PAI-1'in önemli bir faktör olduğu belirtilmiş ve adezyon oluşan hastaların PAI konsantrasyonu incelenerek onaylanmıştır (13). Enfeksiyon varlığında karın boşluğundaki fibrinolizisin daha çok baskılandığı bildirilmiştir. Ivarsson ve arkadaşları (14), enfeksiyon nedeniyle laparotomi yapılan hastalar ile normal abdominal cerrahi sonrasını karşılaştırdıklarında enfeksiyon nedeniyle laparotomi yapılan hastalarda peritoneal tPA aktivitesinin daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. PAI-1'in inhibe etmesi nedeniyle laparatomi esnasında tPA aktivitesinin azaldığı ve birçok araştırmacı tarafından intra-abdominal sepsisin bir sonucu olarak fibrinolitik aktivitenin daha da azaldığı raporlanmıştır (11).



Şekil 1: Plazminojen aktivatörleri ve plazminojen inhibitörleri arasındaki denge, TIMP; Doku inhibitör metalloproteaz, MMP; Matriks metalloproteaz, ESM; Ekstraselüler matriks, tPA; Doku-tip plazminojen aktivatör, uPA; Ürokinaz-tip plazminojen, PAI; Plazminojen-aktive edici inhibitör (1).

3. Adezyonu Önleme Yolları

Adezyonu önleme yollarının güvenli, etkili, pratik ve uygun maliyetli olması hedeflenerek 4 grupta sınıflandırılmıştır; genel prensipler, cerrahi teknikler, mekanik bariyerler ve farmakolojik ajanlar olarak belirtilmiştir (15,16). Abdominal cerrahi süresince peritonda iskemiye neden olabilecek ligasyon ve koterizasyondan kaçınılmalıdır. Asepsi antisepsi kurallarına uyarak inflamasyona karşı önlem alınmalıdır. Kompres yapmak amacıyla kullanılan kuru gazlı bezler travmatik olabileceği için nemli gazlı bez kompreslerin kullanımı önerilmektedir (17,18,19). Bunların yanı sıra adezyon bariyerleri hakkında çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen bariyer olarak kullanılan ajanların etkinliği ve endikasyonları hakkında tartışmalar devam etmektedir. (15,16).

3.1. Genel Prensipler

İntraoperatif olarak gereksiz periton diseksiyonundan kaçınmanın yanı sıra pudrasız cerrahi eldiven kullanımı, bağırsak ve safra içeriğinin dökülmesinin önlenmesi gibi önlemler adezyon oluşumunun engelleme yöntemleri arasındadır (20). Diseksiyon tekniğinin hassas olması ve dokulara nazik davranılması vurgulanarak, serozal hasarı ve inflamasyonu önlemek için önemli bir adım olduğu belirtilmektedir. Bağırsak yüzeylerinin açıkta kalması ve kurumasının önlenmesinin adezyon oluşumunu azaltabileceği vurgulanmaktadır (21,22). Operasyon bölgesinde yabancı cisimlerin varlığının adezyonu tetiklediği ve hatta kromik katgüt ve ipek gibi fibrinojenik cerrahi sütur materyallerinin doku reaktivitesini uyardığı ve bu nedenle poliglaktin kullanımı önerilmektedir (23,24). Özellikle pudralı cerrahi eldivenlerin kullanımının postoperatif adezyon oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir (15). Pudrasız cerrahi eldiven kullanımının adezyon oluşumunu yaklaşık olarak %30 oranında azalttığı bildirilmiştir (20). Cooke ve Hamilton (25) yaptıkları çalışmada, pudralı eldiven kullanılarak yapılan abdominal cerrahi sonrası hastalarda ince bağırsak obstrüksiyonuna sebep olan peritoneal nodüller ve adezyonlar olduğunu tespit etmiştir. Safra içeriği ve taşlarının peritoneal boşluğa düşerek adezyon oluşturduğu hatta enfekte safra içeriği ve taşlarının daha geniş çaplı adezyona neden olduğu bildirilmesine rağmen, safra içeriği ve taşlarının adezyon oluşumundaki rolü net olarak açıklanamamış ve klinik olarak kanıtlanamamıştır (15).

3.2. Cerrahi Teknikler

Postoperatif adezyon oluşumunun engellemesinde; minimal doku hasarı ile travma alanının daraltılması, gereksiz diseksiyondan kaçınmak, doku ve organların kurumasının önlenmesi, irrigasyon çözeltilerinin optimum sıcaklıkta kullanılması adezyon oluşumunu minimize eden, etkili ve ucuz yöntemler olduğu belirtilmektedir (26). Operasyon bölgesine yabancı cisimlerin girişinin adezyon oluşumunda önemli rol aldıkları bilinmektedir (26). Bu nedenle cerrahi yaklaşım tekniğinin ince bağırsak obstrüksiyonu ve adezyonda önemli rol oynadığı belirtilmiş ve laparaskopik yaklaşımın, açık cerrahi girişime göre daha düşük düzeyde adezyon insidansına sahip olduğu belirtilmiştir (15). Laparaskopide kullanılan gazın partikül içermemesi dolayısıyla partikül kontaminasyonunun engellenmesi nedeniyle de adezyon oluşumunu minimal düzeye indirdiği belirtilmiştir (27). Ancak laparaskopik tutucuların dokuyu tutmak amacı ile basınç oluşturması, dokuda hasara yol açarak mezotelyal hücrelerin zarar görmesine neden olması sebebiyle, laparotomi ile karşılaştırıldığında bazı araştırmacılar oluşan adezyon nedeni hakkında net sonuçlar elde edemediklerini belirtmektedirler (27,28,29). Abdominal cerrahi sonrası serum İnterlökin-1 (IL-1), Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve peritoneal adezyon arasında bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (30). Glew ve arkadaşları (31) 2004 yılında yaptıkları çalışmada, laparaskopide kullanılan karbondioksit (CO_2) gazını; kuru ve 37°C'de nemlendirilmiş CO_2 olarak kullanımını karşılaştırmaları sonucu, 37°C'de nemlendirilmiş CO_2 kullanımının TNF ve IL-1 artışını tetiklediğini ve serumda daha uzun süreli var olduğunu vurgulamıştır. Böylece cerrahi değişkenlerin yanı sıra nemlendirilmiş CO_2 gazının etkisi açıklanarak, kuru gaz yerine nemlendirilmiş CO_2 gazı kullanımıyla yapışmaların azaltılabileceği belirtilmiştir (26).

3.3. Mekanik Bariyerler

Teorik olarak, inert malzemeler kullanılarak hazırlanan mekanik bariyerlerin; postoperatif olarak ilk birkaç kritik gün için hasarlı yüzeylerin temasını engelleyerek adezyon oluşumunu önlediği ve iyileşme sağladığı belirtilmektedir (15). İdeal bir bariyer biyolojik olarak parçalanabilen, remezotelizasyon sırasında kalıcı olabilen, noninflamatuar, nonimmunojenik olarak tanımlanmaktadır (32). Deneysel çalışmalar sonucu ekzojen fosfolipidlerden üretilen fosfatidilkolin, sfingolipid ve galaktolipidlerin postoperatif adezyon oluşumunu azalttığı belirtilmektedir (33,34,35). Visköz bir

çözelti oluşturarak serozal yüzeyleri kapsayan ve doğal bir glikozaminoglikan oluşturan, hyaluronan ya da hyaluronat olarak adlandırılan hyaluronik asitin antiadeziv olduğu belirtilmiştir (36). Treutner ve arkadaşları (33) 1995 yılında yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre hyaluronik asit kullanılan grupta adezyon oluşumunun %84 oranında azaldığını belirtmektedir. Yapılan son çalışmalarda ise, bariyer olarak kullanılan dekstrin hydrojelin (AdSpray, İtalya) adezyon insidansı ve şiddetini azalttığı raporlanmıştır (37,38). Nişasta bazlı olan 4DryField PH (UK) bariyerin adezyon şiddetini ve adezyona bağlı yeniden operasyon gerekliliğini azalttığı ve adezyonu engellediği belirtilmektedir (39,40). Jeong ve arkadaşları (41) 2019 yılında yaptıkları çalışmada, insan dermal matriksinden üretilmiş olan ısıya dayanıklı AAB03 (Kore) mekanik bariyerin kollajen lif yoğunluğunu ve makrofaj yoğunluğunu azaltarak adezyon oluşumunu baskıladığını bildirmektedirler. Bunun yanı sıra mekanik bariyerlerin uygulama zorlukları, yetersiz esneklik, uyumsuzluk gibi bazı dezavantajları olduğu ve bu nedenle de yara iyileşmesi ve abdomen içerisindeki etkileşimi açısından kullanım esnasında dikkatli olunması gerekliliği tavsiye edilmektedir (36).

3.4. Farmakolojik Ajanlar

Postoperatif adezyon oluşumunu engellemek amacıyla birçok farmakolojik ajan kullanılmasına rağmen hiçbirinin etkili bir yanıt oluşturmadığı, buna sebep ise iskemiye bağlı olarak sistemik ilaç dağılımının yetersizliğinden kaynaklandığı belirtilmektedir (16). Ayrıca yara iyileşmesi ile adezyonun ortak basamakları olan fibrin eksudatı, fibrin birikimi, fibroblast aktivitesi ve çoğalmasının antiadeziv ajanlar tarafından etkilenmemesi gerektiği vurgulanmaktadır (20,42). Yapılan deneysel çalışmalarda düşük doz heparin kullanımının pıhtılaşma aktivasyonu ve fibrin birikimini baskılayarak adezyon oluşumunu azalttığı bildirilmektedir (36). Streptokinaz gibi fibrinolitik ilaçlar kanamayı tetiklediğinden postoperatif olarak, adezyonu azaltmak veya engellemek için kullanımı önerilmemektedir (36,43). Non-steroid anti-inflamatuar ilaçların, araşidonik asit metabolizması ve siklooksijenaz aktiviteyi değiştirerek vasküler permeabiliteyi azalttığı, makrofaj fonksiyonlarını tetiklediği ve böylece adezyonu baskıladığı deneysel çalışmalarda belirtilmesine rağmen etkinliğini kanıtlayacak klinik çalışma olmadığı belirtilmiştir (16). Kortikosterid ve immunomodulatör ajanların adezyon oluşumunu engellediği ancak etkinlikleri yetersiz olduğu ve bazı çalışmalarda zararlı olduğu bildirilmiştir (44). Arjmand ve arkadaşları (45) 2020 yılında yaptıkları çalışmada, anjiyotensin reseptör blokörü olan telmisartanın

adezyon üzerine etkilerini araştırmışlar ve antiinflamatuar yanıtı ve antifibrinotik etkenleri tetikleyerek adezyon oluşumunu baskılamasının yanı sıra cerrahi bölgede submukozal ödem ve oksidatif stresin azaldığını belirtmişlerdir. Ancak bu etkilerin, diğer anjiyotensin blokörleri losertan ve valsartan tarafından gerçekleştirilemediğini vurgulamışlardır. Farmakolojik ajanların kanamaya neden olabileceği belirtilmiş ve özellikle antikoagulant kullanan hastalarda kullanımında dikkatli olunması gerektiği tavsiye edilmektedir (43).

4. Sonuç

Genellikle abdominal cerrahi sonrası oluşan ve fibröz bantlar şeklinde görülen intraabdominal adezyonlar, veteriner hekimlikte ve beşeri hekimlikte hayati tehlike oluşturan yapılar olabilmektedir. Günümüze kadar birçok çalışma yapılmasına rağmen kesin sonuçlar alınamamıştır. Perioperatif süreçte uygulanan genel prensiplerin çok etkili olmaması, mekanik bariyerlerin pahalı ve kullanımının kolay olmaması, farmakolojik ajanların yan etkileri olabileceği açıklanmıştır. Bu sebeple etkin tedavi seçeneği olan, kullanım kolaylığı sağlayan, ucuz maliyetli ürünlere ve bunların bilimsel olarak kanıtlanması için daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Arung W, Meurisse M, Detry O. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions. World J Gastroenterol 2011; 17(41): 4545-4553.

2. Tabibian N, Swehli E, Boyd A, Umbreen A, Tabibian JH. Abdominal adhesions: a practical review of an often overlooked entity. Annals Med Surg 2017; 15(1): 9-13.

3. Schneider A, Bennek J, Olsen K, Weiβ J, Schmidt W, Rolle U. Experimental study evaluating the effect of a barrier method an postoperative intraabdominal adhesions. Dig Dis Sci 2006; 51(3): 566-570.

4. Lienemann A, Sprenger D, Steitz HO, Korell M, Reiser M. Detection and mapping of intraabdominal adhesions by using functional cine mr imaging: preliminary results. Radiology 2000; 217: 421-425.

5. Avital S, Bollinger TJ, Wilkinson JD, Marchetti F, Hellinger MD, Laurence RS. Preventing intra-abdominal adhesions with polylactic acid film: an animal study. Dis Colon Rectum 2005; 48: 153-157.

6. Çubukçu A, Alponat A, Gonullu NN, Özkan S, Erçin C. An experimental study evaluating the effect of mitomycin c on the prevention of postoperative intraabdominal adhesions. J Surg Res 2001; 96: 163-166.

7. Raftery AT. Regeneration of peritoneal and visceral peritoneum a light microscopial study. Br J Surg 1973; 60: 293-299.

8. Holmdahl L, Eriksson E, Eriksson BI, Risberg B. Fibrinolysis in human peritoneum during operation. Surg 1996; 119: 701-705.

9. Scott-Coombes DM, Whawell SA, Thompson JN. The operative peritoneal fibrinolytic response to abdominal operation. Eur J Surg 1995; 161(6): 395-399.

10. Mignatti P, Rifkin DB. Biology and biochemistry of proteinases in tumor invasion. Physiol Rev 1993; 73: 161-195.

11. Reijnen MMPJ, Goor B, Goor HV. Pathophysiology of intra-abdominal adhesion and abscess formation, and the effect of hyaluronan. Br J Surg 2003; 90: 533-541.

12. Lu HR, Wu Z, Pavwels P, Lijnen HR, Collen D. Comperative thrombolytic properties of tissue-type plasminogen activator (t-PA), single chain urokinase-type plasminogen activator (u-PA) and K1K2Pu (a t-PA/u-PA chimera) in a combined arterial and venous thrombosis model in the dog. J Am Coll Cardiol 1992; 19: 1350-1359.

13. Ivarsson ML, Bergstrom M, Eriksson E, Risberg B, Holmdahl L. Tissue markers as predictors of postoperative adhesions. Br J Surg 1998; 85: 1549-1554.

14. Ivarsson ML, Holmdahl L, Eriksson E, Soderberg R, Risberg B. Expression and kinetics of fibrinolytic components in plasma and peritoneum during abdominal surgery. Fibrinolysis Proteolysis 1998; 12: 61-67.

15. Schnüriger B, Barmparas G, Branco BC, Lustenberger T, Inaba K, Demetriades D. Prevention of postoperative peritoneal adhesions: a review of the literature. Am J Surg 2011; 201: 111-121.

16. Pados G, Venetis CA, Almaloglou K,Torlatzis BC. Prevention of intra-peritoneal adhesions in gynaecological surgery; theory and evidence. Reprod Biomed Online 2010; 21: 290-303.

17. Baxter GM. Intraabdominal adhesion in horses. Compend Contin Educ Pract Vet 1991; 13: 1587-1598.

18. Ellis H. The cause and prevention of postoperative intraperitoneal adhesions. Surg Gynecol Obstet 1971; 133(3): 497-511.

19. Kirby BM. Peritoneum and abdominal cavity. Slatter DJ. Eds. In: Small Animal Surgery. Philadelphia: WB Saunders 2003; 414-445.

20. Risberg B. Adhesions: preventive strategies. Eur J Surg Acta Chir Suppl 1997; 577: 32-39.

21. Ten Broek RP, Kok-Krant N, Bakkum EA, Bleichrodt RP, Van Goor H. Different surgical techniques to realise post-operative adhesion formation: a systematic review and metaanalysis. Human Rep Update 2013; 29(1): 12-25.

22. Corona R, Verguts J, Koninckx R, Mailova K, Binda MM, Koninckx PR. Intraperitoneal temperature and dessication during endoscopic surgery. İntraoperative humidification and cooling of the peritoneal cavity can reduce adhesions. Am J Obstetr Gyne 2011; 205(4): 392-398.

23. Moris D, Chakedis J, Rahnemai-Azar AA et al. Postoperative abdominal adhesions: clinical significance and advances in prevention and management. J Gastrointest Surg 2017; 21: 1713-1722.

24. Elkins TE, Storall TG, Warren J, Ling FW, Meyer NL. A histologic evaluation of pertoneal injury and repair: implications for adhesion formation. Obstetr Gyne 1987; 70(2): 225-228.

25. Cooke SA, Hamilton DG. The significance of starch powder contamination in the aetiology of peritoneal adhesions. Br J Surg 1977; 64: 410-412.

26. Davey KA, Maher PJ. Surgical adhesions: a timely update, a great challenge for the future. J Minim Invasive Gynecol 2007; 14: 15-22.

27. Bergstrom M, Ivarsson ML, Holmdahl L. Peritoneal response to pneumo peritoneum and laparoscopic surgery. Br J Surg 2002; 89: 1465-1469.

28. Polymeneas G, Theodosopoulos T, Stamatiadis A, Kourias E. A comparative study of postoperative adhesion formation after laparascopic vs open cholecystectomy. Surg Endosc 2001; 15: 41-43.

29. Tittel A, Treutner KH, Titkova S, Öttinger A, Schumpelick V. Comparison of adhesion reformation after laparascopic and conventional adhesiolysis in an animal model. Langenbecks Arch Surg 2001; 386: 141-145.

30. Saba AA, Godziachvili V, Mavani AK, Silva YJ. Serum levels of interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha correlate with peritoneal adhesion grades in humans after major abdominal surgery. Am Surg 1998; 64: 734-736.

31. Glew PA, Campher MJJ, Pearson K, Schofield JC, Davey AK. The effect of warm humidified CO_2 on the dissipation of residual gas following laparascopy in piglets. J Am Assoc Gynecol Laparosc 2004; 11(2): 204-210.

32. Nappi C, Sardo ADS, Greco E, Guida M, Bettocchi S, Bifulco G. Prevention of adhesions in gynaecological endoscopy. Hum Reprod Update 2007; 13(4): 379-394.

33. Treutner KH, Bertram P, Lerch MM et al. Prevention of postoperative adhesions by single intraperitoneal medication. J Surg Res 1995; 59: 764-771.

34. Snoj M, Ar'Rajab A, Ahren B, Benmark S. Effect of phosphatidylcholine on postoperative adhesions after small bowel anastomosisin the rat. Br J Surg 1992; 79(5): 427-429.

35. Rozga J, Andersson R, Srinivos U, Ahren B, Benmark S. Influence of phosphatidylcholine on intraabdominal adhesion formation and peritoneal macrophages. Nephron 1990; 54(2): 134-138.

36. Maciver AH, McCall M, Shapiro J. Intra-abdominal adhesions: cellular mechanisms and strategies for prevention. Int J Surg 2011; 9: 589-594.

37. Kai M, Maeda K, Tasaki M et al. Evaluation of a spray-type, novel dextrin hydrogel adhesion barrier under laparascopic conditions in a porcine uterine horn adhesion model. J Minim Invasive Gynecol 2018; 25(3): 447-454.

38. Chino N, Ishihara H, Niimi T, Kai M, Kawanishi T. Development of a spray-type adhesion barrier. Polym J 2020; 52: 1-7.

39. Ahmad M, Crescenti F. Significant adhesion reduction with 4dryfield ph after release of adhesive small bowel obstruction. Surg J 2019; 5: 28-34.

40. Blumhardt G, Haas M, Polte S. Effect of 4dryfield® ph a novel adhesion barrier, on recurrence of intestinal adhesions after extensive visceral adhesiolysis. Case Rep Surg 2018; 2018: 1-6.

41. Jeong JJ, Lee DW, Song SY et al. Development of novel biocompatible thermosensitive anti-adhesive agents using human-derived acellular dermal matrix. PLos One 2019;14(2): 1-9.

42. Trew G. Postoperative adhesions and their prevention. Rev Gynaecol Perinat Pract 2006; 6: 47-56.

43. Tong JWV, Lingam P, Shelat VG. Adhesive small bowel obstruction-an update. Acute Med Surg 2020; 7: 1-16.

44. Attard JAP, MacLean AR. Adhesive small bowel obstruction: epidemiology, biology and prevention. Can J Surg 2007; 50(4): 291-300.

45. Arjmand MH, Avval FZ, Barneh F et al. Intraperitoneal administration of telmisartan prevents postsurgical adhesion band formation. J Surg Res 2020; 248: 171-181.

BÖLÜM VII

PROGENY TEST VE DAMIZLIK BOĞA SEÇİMİ

Progeny Test and Selection of Breed Bull

Serkan Ali AKARSU[1] & Recep Hakkı KOCA[2]

[1]Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye
ORCID: 0000-0003-4450-6540

[2]Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Bingöl, Türkiye
ORCID: 0000-0002-1740-8016

1. Giriş

Artan dünya nüfusunun besin ihtiyaçlarının karşılanması için hayvancılık işletmelerinde hayvan başına düşen verimin arttırılması gerekmektedir. Bu yüzden bir sürü içerisinde genetik verimliliği yüksek olan hayvanların devamlılığının sağlanması gerekir. Doğacak yavruların verim bilgilerinin önceden tahmin edilmesi olarak da yorumlanan Progeny Test'in işletmelerde yaygın bir şekilde kullanılması fayda sağlamaktadır. Bu uygulama ile her bölgenin kendi atmosferine uyum sağlayan ırkların ıslah edilerek verim özelliklerinin arttırılması planlanmaktadır. (1) Damızlık boğa seçimindeki başlıca kriterler; boğanın fenotipik değeri, pedigrisi, familya ortalamaları, kardeş verimleri, yavru ortalamaları, Progeny Test ve genomik özelliklerine göre yapılan seleksiyon metotlarıdır.(2) Suni tohumlama uygulamasının en önemli faydası doğal aşımda damızlık değeri olan bir boğadan tek bir inek tohumlanabilirken suni tohumlamayla çok daha fazla inek tohumlanabilmektedir ve doğal aşımla meydana gelebilecek hastalıkların önüne geçilmiş olacaktır. Bu uygulamalarda damızlık boğalar

arası farklılıkların ortaya çıkarılabilmesi için Progeny Test adı verilen yöntem kullanılmaktadır.(3, 4) Yetiştiricilikte Progeny Test uygulaması uzun süreç gerektirdiği için genomik seleksiyon ile genetik markırların kullanılması yaygınlaşmaktadır. Bu yöntemde hayvanın tüm gen haritasının çıkarılması çok zor olduğu için Quantitive Trait Loci (QTL) denilen ve bu yöntem içerisinde tek nükleotid değişiminin kullanıldığı Single Nukleotide Polymorphism (SNP) ile genomik seleksiyon yapılmaktadır.(5) Çiftlik hayvanlarında QTL'nin kullanılması için genom taraması ve aday gen yaklaşımı yöntemleri kullanılmaktadır(6). Bir diğer yöntem ise Marked Assisted Selection (MAS)'dır.(7) Bu yöntemde ilgilenilen genin seçimi yapılmaktadır. Bu yöntemin progeny Test ile kullanılması gelecekte istenilen özelliklerin seçimini kolaylaştıracaktır.(8)

2. Progeny Test

Bir boğanın kızlarına ait verim ortalamalarının belirlenmesi ve ortaya çıkan bu değerin test dönemindeki tüm boğaların kızlarının genel ortalamasından farkının ortaya konulması, Progeny Test olarak adlandırılır.(5)

Boğalarda fertilite oranları şimdilik üreme sağlığı incelemelerinde ve boğa istasyon merkezlerinde fenotipik olarak değerlendirilmektedir. Ancak sığır eti endüstrisindeki genetik değerlendirmeye şu anda babaya ait fertilite parametre ölçümleri dahil edilmemektedir.(9)

Genetik markerlardan tahmin edilen genetik değerler üzerindeki seçimin, üreme teknikleriyle birlikte kullanılmasının üreme aralığını kısaltmak için hayvanlarda genetik kazanç oranını önemli ölçüde arttırabileceği belirtilmektedir. (10)

Boğa seçiminde buzağılama kolaylığı (CE) dikkate değer bir parametredir. İşletmelerde, boğanınn kızlarına ait buzağılama kolaylığı (DCE) inekler için uygun üreme değerlerine sahip boğa kullanılmasının fırsatını sağlar.(11) Progeny Testte boğaya ait değerlerin birleştirilmesi sonucu toplam değer indeksi (Total Merit Index-TMI) veya total performans indeksi (TPI) adı verilen parametre belirlenerek, boğa seçiminde yol göstermektedir. Bu değer içerisinde boğanın kızlarına ait süt verim değeri, üretimsel ömrü, somatik hücre skoru, tahmini aktarma yeteneği, lineer tip özellikleri önemli yer tutmaktadır.(2)

2.1. Pedigri Kartında Olması Gereken Bilgiler

2.1.1. Boğaya Ait Kimlik Bilgileri

Progeny Testte kullanılacak olan boğanın adı, doğduğu ülke, kulak numarası, safkanlık oranı ve doğum tarihi yazmalıdır. Ayrıca burada NAAB kodu adı verilen özel bir kod bulunur.(12)

2.1.2. Total Performans İndeksi

Bir boğanın kızlarına ait verimsel özellikleri, vücut yapısı, sürüde kalma süresi ve fertilite oranı gibi parametrelerce belirlenen değerdir. TPI formülü hesaplanmasında ülkelere göre farklı formüller kullanılmaktadır.(13) TPI değeri bazı bölgelerde Total Merit Index (TMI) olarak ifade edilirken, bazı bölgelerde ise LPI ya da RZG olarak belirtilir.(14)

2.1.3. aAa veya DMS değeri

Özel anlamlar ifade eden 1'den 6 'ya kadar rakamlardan oluşan bu değer kimlik bilgilerinin hemen altında yer almaktadır. Bu rakamlar sütçü form, gelişme oranı, buzağılama kolaylığı, güçlü vücut yapısı, yemden yararlanma oranı ve iyi ayak yapısını değerlendirmektedir. Boğa seçiminde aranan özelliklerin belirlenmesinde aAa değeri bu kapsamda faydalı olmaktadır.(15)

2.1.4. Ebeveyn Değerlendirmesi

Damızlık boğa değerlendirirlen anne (Dam) ve babaya (Sire) ait değerlendirme puanları da göz önünde bulundurulmalıdır. Burada verilen puanlar mükemmel (E - Excellent), çok iyi (V - Very Good), iyi (G - Good) ve normal (N) olarak sınıflandırılmaktadır.(5)

2.2. Genetik Hastalıklar ve Kodları

Suni tohumlama uygulamaları zamanla sperma kaynaklı resesif genlerde artışa yol açmış olup sonuçta yaygın olmasa da istenmeyen bazı ***kalıtsal hastalıklar*** görülmeye başlanmıştır. Bu kalıtsal problemler kromozomlar üzerinde bulunan resesif genlerle ilgili olup yavruya anne ve babasından geçmek suretiyle ortaya çıkarlar. Modern DNA testleri son yıllarda bu tip kusur ve hastalıkların tanınmasına yardımcı olmuştur. Yapılan bu modern testler, damızlık boğaların istenmeyen resesif genler yönünden yıllar içerisinde taranmasına olanak tanımış ve bu tür genetik hastalıkların görülme sıklığını azaltmıştır.(16, 17)

Tablo 1. Kataloglarda belirtilen Genetik Hastalıklar.(16-24)

Sıra No	Hastalık Adı	Açıklama
1	Omurga bozukluğu (CVM)	CV(Taşıyıcı),TV(Negatif)
2	Lökosit bağlanma eksikliği (BLAD)	BL(Taşıyıcı),TL(Negatif)
3	Kırmızı kıl(Holstein için)	RC(Taşıyıcı),TR(Negatif)
4	Spinal muskuler atrofi	M(Taşıyıcı),TM(Negatif)
5	Kılsızlık	HL(Taşıyıcı)
6	Üridin monofosfat sentetaz eksikliği (DUMPS)	DP(Taşıyıcı),TD(Negatif)
7	Boynuzsuzluk	PC(Taşıyıcı)
8	Katır tırnaklılık	MF(Taşıyıcı),TF(Negatif)
9	Çarpık ayaklılık	LL(Taşıyıcı)
10	Kusurlu deri	IS(Taşıyıcı)
11	Pembe diş	PT(Taşıyıcı)
12	Zikzak hastalığı	W(Taşıyıcı),TW(Negatif)
13	Uzamış gebelik	PG(Taşıyıcı)
14	Bulldog	BD(Taşıyıcı)
15	Cücelik	DF(Taşıyıcı)

2.3. Belirlenen Özelliklerinin Değerlendirildiği Sürü ve Denek Sayısı

Her progeny test kartında belirlenen özelliklerinin değerlendirilmesinin yapıldığı tarih, denemenin kaç farklı sürüde yapıldığı (HERDS), bildirilen sonuçların boğanın kaç kızının ortalama değeri dikkate alınarak elde edildiği (DAUS - Daughters) ve sonuçların güvenirlik oranı (R - Reliability - %) bildirilir.(25)

2.4. Sütteki Kazein Değerleri

Kazeinler sütteki esas proteinlerdir. Son zamanlarda çoğu dondurulmuş sperma ithalatçısı tarafından kataloglarda yer edinen Beta kazein ve Kappa kazein değerleri vardır. Bunlardan Beta kazein A2 olarak kodlanan süt A1'e göre daha çok protein içermekte ve süt ile meydana gelebilecek kolesterol yada sağlığı negatif olarak etkilebileceği düşünülmektedir.(26) Kappa kazeinlerden ise BB koda sahip olan sütlerin daha iyi peynir ve peynir ürünlerine dönüştürüldüğü düşünülmektedir.(27)

2.5. Lineer Tip Özellikleri

Boy(Stature); Sığırlarda sağrı yüksekliğini ifade etmektedir. Normalin üstündeki değerler istenmektedir.

Göğüs Genişliği (SW/CW); Sığırlarda göğüsün altından yapılan ön iki bacak arası mesafe ölçümüdür. Gelişmesi istenen bir özelliktir.

Vücut Derinliği (BD); Sığırlarda üstten bel omuru alttan karın bölgesi arasından yapılan önden scapula arkadan ilium kemiği ile sınırlandırılan bölgedir. Normalin üstündeki değerler istenmektedir.

Göğüs Derinliği(CD); Sığırlarda sırt omurları ile sternum arası bölge genişliği olarak ifade edilmektedir. Gelişmesi istenilen ölçüt birimidir.

Sütçü Form(DF); Sığırlara arkadan bakıldığı zaman sırt ve boyun bölgesindeki kaslanmaya göre puanlandırılırken, ince narin yapı tercih edilir.

Kalça Açısı(RA); Hayvana yandan bakıldığında sakrum sakrum ve tuber ischii'nin konumuna göre öne eğimli, normal ve arkaya eğimli şeklinde nitelendirilir. Normal değerler kabul görmektedir.

Kalça genişliği(RW); Sığırlarda tuber ischii kemikleri arası ölçümdür. Normal değerlerin üstündeki değerler istenmektedir.

Kalça Uzunluğu(RL); Anüs ile tuber ischiiler arası yapılan ölçümdür. Gelişmesi istenilen bir ölçümdür.

Arka bacakların yandan görünümü; Arka ayakta tarsal eklemin açısı ile değerlendirme yapılır. Hafif açılı olması istenmektedir.

Arka Bacakların Arkadan Görünümü; Arka bacakların birbirine olan açısı olarak ifade edilirken normal ve üstü değerler istenmektedir.

Ayak Açısı(FA); Tırnak açısı olarak ifade edilirken çok eğimli ve dik olması istenmemektedir.

Ayak ve Bacak Puanı(FLC); Ayakların genel durumu, açıları, vücut ile bağlantıları ve kaslanma durumuna göre puanlandırma yapılır. Normal değerler istenmektedir.

Meme Ön Bağlantısı; Memenin önden karın bölgesine bağlantısını ifade etmektedir. Kuvvetli meme bağlantısı tercih edilmelidir.

Arka Meme Yüksekliği; Hayvanda perineum bölgesindeki meme bağlantısını ifade etmektedir. Normal değerler istenmektedir.

Arka Meme Genişliği; Arka bacak ile meme arasındaki bölgenin genişliğini ifade etmektedir. Normal ve üzeri değerler istenmektedir.

Meme Yarığı; Arka memede güçlü bir bağlantı olması istenmektedir.

Meme Lobu Dengesi; Arka meme lobları ile ön meme lobunun kıyaslanması ile ölçülür. Ön memenin arkaya kıyasla derin olması istenmektedir.

Meme Derinliği; Memenin arka ayakta tarsal ekleme göre uzunluğunu ifade etmektedir. Normal değerler istenmektedir.

Ön Meme Başı Yerleşimi; Ön meme uçlarının birbirine olan mesafesi ile ölçülür. Normal değerler istenmektedir.

Arka Meme Başı Yerleşimi; Arka meme uçlarının birbirine olan mesafesi ile ölçülür. Normal değerler istenmektedir.

Meme Başı Kalınlığı; Meme uçlarının kalınlğını ifade etmektedir. Sağım yapısına uygun şekilde olması istenmektedir.

Meme Ucu Uzunluğu; Meme uçlarının uzunluğu ifade edilirken çok kısa olmasının sağımı zorlaştıracağı, çok uzun olmasının ise mastitisi arttıracağı belirtilmektedir.

Vücut Kondisyon Skoru; Vücutta belirli bölgelerdeki yağlanma oranı ile 1 ile 5 arasında puanlandırma yapılmaktadır. Ortalama değerler istenmektedir.

Lineer Tip Aktarma Derecesi (h^2); Lineer tip faktörlerinin yavru aktarılma derecesi olarak ifade edilir. Sürüde arttırılması istenilen faktöre göre kalıtım derecesi yüksek olan boğalar tercih edilmelidir.(3, 5)

2.6. Birleşik Değerler İndeksi

Tip Puanı (Type); Boğanın kızlarına ait lineer tip özellikleri ile belirlenen puandır.(28)

Ayak ve Bacak Birleşik İndeksi (FLC); Lineer tip özelliklerinden ayak yapısı ile ilgili olanların puanlanması ile ölçülür.(28)

Meme Birleşik Indeksi (UDC); Lineer tip ölçütlerinden meme ile ilgili olanların öçümü ile belirlenir.(28)

2.7. Süt Verim Değerleri

Süt Miktarı(M); Boğanın kızlarının laktasyon döeneminde (305 gün) verdiği süt miktarıdır.

Süt Yağ Oranı(F); Boğanın kızlarına ait bir laktasyon döneminde el edilen yağ miktarı ve oranını ifade etmektedir.

Süt Protein Oranı(P); Boğanın kızlarına ait bir laktasyon döneminde elde edilen süt protein oranını ifade etmektedir.(29)

2.8. Et Verim Değerleri

Doğum Canlı Ağırlığı(BW); Yavrunun doğduktan sonraki canlı ağırlık miktarını ifade etmektedir.

Sütten Kesim Canlı Ağırlığı(WW); Yavrunun 205. Günü sütten kesim canlı ağırlığıdır.

Bir Yaş Canlı Ağırlığı(YW); Yavrunun 1 yaştaki canlı ağırlığını ifade etmektedir.

Günlük Ağırlık Artışı(ADG); Sütten kesim calı ağırlığı ile bir yaş canlı ağırlığı arasındaki farkın güne bölünmesi ile elde edilen değerdir.

Kesim Canlı Ağırlığı(FW); Yavruların kesim ağırlığıdır. Kesildiği gün sayısı belirtilerek ifade edilir.

Karkas Ağırlığı(CW); Kesim sonrası sıcak karkas ağırlığı olarak ifade edilir.

Olgun Dişi Ağırlığı(MW); Boğanın kızlarının pubertaya erdiği canlı ağırlığı ifade eder.(30, 31)

2.9. Besi Randıman Değerleri

Karkas Randımanı(CY); Sıcak karkas ağırlığının canlı ortalamaya bölünmesi ile elde edilir.

Kaslılık; Vücut kondisyon skoru ile belli bölgelerdeki kas oranını ifade etmektedir.

Kaburga Bölgesi Kas Oranı(REA); Ribeya adı verilen bölgede yer alan 6 ve 12. kaburgalar arası bölgede longissumus dorsi kasının miktarı olarak ifade edilir.

Kas Mermerleşme Skoru(MARB); soğuk karkasta yapılan longissumus dorsi kasında yağlanma oranını ifade eder. Ortalama değerler kabul görmektedir.

Kas Içi Yağ Oranı ve Kalınlığı(IMF); Longissumus dorsi kasının 12 ve 13. kaburgalar arası ultrasonografi ile incelenmesi olarak ifade edilir.(3, 15)

2.10. Diğer Verim Özellikleri

Üretimsel ömrü (PL); Hayvanın sürü içerisnde kaldığı zaman olarak ifade edilir.(32)

Somatik hücre skoru(SCS); Boğanın kızlarına ait sütün 1 mL içerisindeki somatik hücre sayısını ifade etmektedir. Düşük olması istenmektedir.(33)

Genel Mizaç(TEM); Boğanın kızlarına ait huy özelliklerini ifade etmektedir. Aşırı heyecanlı ve sinirlilik istenmeyen özelliktir.(34)

Süt Sağım Hızı(MS); Boğanın kızlarına ait sütün memeden indirilme süresi olarak ifade edilir.(35)

Net Merit (NM$), Cheese Merit (CM$) ve Fluid Merit (FM$); Bu boğanın spermasındandoğan kızlarının üretimsel olarak peynir ve sütten gelecek olan karlılığı bulunduğu ülkeye gösteren değerdir.(5)

2.11. Fertilite Özellikleri

Düve buzağılama kolaylığı(SCE); Boğanın spermasıyla tohumlanan düvelerde görülen buzağılama kolaylığını ifade etmektedir.

Kızlarına ait buzağılama kolaylığı (DCE); Boğanın kızalarına ait buzağılama kolaylığını ifade eder.

Düve ölü doğum oranı(Sstb); Boğanın spermasıyla tohumlanan düvelerde görülen ölü doğum oranını ifade eder.

Kızlarına ait ölü doğum oranı(Dstb); Boğanın spermasıyla tohumlanan kızlarına ait ölü doğum oranını ifade eder.

Kızalarına ait gebelik oranı(DPR); Boğanın kızlarına ait ilk tohumlamada gebe kalma oranını ifade eder.

Gebelik süresi(GL); Boğanın kızlarına ait gebelik süresi olarak ifade edilir. Normal değerler kabul görmektedir.

Kızlarına ait doğum-ilk tohumlama aralığı(ICA); Boğanın kızlarına ait doğum ile ilk tohumlama arası gün (açık gün) olarak ifade edilir. Sürü verimliliği açısından bu sürenin kısa olması tercih edilir.(36)

3. Sonuç

Çiftlik yönetiminde sürünün devamlılığında kullanılan en iyi yöntem suni tohumlamadır. Suni tohumlamada Progeny Teste tabi tutulan boğaların sperması kullanılmaktadır. Sürü yönetiminde karşılaşılan problemlerin belirlenmesi ve uygun boğanın seçilmesi ekonomik açıdan önem arz etmektedir. Bu yüzden Progeny Testin çiftliklerde sperma seçiminde yol göstermesi gerekir. Örneğin çiftliklerde görülen mastitis ve ayak problemlerinde Progeny Testte kızlarına ve torunlarına ait değerlere bakıldığında meme ve ayak problerinin en az rastalndığı boğayı seçmek işletmenin verimini ve masraflarını azaltacaktır. Özellikle ülkemizde görülen fenotipik değerlendirmenin yanında genotipik değerlendirmelerin ön plana çıkması gerekmektedir. Bu anlamda istenilen genetik özelliklerin belirlenerek QTL gibi yöntemler ile modifiye edilmesi ıslah programlarında hızlı yol katedecektir. Bu anlamda biyoçeşitliliği de kazanmak için çok sayıda boğanın ıslah edilerek sürülerde kullanılmasına da ayrıca dikkat etmek gerekir.

Kaynakça

1. Tırpan MB, Tekin N. Türkiye'deki progeny test çalışmalarına genel bir bakış. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2014; 11: 197-203.

2. Tırpan MB, Tekin N. Seleksiyon ve damızlık boğa seçim kriterleri. MAE Vet Fak Derg. 2018; 3: 85-95.

3. Sönmez M. Veteriner Hekimlikte Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları, 2020; 431-458.

4. Al Makhzoomi AK, Lundeheim N, Håård M, Rodríguez-Martínez H. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI dairy bulls in Sweden. Theriogenology. 2008; 70: 682-91.

5. Daşkın A. Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yönetimi ve Suni Tohumlama, Aydan Web Ofset 2. Baskı, 2011; 105-148.

6. Haley C, Visscher P. DNA markers and genetic testing in farm animal improvement: current applications and future prospects. Edinburgh: Roslin Institute. 1998: 28-39.

7. Misztal I. Challenges of application of marker assisted selection–a review. Anim. Sci. Pap. Rep. 2006; 24: 5-10.

8. Goddard M, Hayes B. Genomic selection. J. Anim. Breed. Genet. 2007;124:323-30.

9. Butler ML, Bormann JM, Weaber RL, Grieger DM, Rolf MM. Selection for bull fertility: a review. Transl. Anim. Sci. 2020; 4: 423-41.

10. Meuwissen TH, Hayes BJ, Goddard M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics. 2001;157:1819-29.

11. de Maturana EL, Ugarte E, Komen J, Van Arendonk J. Consequences of selection for yield traits on calving ease performance. J. Dairy Sci. 2007; 90: 2497-505.

12. Norman H, Powell R, Wright J, Sattler C. Overview of progeny-test programs of artificial-insemination organizations in the United States. J. Dairy Sci. 2001; 84: 1899-912.

13. Ratwan P, Chakravarty A, Kumar M. Development of sustainable performance index based on production, reproduction, health and longevity for genetic improvement of Sahiwal cattle. Reprod. Domest. Anim. 2021; 56: 792-800.

14. Minery S, Brochard M, Mattalia S. Use of national and international EBVs of fertility in total merit index. Interbull Bull. 2008:113.

15. Damızlık Boğa Kartlarının Okunması. Katalogdaki boğa - Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemelerihttps://acikders.ankara.edu.tr Erişim Tarihi 8 Kasım 2022.

16. Funk D. Major advances in globalization and consolidation of the artificial insemination industry. J. Dairy Sci. 2006; 89: 1362-8.

17. Paiva D, Fonseca I, Pinto I, Ianella P, Campos T, Caetano A, et al. Incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency, complex vertebral malformation, and deficiency of uridine-5-monophosphate synthase carriers in Brazilian Girolando cattle. Genet. Mol. Res. 2013; 12 (3): 3186-92.

18. Schafberg R, Swalve H. The history of breeding for polled cattle. Livest. Sci. 2015; 179: 54-70.

19. Mohr OL, Wriedt C. Hairless, a new recessive lethal in cattle. J. Genet. 1928; 19: 315-36.

20. Jacinto JGP, Häfliger IM, Letko A, Drögemüller C, Agerholm JS. A large deletion in the COL2A1 gene expands the spectrum of pathogenic variants causing bulldog calf syndrome in cattle. Acta Vet. Scand. 2020; 62: 1-8.

21. Troyer D, Cash W, Vestweber J, Hiraga T, Leipold H. Review of spinal muscular atrophy (SMA) in Brown Swiss cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 1993; 5: 303-6.

22. Koltes JE, Mishra BP, Kumar D, Kataria RS, Totir LR, Fernando RL, et al. A nonsense mutation in cGMP-dependent type II protein kinase (PRKG2) causes dwarfism in American Angus cattle. Proc. Natl. Acad. Sci. 2009; 106: 19250-5.

23. Madden D, Ellis D, Barner R, Melcer I, Orten J. The occurrence of congenital porphyria in Holstein-Friesian cattle. J. Hered. 1958; 49: 125-8.

24. Mee JF. Managing the dairy cow at calving time. Vet. Clin. North Am. Food Anim. 2004; 20: 521-46.

25. Specht LW, Mc Gilliard L. Rates of improvement by progeny testing in dairy herds of various sizes. J. Dairy Sci. 1960; 43: 63-75.

26. Bekuma A, Galmessa U. A1 Beta casein: Devil in the milk-A short communication. Approaches in Poultry Dairy and Vet Sci J. 2019; 7: 606-8.

27. Smirnova E, Gryazneva T, Smirnova A, Pimenov N. Genotyping of kappa casein in crossbred cattle as a factor in managing the technological qualities of milk. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: IOP Publishing; 2021. p. 012061.

28. Ashwell M, Heyen D, Weller J, Ron M, Sonstegard T, Van Tassell C, et al. Detection of quantitative trait loci influencing conformation traits and calving ease in Holstein-Friesian cattle. J. Dairy Sci. 2005; 88: 4111-9.

29. Georges M, Nielsen D, Mackinnon M, Mishra A, Okimoto R, Pasquino AT, et al. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. Genetics. 1995;139:907-20.

30. MacNeil M, Short R, Urick J. Progeny testing sires selected by independent culling levels for below-average birth weight and high yearling weight or by mass selection for high yearling weight. J. Anim. Sci. 1999; 77: 2345-51.

31. Schoeman S. Characterization of beef cattle breeds by virtue of their performances in the National Beef Cattle Performance and Progeny Testing Scheme. S. Afr. J. Anim. Sci. 1996; 26: 15-9.

32. Khan M, Bhatti A, Bhatti S, Ashiq M. Semen production and productive life of Sahiwal bulls: relationship with genetic worth. Pak. Vet. J. 2007; 27: 20.

33. Powell R, Norman H, Sanders A. Progeny testing and selection intensity for Holstein bulls in different countries. J. Dairy Sci. 2003; 86: 3386-93.

34. Phocas F, Boivin X, Sapa J, Trillat G, Boissy A, Le Neindre P. Genetic correlations between temperament and breeding traits in Limousin heifers. Anim. Sci. 2006; 82: 805-11.

35. Schaeffer L. Estimation of genetic covariances from sire progeny test results. J. Dairy Sci. 1981; 64: 546-51.

36. Willam A, Egger-Danner C, Sölkner J, Gierzinger E. Optimization of progeny testing schemes when functional traits play an important role in the total merit index. Livest. Prod. Sci. 2002; 77: 217-25.

BÖLÜM VIII

KÜÇÜK RUMİNANTLARDA BAZI İZ ELEMENTLERİN FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

The Effects of Some Trace Elements on Fertility ın Small Ruminants

Yavuz MUSABEŞEOĞLU [1]& İbrahim TAŞAL[2]

[1](Öğr. Gör.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
e-mail: yavuz_musabeseoglu@hotmail.com
ORCID: 0000-0001-6152-7787

[2](Prof. Dr.), Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
e-mail: ibrahimtasal@hotmail.com
ORCİD: 0000-0003-4632-3115

1. Giriş

Yüksek verimli koyun ve keçi üretimi, genetik, beslenme, hayvancılıkla uğraşan kişi faktörlerine ve potansiyel olarak üretimi sınırlayıcı hastalıkların bulunmayışına veya yeterli yönetimine bağlıdır. (1) Bu nedenle üretim türü (et/süt/yün), yönetim sistemi, yem kaynakları, yerel iklim, üreme hedefleri, çiftlikteki mevcut tesisler, çiftlikte ve bölgede mevcut enfeksiyonlar, patolojik koşullar ile personel yönetimi, çiftçinin kişiliği ve eğitimi ile programın uygulanması açısından tutumu oldukça önem arz etmektedir. (2) Yeterli beslenme ve beslenme yönetimi, yüksek üretim ve hastalık direncine ulaşmada kilit oyunculardır, bu nedenle bir veteriner sağlık planı, vücut kondisyon skoru ve iz (eser) element durumunun izlenmesi dahil olmak üzere her zaman beslenme programının izlenmesini içermelidir. (3)

Bağışıklık tepkisi, büyüme fizyolojisi ve üreme dahil farklı metabolik işlevler için yeterli iz mineral alımı ve emilimi gereklidir. Diyetteki mineral takviye stratejilerinin üreme performansını hızla iyileştirdiği ve modern hayvansal üretim sistemlerinde optimum üretimi sağladığı öne sürülmektedir. Aslında iz elementin beslenmedeki eksiklikleri, çiftlik hayvanlarının üreme verimi açısından olumsuz etkilere sebebiyet verebilmektedir. (4)

Canlı vücudunda doğada bulunan tüm iz elementler yer almaktadır. Bu iz elementlerin bir bölümü yaşamsal faaliyetler için gerekli olup bir kısmı ise vücutta tesadüfen yer almaktadır. Yaşamsal faaliyetler için ihtiyaç duyulanlar esansiyel elementler olarak adlandırılmaktadır. Güncel verilere göre iz element olan 50 adet element bulunmaktadır. Mineraller canlı vücudunda yaklaşık %3-5 oranında yer almaktadır. Bu mineraller, hayvan vücudunda bulunma yoğunluklarına göre makro ve mikro (trace, iz) elementler olarak gruplara ayrılmaktadır. (5)

İz elementler esansiyel iz elementler (arsenik, kalay, kurşun, silisyum, vanadyum, nikel, demir, selenyum, bakır, flor, krom, iyot, kobalt, çinko, manganez, molibden) ve aksidentiyel iz elementler (alüminyum, bor, lityum, talyum, sezyum, kadmiyum, baryum, berilyum) olarak ayrılmaktadır. (6)

İz elementler canlı vücudunda, vitamin sentezinde, kan yapımında, hormonların yapısında, enzimlerin oluşumunda yer alırlar ve mikro mineraller olarak bilinirler. Reprodüktif sistemin düzenlenmesinde ve immun sistemin bütünlüğünde görev alırlar. İz elementler vasıtasıyla işlevsellik kazanan enzimler tüm organizmada yer alırlar, iz element dengesizlikleri ve noksanlıklarının reprodüktif bozukluklara ve bağışıklık tepkisinin oluşmasında gecikmeye neden olduğu belirtilmiştir. Özellikle dişi hayvanlarda postpartum dönemde endometriyumun yenilenmesi aşamalarında ve süt verim artışları için gerekli olan iz element desteği uygun şekilde yapılmalıdır. (5) İz elementler canlı vücudunda düşük yoğunluklarda bulunmasına rağmen, canlının yaşamsal fonksiyonlarını yerine getirilmesi için oldukça önemlidir. İmmun sistemin bütünlüğünde, hücre ozmotik basıncın düzenlenmesinde, hormonların üretilmesi, vitamin sentezlenmesi, enzim aktivitesi, sinir impluslarından iletimin sağlanması, oksijenin taşınması, enerji üretilmesi, büyüme ve reprodüktif sistemin düzenlenmesi gibi fizyolojik işleyişin devamlılığı açısından gerekli olduğu belirtilmektedir. (7)

İz element noksanlıklarında, deride ve tüylerde problemler oluşmakta, immun yanıtta yetersizlikler oluşmakta, et ve süt üretiminde verim kaybı, düvelerde pubertasa ulaşmada gecikmeler meydana gelmekte, östrüsta düzensizlikler oluşmakta, gebelik oranlarında azalmalar şekillenmekte, embriyonik ölümler görülmekte, fötüste gelişme anomalileri, postpartum komplikasyonlar vb. sorunların meydana geldiği belirtilmektedir. (8)

Koyunların mineral madde ihtiyacı, diğer hayvanların mineral madde ihtiyaçlarının karşılanmasında olduğu gibi önemlidir. Yapılan çalışmalara göre mineral madde noksanlığı görülen hayvanların, diğer besin maddeleri noksanlığı görülen hayvanlara göre daha çabuk öldükleri gözlenmiştir. (9)

İz elementler; reprodüksiyon üzerine, tek başlarına oldukları kadar birbirleriyle olan etkileşimleriyle de etkilidirler. Bu etkilerini; doğrudan birbirlerini ve emilim mekanizmasını etkileyerek gösterebilmektedirler. Bu nedenle rasyonlara katılırken belli oranlarda bulunmaları gerekir. Bu iz elementler sırasıyla selenyum (Se), bakır (Cu), çinko (Zn), iyot (I), manganez (Mn), kobalt (Co) ve demirdir (Fe). (5)

Dişilerde iz element gereksinimleri laktasyon süreçleri, hastalıklar, büyüme-gelişme dönemleri, çiftleşme dönemi ve gebelik gibi nedenlerden dolayı yıl boyunca değişmektedir. (11) Metabolizma faaliyetlerinin bu dönemlerde değişmesine bağlı olarak canlı, oksidatif strese daha çok maruz kalmakta olup mineral madde ihtiyacında artış meydana gelmektedir. (12) Ruminantlarda iz elementlerin folikül gelişimini ve embriyonik gelişimi etkilediği bildirilmektedir (13). Bu nedenlerle iz elementler üreme verimliliğinde önemli bir etken olmaktadır. (14) Üreme performansının diğer yönleri ile birlikte embriyonik ve fetal yaşamı etkilediği bildirilmektedir (Tablo 1.1). (15)

Tablo 1.1. İz element eksikliğinin koyun ve keçinin üreme performansı üzerindeki etkisi. (16)

Eksikliği	Üreme Fonksiyonu Üzerindeki Sonuçlar
Bakır	Gecikmiş ve depresif östrüs, abortus, ölü fetüsler
İyot	Fetal gelişimin durması Tiroid disfonksiyonu ile ilişkili Abortus, ölü doğum Erkeklerde libido azalması sperma kalitesinde bozulma
Manganez	Depresif veya gecikmiş östrüs Zayıf gebe kalma oranı Vücut ağırlığına göre testis büyümesinin azalması
Selenyum	Koyunlarda yüksek düzeyde infertilite Yüksek embriyonik ölüm Artan perinatal mortalite Kuzuların soğuk stresine karşı artan duyarlılığı Kuzularda hızlı kilo kaybı
Çinko	Kuzularda spermatogenezi engelleme

2. Küçük Ruminantlarda Fertilite

Fertilite, hayvancılıkta ekonomik nedenlerden dolayı en önemli konulardan biridir. (17) Mevsimsel polioöstrik hayvanlar olan küçük ruminantlarda üremenin faaliyetlerini kontrol eden çevresel faktörlerden başlıcası gün uzunluğudur. (18) Koyun ve keçi ırklarında pubertas yaşı optimal çevre şartlarında genel olarak, 5-12 ay arasında değişmektedir. Pubertas, genel bir tanımla dişilerin düzenli olarak östrüs göstermeye başladığı zamandır. Pubertas olgunluğuna gelen hayvanlar ovulasyon kabiliyeti kazansa dahi seksüel açıdan olgunlaşmamıştır. Pubertası ırk, yaş, canlı ağırlık (CA) ve mevsim olmak üzere başlıca dört faktör belirlemektedir. Üremenin başlayabilmesi için optimum yaşa erişildiğinde, gerekli asgari canlı ağırlığa da ulaşılması gerekmektedir. Koyunlar 9-15 aylık olduğunda yetiştirme olgunluğuna erişir. Genel olarak, erişkin canlı ağırlığın 2/3 üne ulaşmadan hayvan çiftleştirilmemelidir. Bu şartlar oluştuktan sonra mevsimin, özellikle de fotoperiyodun etkisi ile pubertas başlar. (19)

Mevsime bağlı polioöstrik hayvanlar olan küçük ruminantlarda, üreme faaliyetleri gün ışığının kısalması ya da uzaması ile ilişkilidir. Günlerin kısalması ile ışık alma süresi azalmakta ve pineal bezden melatonin salgılanması artmaktadır. Melatonin seviyesinin artması hipotalamustan gonadotrophin releasing hormon (GnRH) salınımını artırır ve hipofiz ön lobundan folikül uyarıcı hormon (FSH) ile luteinleştirici hormonun (LH) salınımını uyarıcı etki eder. Kan dolaşımıyla ovaryumlara gelen FSH, folliküler gelişimi başlatır. (20)

Hipotalamo-hipofizer portal dolaşım aracılığı ile ön hipofize gelen GnRH, buradan gonadotropinlerin salınımını uyarır. Folikül uyarıcı hormon seviyesindeki artış çoğunlukla bir veya daha fazla folikülün gelişmesine ve antral folikül halini almasına neden olmaktadır. (21) Koyunlarda siklus döngüsü içerisinde folliküler dalgalanma üç defa gözlenmektedir. Bu foliküler dalgalardan ikisi diöstrüs esnasında biri ise proöstrüs esnasında görülmektedir. Keçilerde ise seksüel siklus içerisinde dört foliküler dalgalanma görülmekte ve bunlardan üçü diöstrüs, diğeri ise proöstrüsta görülmektedir. Proöstrüs boyunca hızlı bir foliküler gelişim meydana gelmektedir. (22) Gelişen foliküllerin granüloza ve teka interna hücrelerinden salgılanan östrodiol, folikül içi sıvıda birikmektedir. Proöstrüs boyunca foliküllerin gelişimi hızlı olup bu gelişim ovulasyon öncesi dönemde, östrüs içerisinde tamamlanmaktadır. Foliküller bir taraftan gelişmeye devam ederken, aynı zamanda granüloza hücrelerinden östrodiol salgılanmaktadır. Östrodiolün kandaki seviyesinde artış görülmesi, östrüs denilen bazı davranışsal ve fiziksel değişikliklere sebebiyet vermektedir. Yine

östrodiol granüloza hücrelerinde bulunan LH reseptörlerinin sentezini stimüle etmektedir. Östrodiol en yüksek seviyeye ulaştığında, granüloza hücrelerinden salgılanan inhibin aracılığıyla hipofiz ön lobunu uyarmaktadır (negatif geri bildirim). Böylece FSH salınımı bazal seviyeye iner ve folikül gelişimi baskılanır. Folikülogenezisin son döneminde kontrol LH'ya geçmektedir. (23)

Folikülogenezis esnasında östrodiolün fazla miktarda salgılanması ile hipofizden salgılanan prolaktin ve FSH, granüloza hücrelerini etkilemekte olup LH reseptörlerinin artmasına neden olmaktadır. Koyunlarda LH reseptörleri başlangıçta büyük preantral foliküllerin teka hücrelerinde yer almaktadır. Ancak folikül çapı 4 mm'ye ulaştığında LH reseptörleri granüloza hücrelerinde de bulunabilmektedir. (24) Östrodiol düzeyi östrüsun hemen öncesinde en yüksek seviyeye ulaşınca pozitif geri bildirim mekanizmasıyla LH'nın salgılanmasına neden olmaktadır. Böylece LH'nın etkisiyle folikülün son olgunlaşması ve ovulasyon gerçekleşmektedir. (25) Koyunlarda ovulasyon LH pikinden yaklaşık olarak 14 saat sonra, keçilerde preovulatör LH dalgasından 20-24 saat sonra meydana gelmektedir. (26)

Ovulasyondan sonra granüloza hücreleri ve teka hücreleri LH etkisiyle lüteinize olup korpus luteum şekillenmeye başlamaktadır. Korpus luteumun koyunlarda gelişmesinde prolaktin de etkin görev almaktadır. Östrodiol ve LH seviyesi ovulasyondan sonra azalmaktadır. Gelişen CL'dan salgılanan progesteron, gonadotropin salınımı ile foliküler gelişimi baskılamakta ve olası bir gebelik için uterusun hazırlanmasını sağlamaktadır. (27)

Seksüel sikluslar koyunlarda ortalama 16-17, keçilerde ise 21 gün sürmekte olup; ırk, yaş, üreme mevsiminin dönemi, bakım, besleme, çevre ısısı, koçla veya teke ile bir arada bulunma gibi faktörlerin etkisi ile siklus süresi farklılık gösterebilmektedir. Seksüel sikluslar proöstrüs (2-3 gün), östrüs (koyunlarda 18-72 saat, keçilerde 24-48 saat, ortalama 36 saat), metöstrüs (koyunlarda 2 gün, keçilerde 2-3 gün) ve diöstrüs (koyunlarda 12-14 gün, keçilerde 14-15 gün) ile çiftleşme mevsimi dışındaki anöstrüs dönemlerinden meydana gelmektedir. (19)

Sezonda normal bakım ve beslenmesi sağlanan, fertil koç ile çiftleştirilen dişilerde fertilizasyon %90'dan fazladır. Fertilitenin düşmesindeki en önemli sebepler; kalıtım, pubertas yaşı, yaş, ışık, ısı, nem, mevsim, teke-koç ile ilgili sebepler, doğum, laktasyon ve beslenmedir. (28) Ayrıca mineral yetersizliği ve dengesizliği üreme performansını olumsuz etkiler. Mineraller tek başlarına olduğu kadar kendi aralarındaki etkileşimleri ile de reprodüksiyon üzerine etkili olmaktadırlar. (29)

3. Üreme Üzerine Etkili İz Elementler

3.1. Selenyum

Selenyumun iz element olduğu ilk defa 1957 yılında bildirilmiştir. İlk olarak Se'un sıçanlarda karaciğer nekrozunu önlediği belirlenmiştir. Daha sonra 1958'de kuzularda Se ve glutatyon peroksidazın Se içerdiğini ve böylece Se için spesifik bir biyolojik fonksiyon oluşturduğu bildirilmiştir. (15) Vücut dokularındaki zararlı peroksitleri yok eden selenyum hayvanların hayatta kalması için gerek duyulan hücresel savunma mekanizmalarına katkıda bulunan glutatyon peroksidaz enziminin bir bileşenidir. Ruminantlarda Se eksikliği, "beyaz kas hastalığına" ve zayıf yeni doğanlar, abortus, plasenta retensiyonu gibi daha az spesifik sorunlara neden olurken önemli ekonomik kayıplarla sonuçlanmaktadır. (30)

Selenyumun temel fonksiyonları;

- Hücre membranına reaktif oksijenlerin olası zararlarının önlenmesi,
- Antikor sentezinin uyarılması,
- Kandaki lökositlerin infeksiyon bölgesine toplanması,
- Lökositler tarafından fagositozla hücre içi öldürülme işleminin artırılması,
- Epitel hücrelerin moleküler yapısının ve bağların oksidasyon ürünlerinden korunarak, hücrelere patojenlerin invazyonunun engellenmesi olarak tanımlanabilir. (31)

Bu element ince bağırsaktan emilmekte olup özellikle duedenum kısmından emildiği belirtilmektedir, kan dolaşımına ve dokulara taşınması proteinlere bağlanarak gerçekleşmektedir. Selenyum, az miktarlarda dışkı, ter ve solunum ile atılmakta daha yüksek düzeylerde de idrarla atılmaktadır. (10) Vitamin-E ile birlikte, noksanlıklarında buzağılarda ve kuzularda muskuler distrofi`ye sebebiyet veren ve reprodüktif performans açısından önemli bir iz elementtir. Selenyum eksikliği genellikle rasyondaki miktarının azlığına bağlı olarak şekillenmekte olup bunda en önemli faktör yetiştiriciliğin yapıldığı bölgenin toprak yapısı olmaktadır. Vücutta plazma, serum, idrar ve karaciğer biyopsi materyali analizleriyle tespiti yapılmaktadır. Selenyumun total kandaki miktarı 0,1-0,2 µg/ml`dir. (5) Rasyonda bulunan askorbik asit ve A, E vitamini miktarı Se emilimini artırıcı yönde etki göstermektedir. (7)

Selenyumun tolerans gösterilebilir düzeyi bütün hayvan türleri için 2 ppm olarak belirtilmektedir. Uzun süre ve yüksek miktarlarda Se tüketimine bağlı olarak koyunlarda tolerans düzeyinin belirlenenden daha yüksek seviyede

olduğu anlaşılmıştır. Kronik Se zehirlenmesi, sığırların uzun süreler 5-40 mg/kg selenyum içeren rasyon alması ile gerçekleşmektedir. (32)

Normal selenyum düzeyi, koyun kanında 0,08-0,20 ppm, karaciğerde kuru madde (KM) 0,2 ppm olarak kabul edilmektedir. Rasyonda selenyum miktarı, 0,10-0,15 mg/kg KM olup koyunlarda günlük ihtiyaç 0,23 mg'dır. Keçi rasyonlarında 0,15 mg/kg KM'dir. Selenyum zehirlenmesi akut zehirlenme ve kronik zehirlenme şeklinde görülür. Akut şekilde, yem bitkilerindeki selenyum miktarı 100 ppm üzerinde olduğu zaman koyunlarda ölümlere neden olur. Kronik biçimde ise selenofor yem bitkileri 3-20 ppm selenyum kapsadığında, bu gibi yem maddeleri tüketen koyun ve diğer hayvanlarda Alkali Disease şekillenir. (9)

Reprodüktif olarak baktığımızda selenyum fötal ve embriyonik gelişimde, süt veriminde, metritis, ovaryum kistlerinin meydana gelmesinde ve retensiyo sekundinarumun oluşumunda önemli bir elementtir. (33) Selenyumun aşırı verilmesi retensiyo sekundinarum rastlantısını artırır. (34) Selenyum organizmada antioksidan savunma sisteminin temel bileşeni olarak yer almaktadır. (15)

Tiroid hormonunun (TH) sentezlendiği ve kullanıldığı hücrelerde 3-iyodotironin deiyodinaz enziminin kofaktörü selenyumdur. Tiroksin (T4)'in biyolojik olarak 10 kat daha aktif bir hormon olan triiyodotironin (T3)'e dönüşümünde selenyumun önemli ölçüde etkisi bulunmaktadır (35). Selenyum, vitamin E ile sinerjik etkilidir. Vitamin E'nin plazma lipoproteinleri içinde tutulmasına yardımcı olan selenyum pankreas fonksiyonu için ve dolaylı olarak vitamin E ile lipidlerin sindirimi ve emilimi için de gereklidir. (36)

Selenyum, embriyonik ve fötal gelişimde, doğum sonrası uterus involüsyonunda ve ovaryum fonksiyonlarının tekrar başlamasında önemli etki göstermektedir. (33,37) Prostaglandinlerin sentezinde görevli olduğu bildirilmektedir. (38) Selenyum için gerekli olan miktar ve toksik olan miktar arasındaki fark, geviş getiren hayvanlarda az miktardadır. Se noksanlığının sakin kızgınlık, erken embriyonik ölüm, ölü doğum, zayıf yavru doğumları ve düşüklere yol açtığı bildirilmiştir. (4) Selenyum eksikliğinin klinik belirtileri, eş zamanlı E Vitamini ile komplike olmaktadır. Çoğunlukla Se eksikliği ve Vitamin E eksikliği bir arada bulunmakta olup Se eksikliğinin akut formuna, ağırlıklı olarak hızlı gelişen genç hayvanlarda rastlanmaktadır. Koyun ve sığırlarda düşük intramüsküler glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi ile gösterildiği gibi, daha önceki çalışmalarda, örneğin antioksidatif sistemin yetersizliği, iskelet kaslarında oksidatif hasara yol açmakta ve sonuç olarak, etkilenen hayvanların tipik klinik semptomu fiziksel hareketsizlik olmaktadır. (39)

Çiftlik hayvanlarında spesifik olmayan, subakut bozuklukların aralığı, örneğin doğurganlığın azalması ve perinatal mortalitenin artması şeklindedir. (40) Gelişme geriliği ve bağışıklık yanıtının bozulmasını içermektedir. Ayrıca paraziter, bakteriyel veya viral hastalıklar sırasında, yüksek olasılıkla kötü bir bağışıklık tepkisi nedeniyle dayanıklılığın düşmesi şeklindedir. (39)

Selenyum eksikliği gösteren hayvanlarda, lökositlerin aktivitelerinin düşmesine bağlı retensiyo sekundinaruma predispozisyon oluşturduğu görülmektedir. (41) Selenyum noksanlığının bağışıklık sistemi üzerinde negatif etkileri bulunmakta olup paraziter, bakteriyel veya viral hastalıklara karşı, enfeksiyöz abortus riskinin artmasına neden olmaktadır. (39)

Yapılan bir çalışmada selenyumun antioksidan özelliğinin gebeliğin erken döneminde korpus luteumun (CL) lize olmasını engellediği bildirilmiştir. (42) Koç katımından 3 hafta önce ve çiftleşme öncesi kas içi 5 ml %0,1 selenyum enjeksiyonu yapılan koyunların kullanıldığı çalışmalarda; koyunlarda östrüs, gebelik ve kuzulama oranlarında artış olduğu bildirilmiştir. (43, 44)

3.2. Bakır

Bakır, örneğin sitokrom c oksidaz (ScO), süperoksit dismutaz (SOD), tirozinaz ve seruloplazmin gibi vücut enzimlerinin ve proteinlerinin fonksiyonel bir bileşenini temsil eden hayvanlarda ve bitkilerde temel bir iz elementtir. (39) Bakır canlı vücudunda önemli fonksiyonları olan ve en fazla bulunan iz elementlerden bir tanesidir. Bakır canlı vücudunda hücresel solunum başta olmak üzere, kemik oluşumu, doku gelişimi, keratinizasyon, doku pigmentasyonu, lipid metabolizması ve gebelik sırasında embriyo gelişimi için kritik olan enzimatik ve metabolik olaylarda oldukça önemli olduğu bildirilmektedir. (45)

Normal koyun kanında bakır değeri 91-100µg/100ml olup, bu değer 60 µg/100 ml altına inerse düşük olarak kabul edilir. Çayır otlarında normal bakır miktarı, 8-10 mg/kg KM'dir. Eksiklik durumunda mineral yem karmasına %0,50 CuSO4 katılır. Vücutta depo edilen bakır, koyuna 4-6 ay keçiye 4-5 ay yeterli olabilir. Rasyonda optimal doz değeri, koyunlarda 5-10 mg/kg KM'dir. Keçilerde 5 mg/kg KM'dir. Toksik miktar koyunlarda 100mg/kg, keçilerde 25-100 mg/kg'dır. Koyunlara gebeliğin ilk 3 ayında bakırsülfat eriğinden verilir. Koyunlara bu karışımdan 3 hafta süresince birer hafta ara ile ağızdan 50 ml verilir. Koyun ve keçilerde bir diğer koruma yöntemi de iz mineralin yem karmalarında bulunmasıdır. (9)

Bakır antioksidan enzim üretimine katılması nedeni ile immun sistem için oldukça önemlidir. Bu enzimlerin, kollajen ve elastinin yapısal bütünlüğü,

süperoksit radikallerin detoksifikasyonu, pigmentasyon, demir taşınımı ve enerji metabolizması bakımından önem arz ettiği belirtilmektedir. (46) Bakır, ScO fonksiyonlarını düzenlemekte ve nötrofillerin antioksidan kapasitesinin eksiksiz çalışmasını sağlamaktadır. (7)

Bakır fertilite açısından önem arz eden iz elementlerden biridir. Bakır SOD vasıtasıyla luteal hücrelerden progesteron üretiminin düzenlenmesinde etkin rol üstlenmektedir. (47) Bakır, dopaminin, GnRH salgılanmasında rol oynayan önemli bir nörotransmitter olan noradrenaline hidroksilasyonunu katalize eder. Böylece GnRH prohormonunun aktif peptide matürasyonu ve sekretuvar granüllerden GnRH salınımı sağlanır. Bu durumda bakırın, hipotalamusta eminensiya medialisteki sinir uçlarından GnRH salınmasına yol açan sinir iletim ağını etkilediği belirtilmektedir. (48)

Bakır noksanlığında kıl ve yapağı yapısında bozukluklar, büyüme geriliği, eklem bozuklukları ve fertilite bozukluklarına neden olduğu bildirilmektedir. Bu fertilite bozuklukları konsepsiyon oranında düşüş, erken embriyonik ölümler, retensiyo sekundinarum olguları olarak belirtilmiştir. (5) Verilen miktarların fazlalığında ise reprodüktif performansta düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir. Organik formların reprodüktif performans açısından inorganik formlara göre daha faydalı olduğu belirtilmektedir. (49)

Bakır, üreme fonksiyonlarının normal işlemesi açısından evcil hayvanlar için gerekli en önemli iz elementlerdendir. Bakır eksikliğinin ruminantlarda daha çok mera şartlarında meydana geldiği, kesif yemle beslenen hayvanlarda klinik belirtilerin şiddetli olarak ortaya çıkmadığı belirtilmektedir. (7)

Bakır noksanlığında, pubertasda gecikme, gebelik başına tohumlama sayısında artış, ovulasyonda bozukluklar, erken embriyonik ölümlerin şekillenmesi, fetal gelişme bozukluklarının oluşması yanı sıra düzensiz sikluslar, suböstrüs, anöstrüs, güç doğumlar, doğum esnasında aşırı kanama ve retensiyo sekundinarum gibi belirtilerin ortaya çıkabileceği belirtilmiştir. (50) Bakır noksanlığı nedeniyle erken embriyonik ölüm veya yapısal bozuklukların, bağ dokusunda çapraz bağların (kollajen ve elastin) oluşmasından sorumlu liziloksidaz enziminin aktivitesinin bozulması nedeniyle şekillenebileceği belirtilmektedir. (51)

Bakır eksikliğinin embriyo gelişimi sırasında merkezi sinir sisteminin oluşumu üzerinde olumsuz etkisi olduğu bildirilmektedir. Bakır noksanlığında fötüste nekroz veya rezorbsiyon olduğu, doğan yavrularda ise neonatal ataksi vakalarının şekillenebileceği belirtilmektedir. (15)

3.3. Çinko

Çinko canlıların büyüme ve gelişmesinde, cinsel olgunlaşmada, endokrin ve metabolik olaylarda, immun sisteminde görev alan, birçok enzimin yapısında yer aldığı veya kofaktör olarak rol oynadığı belirtilen bir iz elementtir. (7) Çinko, karbonhidrat, lipid, protein ve hemoglobin sentezinde görevli enzimlerin yanı sıra epitel doku bütünlüğü, hücre onarımı, hücre bölünmesi, iştah kontrolü, bağışıklık fonksiyonu, A ve E vitamininin taşınması ve kullanımında görevli 200'den fazla enzim sisteminin başlıca bileşenidir. (52)

Ruminantlarda rasyonda ihtiyaç duyulan çinko miktarı koyun ve keçilerde sırasıyla 20-33 ppm ve 40-75 ppm düzeylerinde olduğu belirtilmektedir. (53) Çinkoda toksik düzey 750-1000 mg/kg KM'dir. (9) Hayvanlarda normal büyüme ve sağlıklı açısından oldukça önemli bir element olduğu belirtilen çinkonun eksikliğinde çeşitli malformasyonlara ve seksüel fonksiyonlarda azalmalara neden olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda rasyonlara ilave edilen çinko reprodüktif performans üzerinde olumlu etkilere sahiptir. (54)

Çinko, koyunlar açısından ihtiyaç duyulan mutlak bir iz elementtir. Deri, kemik ve genital organlar çinko deposudur. Genç erkek kuzular ve oğlaklar çinko eksikliğine karşı çok hassastır. Erkek kuzularda ve oğlaklarda çinko yetersizliğinin en belirgin semptomları, testislerin büyümesinin gerilemesi ve spermatogenezisin tam olarak durmasıdır. Koyunlarda ve keçilerde çinko eksikliğinin proteinlerden yararlanmayı azalttığı ortaya konulmuştur. Bundan başka yapağı ve tiftik dökülmesi, tükürük salgısında artış, iştahsızlık ve zayıflama, yapağı ve kıl yemeye karşı meyil artar. Genelde büyümede azalma görülmektedir. (9)

Vitamin-A metabolizmasına katılan enzimlerin birçoğu çinkoya bağlı olarak düzenlendiği belirtilmektedir. Çinko noksanlığı olan hayvanlarda dolaylı olarak vitamin-A noksanlığına bağlı gelişme geriliğine neden olur ve epitel korunma mekanizması olumsuz etkilenir. Ayrıca yem tüketimindeki azalma nedeni ile gelişen enerji dengesizliği fertilite üzerinde olumsuz etkileri vardır. Aynı zamanda selüler immunolojik mekanizmayı zayıflatmakta ve enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırmaktadır. (5)

Prostaglandinlerin sentezinde araşidonik asit oluşumunun koenzimi çinkodur. (8) Çinko, metalloproteinaz-2 enzimi sentezine katılır ve progesteron sentezinde de görev almaktadır. Ayrıca gebeliğin anne tarafından tanınmasında ve gebeliğin devamlılığında önemli rol aldığı belirtilmektedir. Çinkonun, doğum sonrası endometriyumun yenilenmesinde kritik bir öneme sahiptir ve doğum sonrası ilk östrüsün uygun zamanda olmasını sağlamaktadır. (7)

Çinko yetersizliğinde protein sentezi azalır ve hücre bölünmesi, gelişimi ve onarımında aksamalar olur. (55) Gelişim geriliği, döl veriminde düşüş, deri lezyonları, karaciğerde A vitamini mobilizasyonun bozulması ve kemik deformasyonlarının oluşabileceği bildirilmektedir. (7) Çinko noksanlığında fertilite ile ilgili olayların tüm basamakları olumsuz yönde etkilenmektedir. (8)

Çinko; implantasyon, embriyonik gelişim ve gebelik sürecinde önemli roller üstlenmektedir. (45) Çinko noksanlığının foliküllerin gelişmemesine, preovulatör döneme geçememesine ve ovulasyon şekillense bile daha küçük CL'lerin oluşmasına sebep olabileceği bildirilmektedir. (7)

3.4. Manganez

Manganez, neredeyse canlı organizmaların tümü tarafından kullanılan ve her hücresel bölünmede enzim aktivasyonu için gerekli olan redoks aktif bir metaldir. (56) Çeşitli enzimlerin bir bileşeni olarak Mn, iskelet sistemi gelişimi, enerji metabolizması, sinir ve bağışıklık sistemlerinin işlevi ve üreme hormonu işlevi de dahil çeşitli metabolik yolların modülasyonunda görev almaktadır. (57) Manganez temel bir besin maddesi olmasına rağmen daha yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilir, bu nedenle Mn'nin hedef dokulara taşınması, Mn'nin dokuya özgü taşınması için homeostatik faktörleri gerektirir, bu da spesifik enzimlerin aktivasyonuna yol açar. (56)

Koyunlarda ve keçilerde manganezin üreme ve iskelet gelişimi üzerine etkisi vardır. Eksikliğinde gelişme yavaşlar, yeni doğan kuzularda ve oğlaklarda iskelette anormallikler ve koordinasyon bozukluğu gözlenir. Rasyonda fazla miktarda kalsiyum (Ca) ve demirin bulunması manganez ihtiyacını arttırır. Manganez ihtiyacı 30-40 mg/kg olup, toksik düzey 1000 mg/kg KM'dir. (9)

Manganez, enzim sistemlerinin birçoğunun aktivasyonunda görev almaktadır. Kolesterin sentezi bakımından önemlidir. Böylelikle steroid hormonların salınma mekanizmasında yer almaktadır. (5) Bu iz elementin emilimi ince bağırsaklarda gerçekleşmektedir fakat emilim oldukça düşüktür. Rasyonda fazla miktarlarda bulunan kalsiyum, fosfor ve demir manganezin emilmesini azaltmaktadır. (10)

Manganez, kolesterin sentezindeki gerekliliği nedeniyle steroid hormonların salınma mekanizmasında yer almaktadır. Korpus luteumdaki manganeze bağlı süperoksitdizmutazların aktivitesi progesteron sentezi ile pozitif korelasyon halindedir. (58)

Manganez kolesterin sentezine katılır ve progesteron yapımını destekler. Böylece gelişmiş CL'de Mn düzeyi en üste seviyeye çıkar.

Ayrıca, uterusun östrojen için hazırlanarak duyarlı hale gelmesinde görev almaktadır. (5)

Eksikliğinde siklus düzensizlikleri, sakin östrüs, ovaryum kistlerinde artışlar meydana gelmekte ve konsepsiyon oranlarında düşüşlere sebep olmaktadır. Bununla birlikte abort oranlarının yükselmesine neden olduğu bildirilmektedir. (54) Manganenezin diyetle alımına en çok yanıt veren doku kemiktir. Organik kemik matrisinde mukopolisakkaritlerin bir bileşeni olarak kondroitin sülfat oluşumu için gereklidir. Bu nedenle, manganez organogenez sırasında fetal kemik oluşumunda önemli bir rol oynayabilir. (15) Manganez noksanlığında kemik gelişimindeki etkisi nedeniyle yavrularda kemik deformasyonları ile gelişim geriliği şekillenmektedir. (5, 54) Manganezin taşınması a2-makroglobulin tarafından kolaylaştırılır ve hücrenin mitokondrilerinde lokalize olduğu tüm dokularda hızla gerçekleşir. (15)

Manganezin fötüs tarafından alınımı annenin rasyonla almış olduğu Mn miktarına bağlıdır. Diğer iz elementlerden farklı olarak yavrunun karaciğerindeki Mn seviyesi anneninkine oranla daha fazla olmaktadır. (59) Manganez seviyesinin fazlalığının da fertilite parametrelerini olumsuz olarak etkilediği unutulmamalıdır. Manganez noksanlığı pancar posasının ve mısır silajının fazla verilmesi nedeniyle de ortaya çıkmaktadır. (5)

3.5. İyot

İyotun insanlarda guatr hastalığını önleyebileceğini gösteren çalışmalarla 1900'lerin başlarında bir iz element olduğu belirlenmiştir. (15) Tiroid bezinde çoğunlukla organik şekilde bulunan iyot inorganik biçimde de bulunabilmektedir. (54) En yüksek iyot konsantrasyonu, iyotlu amino asitlerin tiroglobulin oluşturmak için diğer amino asitlerle bağlandığı tiroid bezinde bulunur. Bezdeki iyotun ana depolama şekli; Tiroglobulin, tiroiddeki iyotun kabaca %90'ını temsil ederken, iyot ayrıca tiroksin (T 4) ve triiyodotironinin (T 3) bir bileşeni olarak bulunmaktadır. (15) Tiroksin hücresel oksidasyon oranının kontrolünde büyük öneme sahiptir. Eksikliğinde guatr, süt veriminde azalma, yemden yararlanmanın azalması gibi durumlara ek olarak bölünmüş östrüs, abort, reprodüktif organların gelişiminde gerilik, düşük konsepsiyon oranları, iki gebelik arası sürelerde uzama ile zayıf veya tüysüz yavru doğumları görülebilmektedir. (54)

İyot, koyunlar için esansiyel bir elementtir. Tiroid bezinde tiroksin sentezinde rol oynar. Koyun ve keçilerde iyot eksikliğinde tiroid aktivitesi bozulur ve tiroid bezinin büyümesine yani guatr denilen hastalığa neden olur.

Doğan kuzular ve oğlaklar ölü doğar, guatr ve kılsızlık şekillenir. Özellikle yeni doğan kuzu ve oğlaklarda görülür. Tek olay halinde olabildiği gibi pek çok kuzu ve oğlakta da çıkabilir. İyot, rasyonda guatrojenik bir madde olarak 2 mg/kg düzeyinde bulunmalıdır. Toksik düzey koyunlarda 50-100 mg/kg KM'dır. Keçilerde ise kışın 0.50 mg I/kg (KM), yazın 0.15 mg I/kg (KM) ve toksik düzey, 8 mg I/kg (KM) dır. Yemde iyot, 0.25 mg/kg KM, koyun ve keçiler için uygun olup, mevcut mineral karmada %0.007 KM olmalıdır. (9)

İyot ince bağırsaktan çok etkili bir şekilde emilir. Kalsiyum bakımından zengin yemler iyot emilimini olumsuz etkilemekte ve iyot yetersizliğine neden olmaktadır. Ayrıca guatrojenik bileşikleri içeren yemlerin fazla tüketilmesi durumunda da iyot yetersizliği şekillenebilmektedir. (10) Bu tip beslemenin yoğun olduğu yerlerde tiroid hormonlarının etkilenmesi sonucu follikül kistleri, endometritisler ve persistent korpus luteum gibi fertilite bozuklukları meydana gelmektedir. İyot eksikliği parenteral ya da oral kalsiyum iyodid verilerek giderilebilir. (5)

İyot yetersizliği nedeniyle fötal ölümler ve kongenital bozukluklar meydana gelir. Bu durum gebelik döneminde annenin gerekli düzeyde iyot alması ve fötusa yeterli miktarda iletilmesiyle önlenebilmektedir. (15) Deneysel çalışmalar, iyot eksikliğindeki üreme yetersizliğine, maternal ve fetal hipotiroidizmin bir kombinasyonunun aracılık ettiğini göstermektedir. (60) Haenleina ve Anke (30), 10-22 ay süren beş ayrı deneyden oluşan çalışmaları sonucu; yarı sentetik rasyonda düşük iyot seviyelerinin etkilerini, 18 kontrole kıyasla 19 keçi ve yavrularının yem alımı, üreme, büyüme, ölüm oranı ve doku içerikleri üzerinde çalışmışlardır. İlk 2 denemede I-eksik rasyonun 0,04 mg I/kg KM içerdiği, sonraki denemelerde I-eksiklik seviyeleri 13 keçi için 0,06 mg I ve 0,11 mg I olarak belirlenmiştir. Kontrol rasyonlarında sırasıyla 0,40 mg I ve 0,63 mg I vardır. İyot eksikliği çalışmalarının önemli sonuçlarını göstermektedir. İlk tohumlamanın etkinliği keçilerin sayısı ve yavrularının vücut ağırlığı artışı önemli ölçüde azalırken, düşük oranı ve yavru ölüm oranı çok yüksekti ve gebelik sürelerinin uzadığı görülmüştür. İyot eksikliği olan keçilerde, kolay teşhis için değerli olan kan serumu, süt ve saç dâhil olmak üzere tüm doku ve organlarında iyot içeriğinin önemli ölçüde azaldığı tespit edildi. I içeriğindeki en büyük azalma akciğerlerde (%10) ve böbreklerde (%17) bulundu, 0.04, 0.06, 0,11 arasında ara farklar oluştuğu gözlendi. Iyot eksikliği olan keçiler ve yeni doğan yavruları, büyük ölçüde hipertrofik tiroid bezlerine sahipti. (30)

Fötal hipotiroidizm annedeki hipotroidizm ile bağlantılıdır. Tiroid bezi henüz gelişmeyen yavrunun gelişimi anneden gelen tiroksine bağlı olarak

sürdürülmektedir. Özellikle beyin gelişiminde maternal tiroid hormonlarının etkili olduğu bilinmektedir. Fötal tiroidin gelişmesiyle beynin gelişiminde birlikte etkilidirler. (5)

3.6. Demir

Vücut demirinin ana kısmı eritrositlerde hemoglobine bağlıdır; ancak Fe aynı zamanda çeşitli enzimlerin ve düzenleyici proteinlerin prostetik gruplarında, örneğin sitokrom C oksidaz, akonitaz ile DNA replikasyonu ve onarımında görevli proteinler için de gereklidir. (61) Esansiyel iz elementlerin en önemlilerinden biri olan demir eritrositlerde bol miktarda bulunur ve yaşamsal önemi olan birçok olayda rol oynar. (62) Depolanmış vaziyette bulunan demirin daha küçük miktarı çözünmeyen formu olan hemosiderindir. Plazmadaki demir miktarı çok düşük seviyelerde olduğunda ferritinden demir kolaylıkla ayrılırken, hemosiderinden ayrılması daha zor gerçekleşmektedir. (63) Serum demir düzeylerinin normale göre düşük olması durumuna hiposideremi denilmektedir. Hiposideremi, besinlerdeki demir ve protein yetersizliği ile vitamin C eksikliğinde olduğu gibi demir emilimindeki bozukluk sonucu meydana gelebilir. Gebelik, kan kaybı, karaciğer yetmezliği, nefrotik sendrom, üremi, eksudatif enteropati, doğumsal atransferrinemi ve malignite gibi durumlarda hiposideremi görülebilmektedir. (62) Memelilerde vücut Fe kaybı çok düşük olmasına rağmen, diyetle Fe alımı gereklidir. Atların, sığırların ve koyunların toplam günlük rasyonlarında önerilen Fe konsantrasyonları 50 mg/kg KM'dir. (39) Demirin emilimi ince bağırsakların duedenum ve jejenum bölümlerinde gerçekleşir. (10)

Demir, kanda oksijen taşınmasını sağlayan hemoglobinin önemli bir parçasıdır ve eksikliğinde anemi ve büyümede gerileme görülebilmektedir. Genellikle, rasyonlarda yeterli olduğu için daha fazla Fe ilavesine ihtiyaç yoktur. Yemlerde ve toprakta bol miktarda bulunur. Sadece tek tip beslenen (mama ve süt) hayvanlar dışında ruminantlarda Fe eksikliği neredeyse hiç görülmez. (64)

Bu element çoğunlukla canlı hayvan organizmasındaki bazı enzimlerin yapısında görev alır. Demir ihtiyacı en fazla gebelikte, çok hızlı büyüyen, kalitesiz yemle ve sütle beslenen kuzularda ve oğlaklarda görülür. Diğer yandan sindirim sisteminde fazla parazit bulunan gebe koyun ve keçilerde önem taşır. Normalde bu elementin eksikliği, normal rasyonlarla beslenen koyunlarda ve keçilerde bir problem oluşturmaz. Çünkü çoğu yemler koyunların ve keçilerin ihtiyaç duyduğu (50 mg/kg) miktardan daha fazla demir kapsar. Kuzular ve oğlaklar 1.5 aylığa kadar 100 mg/gün demire ihtiyaç duyabilirler. Bu nedenle sütte yeterli demir bulunmadığından kuzularda ve oğlaklarda anemi ve

enfeksiyöz hastalıklara karşı direncin azalması görülebilir. Bunun için gençlerin rasyonlarında bol yeşil yapraklı baklagil otları bulunmalıdır. Koyunlarda ve keçilerde demir ihtiyacı, 50 mg/kg olup. Toksik düzey koyunlarda 500 mg/kg keçilerde ise 300 mg/kg KM dir. (9)

4. Küçük Ruminantlarda Başlıca İz Elementlerin Gereksinim Duyulan Miktar Düzeyleri ve Analiz Yöntemleri

Organizmadaki iz element ihtiyacı, çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bölgenin toprak yapısı ve coğrafyası, su ve yem maddelerinin iz element içeriği, iz elementler arası etkileşim, vücutta depolanma durumları ve hayvanın kendisine ait özellikler ihtiyacın azalıp artmasında etkilidir. Çiftlik hayvanları için tavsiye edilen miktarlar sabit değildir. Bu miktarlar çiftlik hayvanlarının yapısal özelliklerine ve yeme bağlı faktörlerle ilgili olarak değişiklik gösterebilir (Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3). (65)

Tablo 4.1. Koyunların rasyonlarında iz element ihtiyaçları ve toksik düzeyleri, mg/kg. (9)

Element	Kaba yemdeki miktarı	İhtiyaç düzeyi	Toksik düzeyi
Bakır	5-8	5-10	100
İyot	0-10	0.20	50-100
Demir	60-300	50	500
Manganez	500-900	30	1000
Selenyum	0-50	0.08-0.15	8-10
Çinko	15-40	25-40	1000

Tablo 4.2. Kuzu ve laktasyondaki koyunların iz element ihtiyacı, mg/gün. (9)

Element	Kuzu (10 kg CA)	Laktasyondaki koyun (75 kg CA)
Demir	25.00	60.00
Çinko	10.00	70.00
Manganez	15.00	50.00
İyot	0.20	0.20
Selenyum	0.05	0.20
Bakır	0.40	12.00

Tablo 4.3. Keçi beslemede iz elementlerin ihtiyaç ve toksik düzeyleri, mg/kg. (9)

Element	İhtiyaç miktarı	Toksik miktarı
Bakır	4.5-5.0	25-100
Demir	50	500
İyot	0.2-0.8	8-10
Manganez	30-40	1000
Çinko	35-50	1000
Selenyum	0.10-0.15	2-8

Mineral ve vitamin katkılarının, normal olarak, yemin mineral ve vitamin düzeyini arttırmak veya ayarlamak için bir yem formülasyonuna eklenmesi gerekmektedir, böylece rasyonun uygun bir dengede olması sağlanmaktadır. Mineral ve vitamin premiksi konusunda uzmanlaşmış olan şirketler, mineral, vitamin veya mineral+vitamin premikslerini ticari olarak hazırlarlar ve bunları, genellikle yem fabrikaları veya hayvancılık işletmelerine pazarlarlar. Bu premiks şirketleri, oldukça yoğun olan mineral ve vitamin kaynaklarını tartmak ve düzenli bir şekilde seyreltmek ve karıştırmak için özel donanım kullanırlar. (66)

İz element eksiklikleri, diyet ile yetersiz seviyede iz element alınması (primer eksiklik) ya da emilim bozukluğu sonucu meydana gelmektedir (sekonder eksiklik). (67)

Çiftlik hayvanlarında iz element seviyelerinin ölçümü hem bireysel hem de sürü sağlığı yönetimi açısından oldukça önemlidir. (68) Canlı vücudunda bulunan iz element düzeyi, karaciğer, böbrek gibi organlar ile kan, kas dokusu ve kostalardan alınan örnekler ile belirlenmektedir (Tablo 4.4). (30) İz elementler doku ve sıvılarda oldukça az miktarlarda olmaktadır buna bağlı olarak örneklerin alınması, taşınması ve saklanması sırasında örneklerin iz element içeren giysi, kıl ve deri ile kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Ek olarak, hiçbir aşamada doku ya da sıvılar metal ile temas etmemelidir. Örneklerin toplanması ve saklanmasında polietilen, teflon ve plastikten üretilmiş malzemeler idealdir. (69)

Tablo 4.4. Sığırda iz elementlerin tanısında kullanılan örnekler. (5)

İz element	Örnek materyal
Demir	Serum / Plazma
Bakır	Serum / Plazma / Karaciğer
Çinko	Serum / Plazma / Kıl
Manganez	Serum / Plazma / Karaciğer / Kıl
İyot	Serum / Plazma / Süt
Selenyum	Serum / Plazma

İz element ölçümünde prensip organik maddenin yüksek sıcaklıkta yakılıp geriye kalan inorganik maddelerde iz element seviyesinin belirlenmesidir. Sıklıkla kullanılan iz element analiz metotları, atomik absorpsiyon spektroskopisi ve nötron aktivasyon analizidir. İndüksiyonla birleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-OES), X-Işını Floresans Spektrometresi, proton kaynaklı x-ışını emisyonu, izotop seyreltmeli kütle spektroskopisi ve yakın kızılötesi yansıma spektroskopisi teknikleri de iz element ölçümünde kullanılan yöntemlerdir. (70)

İz elementler vücuda genellikle besin maddeleri aracılığıyla alınırlar. Her bir iz elementin besin maddelerinde bulunduğu miktar farklı olup toprağın türü, durumu, gübre uygulamaları ile bitkisel faktörlerden etkilenmektedir. (71,72) Örneğin yağış miktarının fazla olduğu ya da yeterince havalandırılmayan topraklarda yetişen bitkilerin kobalt, bakır, demir, selenyum ve manganez gibi iz element içeriği azalmaktadır. (72)

Mineral madde takviyesi amacıyla piyasada blok, bolus, enjektabl, toz ve sıvı piremiks gibi çeşitli preparatlar bulunmaktadır. Pek çok koyunculuk işletmesinde mineral takviyesi yapılmamakta ya da premiks ve blok şeklinde yemlere ilave edilmektedir. Bahsi geçen ürünlerin içeriğine iz elementlerin bazen eklenmediği hatta katkı maddesinin hiç bulunmadığı ya da istenilen seviyeye ulaşamadığı bildirilmektedir. Ayrıca bu duruma bazı bölgelerde yetişen bitki ve mevcut sulardaki iz mineral eksiklikleri de eklendiğinde daha kötü sonuçlara neden olabilmektedir. (70)

5. Sonuç

İz elementler, fertilite parametrelerini etkileyen faktörlerdendir. Bu etkilerini çeşitli enzimlerin yapılarına ve dolaylı yoldan etkilediği vücut fonksiyonlarına bağlı olarak göstermektedirler. İz element gereksinimi hayvanlarda tür, yaş, cinsiyet, verimlilik ve ırka bağlıdır. (5) İz element eksiklikleri, çeşitli biyokimyasal etiyoloji bozukluklarına yol açabilir. (73) Küçük ruminantların optimum beslenmesi için rasyonların iz elementlerle dengelenmesi önemlidir. (74) Küçük geviş getiren hayvanlara özel mineral takviyesi, belirli bir bölgedeki toprak, yem, içme suyu ve hayvan dokusundaki mineral konsantrasyonlarının haritalanması veya incelenmesiyle mümkün olmaktadır. Büyüme ve üreme için ihtiyaç duyulan ana minerallerin ve iz minerallerin takviyesi düşünülmelidir. (75) İz elementlerden yararlanma oranı yemde yetersiz bulunması gibi primer nedenlerle ya da yem içeriği veya iz elementler arasındaki antogonizmalardan dolayı düşmektedir. Ayrıca bazı transport proteinlerinin çeşitli metalionları

kabul etmesi sonucu intestinal emilim sırasında da etkileşimler meydana gelir. (76) Mide barsak sisteminde oluşan hastalıklar da emilim bozukluğuna veya kronik iz element kayıplarına neden olmaktadır. Bu veriler aracılığı ile iz element miktarının plazma veya kanda ölçümü sürünün iz element düzeyini belirlemede ilk adımdır. Ancak sonuca ulaşmak için temel belirteç değildir. İz elementler arasında oluşan bu etkileşimler ve iz elementlerin fazla verilmesi sonucu toksik etkiler görülebilir. Bu nedenle iz element katkıları kontrollü olarak verilmelidir. (5)

Hayvansal verimliliğin artırılmasını sağlamak sağlıklı bir hayvan popülasyonuyla mümkün olmaktadır. İz elementler sağlık ve fertilite parametrelerinin artmasını sağlamak amacıyla rasyona ilave edilen önemli yem katkı maddelerindendir. İz elementlerin organizmadaki eksikliği sonucu oluşan hastalıklar, hayvancılık ekonomisinde oldukça önemlidir. Buna bağlı olarak iz element yetersizliklerinden kaynaklanan hastalıklarla diğer hastalıklarda olduğu gibi mücadele edilmelidir. (7)

Kaynaklar

1. Jaÿ M, Tardy F. Contagious agalactia in sheep and goats: current perspectives. Veterinary Medicine: Research and Reports. 2019;10: 229.

2. Lacasta D, Ferrer LM, Ramos JJ, González JM, Ortín A, Fthenakis GC. Vaccination schedules in small ruminant farms. Vet. Microbiol. 2015;181(1-2): 34-46.

3. Simões J, Abecia JA, Cannas A, Delgadillo JA, Lacasta D, Voigt K, Chemineau P. Managing sheep and goats for sustainable high yield production. Animal. 2021;100293.

4. Abdollahi E, Kohram H, Shahir MH. Plasma concentrations of essential trace microminerals and thyroid hormones during single or twin pregnancies in fat-tailed ewes. Small Rumin. Res. 2013;113(2-3):360-364.

5. Küçükaslan İ. İz elementler ve ineklerde reprodüktif açıdan önemi. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2011;(1):26-35.

6. Gelfert CC, Staufenbiel R. Störungen im Haushalt der Spurenelemente beim Rind aus Sicht der Bestandsbetruung. Tierärztl Prax. 1998;26(6):55-66.

7. Sarıbay MK, Özsoy B. Sütçü İneklerde Bakır, Çinko ve Selenyumun Fertilite Açısından Önemi. Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi. 2019;8(1):36-45.

8. Kumar S, Pandey AK, AbdulRazzaque WA, Dwivedi DK. Importance of micro minerals in reproductive performance of livestock. Vet. World 2011;4(5): 230.

9. Çolpan İ. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. In: Ergün A, Çolpan İ, Yıldız G, Küçükersan S, Tuncer ŞD, Yalçın S, Küçükersan MK Şehu A, Saçaklı P (Eds), 7. Baskı, Ankara: Kardelen Ofset Ltd. Şti. 2017;s:341-378.

10. Eren V. Rasyona eklenen organik iz minerallerin gebe koyun ve yeni doğan kuzularında bazı verim özelliklerine etkisi ile birikim ve atılma düzeylerinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın/Türkiye.2009.

11. Van Emon M, Sanford C, McCoski S. Impacts of bovine trace mineral supplementation on maternal and offspring production and health. Animals. 2020;10(12):2404.

12. Grace ND, Knowles SO. Trace element supplementation of livestock in New Zealand: meeting the challenges of free-range grazing systems. Vet. Med. Int., 2012.

13. Bhalakiya N, Haque N, Patel P, Joshi P. Role of trace minerals in animal production and reproduction. Int. J. Livest. Res. 2019;9(9):1-12.

14. Springman SA, Maddux JG, Drewnoski ME, Funston RN. Effects of injectable trace minerals on reproductive performance of beef heifers in adequate trace mineral status. Prof. Anim. Sci. 2018;34(6):649-652.

15. Hostetler CE, Kincaid RL, Mirando MA. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. Vet. J. 2003;166(2):125-139.

16. Blache D, Maloney SK, Revell DK. Use and limitations of alternative feed resources to sustain and improve reproductive performance in sheep and goats. Anim. Feed Sci. Technol. 2008;147(1-3):140-157.

17. Taylor JF, Schnabel RD, Sutovsky P. Genomics of bull fertility. Animal. 2018; 12:s172-s183.

18. Goldman BD. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. J. Biol. Rhythms. 2001;16(4):283-301.

19. Canooğlu E, Sarıbay MK. Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Eds), 2. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. 2015;s:479-487.

20. Ataman MB, Aköz M, Fındık M, Saban E. Geçiş dönemi başındaki Akkaraman melezi koyunlarda farklı dozda flourogestene acetate, norgestomet ve PGF2α ile senkronize östrüslerin uyarılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 2009; 15(5):801-805.

21. Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ. Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. Endocr. Rev. 1994;15(4): 462-499.

22. Aköz M, Bodu M, Acibaeva B. Koyun ve keçilerde östrüs senkronizasyonunda güncel yöntemler. Turkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics. 2015;1(2):1-8.

23. Knight PG, Feist SA, Tannetta DS, Bleach ECL, Fowler PA, O'Brien M, Groome, NP. Measurement of inhibin-A (α βA dimer) during the oestrous cycle, after manipulation of ovarian activity and during pregnancy in ewes. Reproduction. 1998;113(1):159-166.

24. Logan KA, Juengel JL, McNatty KP. Onset of steroidogenic enzyme gene expression during ovarian follicular development in sheep. Biol. Reprod. 2002; 66(4):906-916.

25. Caraty A, Skinner DC. Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe. Endocrinology. 1999;140(1): 165-170.

26. Chemineau P, Malpaux B, Delgadillo JA, Guérin Y, Ravault JP, Thimonier J, Pelletier J. Control of sheep and goat reproduction: use of light and melatonin. Anim. Reprod. Sci. 1992;30(1-3):157-184.

27. Chemineau P, Martin GB, Saumande J, Normant E. Seasonal and hormonal control of pulsatile LH secretion in the dairy goat (Capra hircus). Reproduction. 1988;83(1):91-98.

28. Bekyürek T, Gürbulak K. Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Eds), 2. Baskı, Malatya: Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. 2015;s: 582

29. Hayırlı A, Çolak A (2011). İneklerin kuru ve geçiş dönemlerinde sevk-idare ve besleme stratejileri: postpartum süreçte metabolik profil, sağlık durumu ve fertiliteye etkisi. Turkiye Klinikleri J Vet Sci. 2011; 2(1): 1-35.

30. Haenlein GFW, Anke M. Mineral and trace element research in goats: A review. Small Rumin. Res. 2011; 95(1):2-19.

31. Paksoy N, İriadam M. Kilis keçilerinde serum selenyum düzeylerinin araştırılması. Harran Üniv Vet Fak Derg. 2012;1(1):6-8.

32. Küçük O. Selenyum ve Ruminantlarda Kullanımı. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2014;11(1):55-61.

33. Hemingway RG. The influences of dietary intakes and supplementation with selenium and vitamin E on reproduction diseases and reproductive efficiency in cattle and sheep. Vet. Res. Commun. 2003;27(2):159-174.

34. Alan M. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. In: Alaçam E (Eds), 7. Baskı, Ankara: Medisan Yayın Evi Tıbbi Alet İlaç Kimyasal Mad. Gıda Sanayi İç ve Dış Ticaret Ltd. Şti. 2010;s:238

35. Arthur JR, Morrice PC, Beckett GJ. Thyroid hormone concentrations in selenium deficient and selenium sufficient cattle. Res Vet Sci. 1988;45(1):122-123.

36. Mehdi Y, Dufrasne I. Selenium in cattle: a review. Molecules. 2016;21(4):545.

37. Yatoo MI, Saxena A, Deepa PM, Habeab BP, Devi S, Jatav RS, Dimri U. Role of trace elements in animals: a review. Vet. World. 2013;6(12):963.

38. Wichtel JJ, Freeman DA, Craigie AL, Varela-Alvarez H, Williamson NB. Alpha-tocopherol, selenium and polyunsaturated fatty acid concentrations in the serum and feed of spring-calving dairy heifers. N Z Vet J. 1996; 44(1):15-21.

39. Humann-Ziehank E. Selenium, copper and iron in veterinary medicine—From clinical implications to scientific models. J. Trace Elem. Med. Biol. 2016;37:96-103.

40. Munoz C, Carson AF, McCoy MA, Dawson LER, Irwin D, Gordon AW, Kilpatrick DJ. Effect of supplementation with barium selenate on the fertility, prolificacy and lambing performance of hill sheep. Vet. Rec. 2009;164(9):265-271.

41. Cook JG. Reduced incidence of retained fetal membranes in dairy herds supplemented with iodine, selenium and cobalt. Vet. Rec. 2007; 161:625-626.

42. Al-Gubory KH, Bolifraud P, Germain G, Nicole A, Ceballos-Bicot I. Antioxidant enzymatic defence systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy. Reproduction. 2004;128(6):767-774.

43. Gabryszuk M, Klewiec J. Effect of injecting 2-and 3-year-old ewes with selenium and selenium–vitamin E on reproduction and rearing of lambs. Small Rumin. Res. 2002;43(2):127-132.

44. Koyuncu MA, Yerlikaya H. Effect of selenium-vitamin E injections of ewes on reproduction and growth of their lambs. S. Afr. J. Anim. Sci. 2007;37:233-236.

45. Griffiths LM, Loeffler SH, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB. Effects of supplementing complexed zinc, manganese, copper and cobalt on

lactation and reproductive performance of intensively grazed lactating dairy cattle on the South Island of New Zealand. Anim. Feed Sci. Technol. 2007; 137(1-2):69-83.

46. Balıkcı E, Gazioğlu A. Geçiş dönemindeki ineklerde serum bakır, çinko, manganez ve kobalt düzeyleri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 2017;31(2):101-104.

47. Sales JNS, Pereira RVV, Bicalho RC, Baruselli PS. Effect of injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers (Bos indicus× Bos taurus) synchronized for timed embryo transfer. Livest. Sci. 2011; 142(1-3):59-62.

48. Roychoudhury S, Nath S, Massanyi P, Stawarz R, Kacaniova M, Kolesarova A. Copper-induced changes in reproductive functions: in vivo and in vitro effects. Physiol. Res.2016;65(1)

49. Olson PA, Brink DR, Hickok DT, Carlson MP, Schneider NR, Deutscher GH, Johnson AB. Effects of supplementation of organic and inorganic combinations of copper, cobalt, manganese, and zinc above nutrient requirement levels on postpartum two-year-old cows. J. Anim. Sci. 1999;77(3):522-532.

50. Yıldız A, Balıkcı E. İneklerin kan serumlarındaki bazı mineraller ile embriyonik ölüm arasındaki ilişki. Van Vet J., 2004;15(1):11-14.

51. Prohaska JR, Brokate B. The timing of perinatal copper deficiency in mice influences offspring survival. J Nutr., 2002;132(10):3142-3145.

52. Ballantine HT, Socha MT, Tomlinson DAD, Johnson AB, Fielding AS, Shearer JK, Van Amstel SR. Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper, and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. Prof. Anim. Sci. 2002;18(3):211-218.

53. Avcı G. Farklı ırk koyunlarda rasyona çinko ilave edilmesinin plazma leptin, insulin ve tiroid hormon düzeyleri ile bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2013;60:1-5.

54. Hidiroglou M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: a review. J. Dairy Sci.1979;62(8):1195-1206.

55. Spears JW. Organic trace minerals in ruminant nutrition. Anim. Feed Sci. Technol.1996;58(1-2):151-163.

56. Culotta VC, Yang M, Hall MD. Manganese transport and trafficking: lessons learned from Saccharomyces cerevisiae. Eukaryotic cell, 2005; 4(7):1159-1165.

57. Santamaria AB. Manganese exposure, essentiality & toxicity. Indian J. Med. Res.2008;128(4):484.

58. Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. J. Dairy Sci. 1993;76(9):2812-2823.

59. House WA, Bell AW. Mineral accretion in the fetus and adnexa during late gestation in Holstein cows. J. Dairy Sci., 1993;76(10):2999-3010.

60. Burrow GN, Fisher DA, Larsen PR. Maternal and fetal thyroid function. N. Engl. J. Med. 1994;331(16):1072-1078.

61. Zhang C. Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. Protein & cell, 2014;5(10):750-760.

62. Irak K, Karakoç Z, Mert H, Çelik ÖY, Akgül G, Mert N. Relationship Between Blood Iron Levels and Some Liver Enzymes and Histology in Hairy Goat Crossbred. Van Vet J. 2017;28(3).

63. Özgüner M, Akdoğan M, Sulak O, Üngör B, Gökçimen A. Sıçanlarda demir sorbitol enjeksiyonunun karaciğer histolojisi üzerine etkilerinin biyokimyasal parametrelerle ilişkisi. SDÜ Tıp Fak. Derg. 2003;10(3).

64. Gültepe EE, Uyarlar C, Çetingül İS, Iqbal A, Bayram İ. Ruminantlar için vitamin mineral katkıları ve etkileri. Turkiye Klinikleri J Anim Nutr&Nutr Dis-Special Topics. 2017;3(3):218-226.

65. Boğa M, Filik G. Ruminant hayvan beslemede organik iz minerallerin önemi (derleme). Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg. 2011;51(1):31-40.

66. Kellems RO, Church DC. Livestock feeds and feeding (Çiftlik hayvanlarının yemleri ve beslenmesi). Çev: Alp M, Kocabağlı N., Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti. 2016;s:160.

67. Olson KC. Management of mineral supplementation programs for cow-calf operations. Vet. Clin. North Am. Food Anim.2007;23(1):69-90.

68. Kincaid RL. Assessment of trace mineral status of ruminants: A review. In: Proceedings of the American Society of Animal Science 1999;(Vol. 77, No. 1, pp. 1-10).

69. Suttle N. Mineral Nutrition of Livestock, 4th Edition, New York: Cabi Publishing. 2000;p: 50-110.

70. McDowell LR. Minerals in Animal and Human Nutrition.: 2nd Edition, Gainesville: Elsevier Inc. 2003; p:1-32.

71. Mehri A. Trace elements in human nutrition (II)–an update. Int. J. Prev. Med., 2020;11.

72. Grace ND, Clark RG. Trace element requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. In Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants 1991;(pp. 321-346). Academic press.

73. Braun JP, Trumel C, Bézille P. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. Small Rumin. Res., 2010;92(1-3):10-18.

74. Dove H. Balancing nutrient supply and nutrient requirements in grazing sheep. Small Rumin. Res. 2010;92(1-3):36-40.

75. Kawas JR, Andrade-Montemayor H, Lu CD. Strategic nutrient supplementation of free-ranging goats. Small Rumin. Res. 2010;89(2-3):234-243.

76. Rolfs A, Hediger MA. Metal ion transporters in mammals: structure, function and pathological implications. Physiol. J. 1999;518(1):1-12.

BÖLÜM IX

VETERİNER HEKİMLİKTE NANOTEKNOLOJİNİN BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

Biomedical Applications of Nanotechnology in Veterinary Medicine

Tünay KARAN

Yozgat Bozok Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı, Yozgat, Türkiye, e-mail: tunay.karan@bozok.edu.tr
ORCID: 0000-0002-9114-8400

1. Giriş

Nanoteknoloji bilim ve teknolojik uygulamaların pek çok alanını kapsayan oldukça yenilikçi ve hızla gelişen bir teknolojidir. Fizik, kimya ve biyoloji alanlarını içerisinde barındıran ve disiplinler arası olan bu teknoloji, maddelerin atomik ve moleküler düzeyde kontrolünü sağlayarak nano ölçek boyutunda yeni yapılar oluşumunu sağlar. Maddelerin işlevsel olarak kazandıkları bu kendine has özellikleri onları ilgi çekici yapmaktadır. (1,2) Nanoteknolojinin temelini oluşturan nanopartiküller metal, seramik, polimer materyaller kullanılarak farklı şekil, boyut ve özelliklerde hazırlanabilir. (3) Nanopartiküllerin (NP) sentezi yukarıdan aşağı "top-down" kimyasal ya da mekaniksel işlemlerle büyük hacimli maddelerin nano boyuta kadar parçalanması ile veya moleküler nanoteknoloji olarak bilinen aşağıdan yukarıya "bottom-up" atom ya da moleküller aracılığıyla daha büyük materyallerin üretilmesi ile olmaktadır. (4,5)

Günümüzde artık büyük önem taşıyan nanopartiküller kişisel ihtiyaçlarımızdan uzun ömürlü tüketim malzemelerine kadar pek çok üründe avantajlı olarak kullanılmaktadırlar. Çevre temizleme ve atık su arıtımı, otomotiv sanayi, elektronik, tekstil, tarım, inşaat gibi birçok uygulama alanında

nanoteknoloji ile ilgili önemli araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle gıda depolanmasında ve ambalajlanmasında nanopartiküller üstün fizikokimyasal özellikler göstermektedirler. (6,7)

NP'lerin küçük boyutlarda olmaları, üretimlerinin basitliği, hücreler tarafından alınabilmeleri ve dokular arasına penetrasyonunun kolaylığı sayesinde tıp ve veteriner alanda da çok tercih edilmektedirler. Çiftlik hayvanlarında ilaç kalıntılarını en aza indirecek dezenfektanlar, aşı ve terapötikler dahil birçok uygulama alanlarını içeren bu teknoloji özellikle veteriner hekimlikte klinik olarak kullanılan ilaç formülasyonlarında önceliklidir. İlaçların kontrollü salınımı, taşıyıcı olarak kanserli veya hastalıklı dokulara nano taşıyıcı olarak kullanımı hakkında çalışmalar bildirilmiştir. (8,9) Özellikle hücresel ve humoral bağışıklık için gün geçtikçe daha önemli olan nanopartikül tabanlı aşılar biyomedikal uygulamalarda büyük rol oynarlar. (10) Bu bölümde nanopartiküllerin yapıları, sınıflandırılması ve veteriner hekimliği alanında klinik uygulamaları ve nano aşı hakkında bilgilerin verilmesi amaçlanmıştır.

2. Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Genelde nanopartiküller Şekil 1'de gösteridiği gibi karbon bazlı, inorganik ve organik olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Ayrıca iki veya daha fazla malzemenin birleşmesiyle oluşan kompozit nanopartiküller de mevcuttur. Örneğin metal-metal, karbon-metal, karbon-polimer, karbon-seramik gibi nanokompozitler enerji, savunma ve biyoteknoloji gibi birçok endüstriyel sektöre etegredir. (11)

2.1. Karbon Bazlı Nanopartiküller

Fullerenler, karbon nanofiberler, karbon nanotüpler, karbon siyahı, grafen gibi tamamen karbondan yapılmış nanopartiküllerdir. Fullerenler küresel yapıda ve güvenli; grafenler ışık absorblama kapasiteli; karbon nanotüpler elastik özellikte; karbon nanofiberler yüksek termal yapılı ve karbon siyahı UV degredasyonuna dayanaklı özelliklere sahip nanopartiküllerdir.

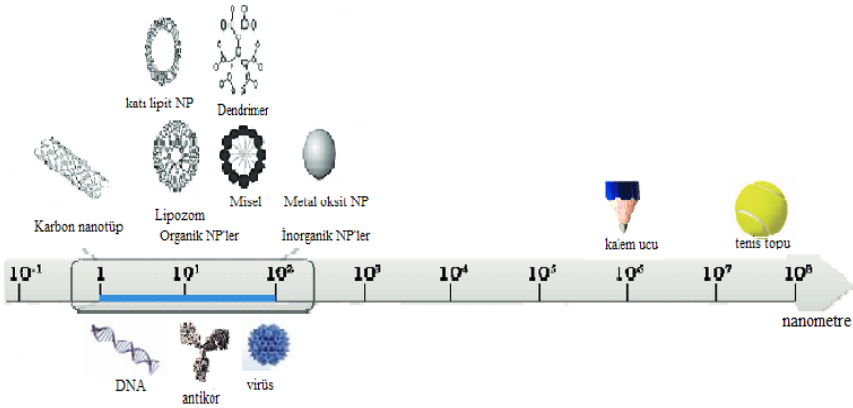
2.2. İnorganik Nanopartiküller

Karbondan yapılmayan metal ve metal oksit bazlı partiküllerdir. Gümüş (Ag), kobalt (Co), çinko (Zn), alüminyum (Al), bakır (Cu), demir (Fe), altın (Au), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb) yaygın olarak kullanılan metallerdir. Metal nanopartiküllere kıyasla daha iyi özelliklere sahip olan metal oksit bazlı NP'ler

titanyum dioksit (TiO_2), çinko oksit (ZnO), alüminyum oksit (Al_2O_3), demir oksit (Fe_2O_3) endüstri ve sağlık alanında yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3. Organik Nanopartiküller

Lipozomlar, dendrimerler, miseller ve ferritin gibi organik nanopartiküller çok çalışılan ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Boyut ve yüzey morfolojisi olarak karakteristik özelliklere sahiptirler ve biyomedikal uygulamalarda sıklıkla tercih edilirler. (12)



Şekil 1. Nano ölçek ve nanopartiküllerin sınıflandırılması (13)

3. Hastalıklara yönelik Nanotanı ve Nanoterapi

Çiftlik ve pet hayvanlarında önemli bir konu olan hayvan sağlığı ile ilgili son zamanlardaki çalışmalar nanoteknolojinin büyük bir potansiyel oluşturduğunu bildirmektedir. Nanosensörler ve nanomateryaller hayvan hastalıklarının teşhis ve tedavisinde öncülük eden yeni bir teknolojiyle birçok hastalığa karşı çözüm oluşturabilmektedir. (14) Geleneksel tanı yöntemlerine daha hızlı ve pratik olacak şekilde alternatif yol spesifik peptid, antikor, nükleik asitlerle bir arada üretilen nanopartiküllerdir ve bunların taşınabilir testleri içerebilmesidir. Böylelikle hastalık semptomları görülmeden erken teşhis ve tedavi sağlanmaktadır. Örneğin şap hastalığı sadece çift tırnaklı hayvanları etkilemeyip bulaşık hayvan ürünlerini de sınırlandıran viral bir hastalıktır. Bu hastalığın viral tanısı için likit kristallerinin hareketlerine duyarlı nano ölçekte hızlı bir test geliştirilmiştir. Ayrıca hastalıkların tanısı ile birlikte genetik yatkınlığın belirlenmesinde nanoteknoloji biyoçiplerin gelişimine ve optimizasyonuna da imkân kılar. (15)

Tıbbi tanıda kullanılabilen nanopartiküller nanocihazlar, nanokablolar, nanotüpler, nanoelektromekanik transitör ve nanotüpler içerisinde adapte edilmektedir. Medikal görüntüleme ajanlarından manyetik NP'ler ve kuantum nokta nanokristalleri potansiyel oluşturmaktadır. Perflorokarbon moleküllerinin nanopartikülleri son zamanlarda trombus ve fibrinlerin görüntülenmesinde manyetik rezonans ve ultrasonografi görüntülenme tekniklerinde kullanılmaya başlanmıştır. Manyetik rezonans ajanı gibi kullanılan demir oksit nanopartiküllerin spesifik doku ve organlarda daha başarılı bir görüntü sağladığı belirlenmiştir. (16) Tıbbi teşhis ve tedavi için kullanılan radyoloji aygıtlarındaki yapay radyasyonlar canlı yaşamı için risk oluşturmaktadır. Günümüzde kanser tedavisinde etkili olarak kullanılan radyoterapinin zararlı etkilerini engellemek için C_{60} fulleren gibi olumlu sonuç veren radyasyon koruyucu ajanlar araştırılmaktadır. Ayrıca gelecek vaat eden C_{60} fulleren nanopartikülleri organizmadaki toksisiteyi de azalttığı bildirilmiştir. (17)

Nanopartiküllerin enfeksiyon, kanser ve allerji gibi birçok hastalığa karşı tedaviye yönelik kullanımları süratle gelişmektedir. Tüberküloz dahil birçok mikrobiyal enfeksiyon nanopartikül içerikli antimikrobiyallerle iyileştirilebilir. Antikanser ilaç yüklü nanopartiküller damar sisteminden geçerek tümör hücrelerini öldürebilirler. Yapılan bir çalışmada berberin ve sığır serum albumin nanopartiküllerinin kanser hücresinde birlikte uygulamasında antikanser aktivitenin etkili olduğu tespit edilmiştir. (18) Başka bir çalışmada paklitakselin ve doksorubisin lipit nanopartiküllerinin düşük toksisiteli ve çoğu kanser hücre hatlarına karşı da aktif olduğu tespit edilmiştir. (19) Metalik nanopartiküllerin de romatoid artrit ve anjiyogenez tedavisinde yararlı olabilecekleri bildirilmiştir. (20)

Nanopartiküller küçük boyutlarından dolayı hücreler tarafından kolay alınarak etkili taşıma ve dağıtım sistemi olarak biyomedikal uygulamalarda kullanılırlar (Şekil 2). Son zamanlarda birçok hastalığın tedavisinde nano-ilaçlar ve nano-ilaç taşıma sistemleri ile yeni bir boyut kazanılmıştır. Kontrollü salım yapan ilaç formlarının geliştirilmesiyle de nano ilaç taşıyıcı sistemler hayvan ve insan sağlığı açısından önemlidir. (21)

3.1. Nano Ölçekli İlaç Taşıyıcı ve Sistemler ve Avantajları

Nano taşıyıcılar nano tıpın vazgeçilmez parçalarından biri olmakla birlikte farmakolojik olarak da olumlu etkileri çok sayıdaki çalışmalarla doğrulanmıştır. Nanopartikül formdaki ilaçlar partikül boyutundan kaynaklı parenteral uygulanabilir; nazal, oral, intraoküler olarak kullanılabilirler. Kontrollü

ve yavaş salınım yapmaları ile yan etkileri oldukça azdır ve etkinlikleri de oldukça fazladır. Sudaki çözünürlüğü az olan ilaçlara kıyasla nanopartiküllerin çözünürlükleri geliştirilebilir ve biyoyararlanım arttırılabilir. Fazla miktarda aktif madde yüklenmesine olanak sağladığından doz gereksinimi azaltılabilir. İlaç boyutunun küçük olması ile vücudun doğal bariyerlerini aşarak etki kaybını önlerler ve yüzey modifikasyonuyla hedef bölgeyle etkileşimin artmasıyla birden çok aynı formülasyondaki ilacın taşınımasına imkân kılarlar. Bütün bu avantajlı özellikler nanopartikül formdaki ilaçları güvenilir yaparak veteriner reçetesine gönül rahatlığıyla yazılmasına olanak sağlamaktadır. (22-24) Veteriner hekimlikte kullanılan ilaç taşıyıcı sistemlerde görev alan ve en sık kullanılan nanomalzemeler aşağıda belirtilmiştir.

3.1.1. Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller (PNP) doğal veya sentetik polimerlerden oluşan nanokapsül veya nanoküre olarak adlandırılan katı parçacıklardır. Albumin, hyaluronik asit, jelatin, kitosan ve aljinat doğal polimerlerdir. Tıbbi ve farmasötik uygulamalarda sıklıkla kullanılan bu malzemeler ilaçları belirli hedeflere ulaştırırlar. Poliglikolik asit, polilaktik asit günümüzde yaygın olarak kullanılan ve sentetik polimerlerden üretilen ilaç taşıyıcı nanopartiküllerdir.

Veteriner hekimlik araştırmalarında ve kanser tedavisinde gelecek vaat eden dendrimerler polimerik nanomalzemelerdir. Hücrelere kolay girişi ve yüksek yükleme kapasiteleri ile fonksiyon gösteren dendrimerler ilaç moleküllerini yapılarında tutabilirler ve dağıtım yapabilirler. Dış yüzeyi suda çözünen çekirdeği ise hidrofobik bir polimerden oluşan miseller bağırsak permeabilitesinin ve sudaki çözünürlüklerin artırılmasında kullanılmaktadırlar. (25,26)

3.1.2. Lipozomlar

Lipozomlar temel olarak fosfolipitten oluşmuş lipit bazlı nanopartiküllerdir. Düşük toksisiteye sahip olmalarından dolayı farmasötik endüstride çok çalışılan nanotaşıyıcılardır. Hidrofilik ve hidrofobik bölgelerin olması ile suda ve yağda eriyen moleküllerin taşınmasını sağlarlar. Yapısının ve içeriğinin düzenlenebilir nitelik göstermesiyle antiviral, antibakteriyel gibi ilaçların taşıyıcısı olarak kullanılırlar. (27)

3.1.3. Katı Lipit Nanopartiküller

Katı lipit nanopartiküller oda sıcaklığında katı halde bulunan miristik asit, setil palmitat gibi lipitlerin nanopartikülleridir. Emülgatörlerle kararlı hale

getirilen bu NP'ler belirli dokuları hedef alarak uzun süre stabil kalabilirler ve etkin maddenin kontrollü salınımını sağlayabilirler. (28)

3.1.4. Metal ve Metal Oksit Nanopartiküller

Metalik nanopartiküller indirgeyici bir madde ile metalik tuzların indirgenmesiyle sentezlenirler ve partikül boyutları organik nanopartiküllere göre daha küçüktürler. Romatoid artrit, kanser, maküler dejenerasyon, retiküloendotelyal sistemi hedef alan bazı hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar.

Altın nanopartiküllerin çeşitli biyolojik aktiviteler sergilemesinden dolayı enfeksiyöz hastalıklarına karşı tedaviye yönelik çalışmaları devam etmektedir. Farmasötik endüstride bu nanopartiküllerin büyük miktarda ilaç molekülünün bağlanmasına imkân sağlaması avantajlı olduklarını göstermektedir. Gümüş nanopartiküller de öncelikle antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antiinflamatuvar aktivitelere sahip olmasından dolayı kemik dolgusu, yara pansuman malzemesi, kateter, implant gibi birçok medikal uygulama alanlarında kullanılmaktadır. Alüminyum, platin, titanyum, bakır, demir, çinko gibi diğer inorganik nanopartiküller aracılığıyla da ilaç hedeflenmesi ve salınması gerçekleşmektedir. (29)

Metal benzerlerine kıyasla reaktiviteleri ve verimlilikleri daha yüksek metal oksit temelli nanopartiküller olağanüstü özelliklere sahiptir. TiO_2 ve ZnO ilaç taşıma sistemi olarak yaygın kullanılan nanopartiküllerdir ve hayvan hücre hatlarında apoptotik hücre ölümünü tetikledikleri belirtilmiştir. (30)

3.1.5. Nanoemülsiyonlar

İlaç taşıyıcı sistemlerle yapılan çalışmaların yoğunlaşması üzerine son zamanlarda nanoemülsiyonlar da incelenmeye başlanmıştır. Çok küçük damlacık büyüklüğündeki nanoemülsiyonlar su, yağ ve emülgatör içerirler. Nanoemülsiyonlar ilaç dağıtımında, fonksiyonel bileşenlerin enkapsülasyonunda kullanılmaktadır. (31)

3.1.6. Diğer Nanotaşıyıcılar

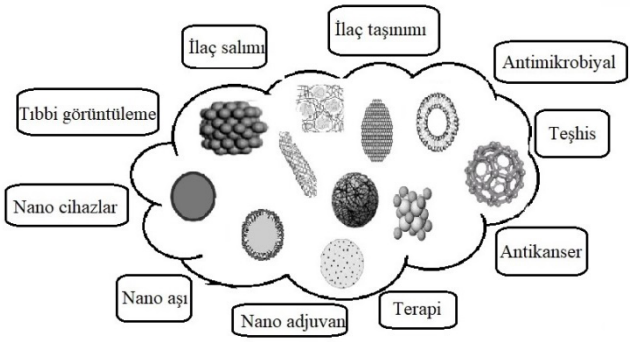
Karbon nanotüpler, grafen oksit, fulleren gibi nanopartiküller mikrosidal özellikler gösterirler ve ilacın bakteriyle etkileşmesinde yüzey alanını arttırırlar. Ancak bu karbon kökenli nanopartiküllerin toksisitesiyle ilgili bazı problemlerin olduğu bildirilmiştir. (32)

3.2. Nano ilaç Salımı ve Veteriner Sağaltımdaki Önemi

Nanopartiküllerin boyutu ilaç yüklenmesini ve salınımı etkilemektedir. Partikül boyutu küçüldükçe ilaç salım hızında artış görülmektedir. Ayrıca ilaç salım oranı yardımcı maddeler ile ilaç arasındaki iyonik etkileşimden kayanaklanabildiği gibi nanopartikül matriksi ile ilacın difüzyonuna ve çözünürlüğüne de bağlıdır.

Son yıllarda modern terapötik sistemler olarak da bilinen nanopartikül ilaç taşıyıcılar kontrollü ve yavaş salım yaparak ilacın yan etkilerini azaltabilirler. Düşük dozda farmakolojik etkinin sağlanması ve salınımın istenildiği gibi ayarlanması mümkün olmaktadır. (33)

Geleneksel veteriner ilaçların kullanımından ortaya çıkabilecek sorunları azaltmak için geliştirilen bu teknoloji hayvan sağlığını ön planda tutmaktadır. Bu bağlamda, etkin maddenin bölgesel veya sistemik olarak önceden belirlenecek dozaj formunda ve spesifik zaman aralığında uygun taşıyıcıya yüklenebilir. Ayrıca veteriner hekimlikte hayvanları bağlama, tutma ve dozajlama ile ilgili stresi gidermek ve tedavi masraflarını azaltmak oldukça önemlidir. (34)



Şekil 2. Nanoteknolojinin biyomedikal uygulama alanları (35)

4. Nano aşılar ve Nano adjuvanlar

Aşılar bağışıklık sisteminin olası hastalıklarına karşı savunmada ve antikor oluşturmada hastalık etkeninden, ürünlerinden veya üretilen antijeninden oluşturulan koruyucudurlar. Birçok bulaşıcı hastalıkların azaltılmasında, hayvan ve insan sağlığını korumada en etkili bir yol aşı uygulamalarıdır. Günümüzde gittikçe artan çeşitli hayvan hastalıklarının görülmesi ile yeni aşılara da gereksinim duyulmaktadır. Hayvanlar için bakteri ve virüsleri içeren aşılar, protein, peptid ve polisakkaritleri içeren alt birim aşılar, rekombinat

DNA teknolojisiyle üretilen aşılar olmak üzere farklı uygulama grupları vardır. (34,36)

Aşılarla karşılaşılan problemlerden biri bağışıklığın kısa süreli oluşudur. Bağışıklığın etkili ve uzun süreli; aşıların da güvenilir olabilmesi hususunda çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Nanoteknoloji ile üretilen aşılar hücresel ve humoral bağışıklığı arttırmasıyla gün geçtikçe önemli bir görev almaktadır. NP bazlı aşı uygulamaları etkili bir adjuvan ve erken bozulmalara karşı da iyi bir koruyucudur. Ayrıca güçlü immünojenisitesi olan bu nano ölçekteki aşılar canlıdır ve genetik/replikatif materyal içermezler. NP tabanlı aşı geliştirmede koruyuculuğu makisimum seviyelerde tutma, antijen salınımı ve aşının yarılanma ömrünü uzatma şansı elde edilebilir. (37)

İnorganik NP'ler, lipozomlar, emülsiyonlar, virüs benzeri partiküller gibi çeşitli maddelerden oluşan nanopartikül bazlı aşılar mevcuttur. Farelerde immün yetmezlik virüsü, influenza ve tüberküloz hastalıklarına karşı altın NP'ler kullanılarak verilen antijenler güçlü immün yanıt oluşturmuştur. (38) Toksik olmaması sebebiyle yaygın olarak kullanılan polimerik nanopartiküllerden kitosan Newcastle hastalığı aşısı için nanotaşıyıcıdır ayrıca *Mycobacterium tuberculosis* lipidleri ile birlikte güçlü hücresel ve humoral yanıtlar verdiği tepit edilmiştir. Poli (laktik-ko-Glikolik Asit) (PLGA) polimerleri aşı antijenlerini kapsüllemede güçlü ve güvenli adjuvanlardır. Hayvanlarda bağışıklık yanıtı etkinliğinin iyi olması ve antijenlerin enkapsülasyonunun kontrollü salım gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Çalışmalarda PLGA nanopartikülleri ile antijen yükünün arttırılması ve tek dozlu bir aşı tasarımı gibi yaklaşımlar bahsedilmektedir. (39,40)

Lipozomlar klinik uygulamalarında ilgi çekici malzemelerdir ve mantar enfeksiyonuna karşı yüksek immunite oluşturduğu belirlenmiştir. Toksoplazma aşılarının geliştirilmesinde fare modellerinde yapılan çalışmalarda lipozomlardan oluşturulan NP'ler *Toksoplazma gondii*'ye karşı etkili immün yanıt oluşturduğu bildirilmiştir. Nanoemülsiyonlar MF59TM influenza aşısında olduğu gibi antijen taşımada ve aşı geliştirmede iyi bir adjuvandır. Dendrimerlerin H1N1 influenza, Ebola virüslerine karşı T hücre yanıtının güçlü olduğu belirlenmiştir. (36-40)

Virüs benzeri partiküller de enfektivitesi ve genetik materyali olmayıp salgınlara karşı hızla tasarlanarak ticarileştirilmiş nanopartikül aşıların en önünde gelir. SARS-CoV-2 (Covid-19) salgınına karşı geliştirilen Pfizer/BioNTech ve Moderna mRNA aşılarındaki lipit NP'ler mRNA'yı kuşatarak RNaz aktivitesine karşı korur ve mRNA'nın daha kararlı olmasını sağlar. (41)

5. Sonuç

Günümüzde nanoteknolojinin hızla gelişmesi sağlık alanında birçok yeniliklerin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Kaliteli görüntüleme teknikleri, implant materyalleri, nano cerrahi, hasarlı dokunun iyileştirilmesi, yapay doku gibi birçok alanda nanoteknoloji hizmet etmektedir. Özellikle nanotıp ile teşhis ve tedavisi zor olan hastalıklarla mücadelede umut verici sonuçlar alınmaktadır. Ayrıca nanotekoloji ile erken teşhisin çok önemli olduğu başta kanser olmak üzere çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisi de mümkündür.

İlaç endüstrisinde ise nano ilaç taşıma sistemleri ve kontrollü ilaç salınımı başlıca yansımalardır. Konvansiyonel ilaçlardan kaynaklanan sıkıntıları giderebilmede bu sistemler etkileyici sonuçlar vermektedir. Veteriner sahada kullanılan bu nano formülasyonlar hayvan sağlığını ve terapötik yönden sinerjik olan insan sağlığını da olumlu etkiler. Nanopartiküler ilaç taşıyıcı sistemler etkin tedaviler sağladıkları için ticari olarak kullanımdadırlar fakat bu alandaki araştırmalar henüz gelişme aşamasındadır. Bu kapsamda, nano ilaç taşıma sistemleri farmakolojide ve biyomedikal uygulamalarda ileriye dönük beklentilere yanıt sağlayacak potansiyeli oluşturmada yeni çığır açacaktır.

Nanoteknolojinin tıp alanındaki kullanımı hastalık teşhisinden yeni aşı tasarımlarının oluşmasına kadar geniş yer kaplamaktadır. Geleneksel aşıların yanı sıra aşıların etkinliğini ve immünojenitesini arttırmaya yönelik çalışmalar nanoteknolojiyle hızla gelişmektedir. Yeni nano formülasyonlar immün sistemde uyarıcı molekülleri içererek antienfektif aktivite sergileyeceği düşünülmektedir. Hastalıkların tedavisinde COVID-19 pandemisi gibi salgınların önlenmesinde nanopartikül aşıların ihtiyacı karşılabileyecek bir strateji olacağı beklenilmektedir.

Kaynaklar

1. Borm PJ, Robbins D, Haubold S, et al. The potential risks of nanomaterials: a review carried out for ECETOC. Part. Fibre Toxicol. 2006;3(1):1-35.

2. Savithramma N, Rao ML, Rukmini K, Devi PS. Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by using medicinal plants. Int. J. Chemtech Res. 2011;3(3):1394-1402.

3. Kumar SK, Castro M, Saiter A, et al. Development of poly (isobutylene-co-isoprene)/reduced graphene oxide nanocomposites for barrier, dielectric and sensingapplications. Mater. Lett. 2013;96:109-112.

4. Parboosing R., Maguire GE, Govender P, et al. Nanotechnology and the treatment of HIV infection. Viruses. 2012;4(4):488-520.

5. Manikandan V, Velmurugan P, Park, JH, et al. Green synthesis of silver oxide nanoparticles and its antibacterial activity against dental pathogens. 3 Biotech, 2017;*7*(1):1-9.

6. Yousaf AS, Salamat A. Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us? J. Eng. Technol. 2008;5:11-20.

7. Asmatulu R, Misak H. Hands-on nanotechnology experience in the college of engineering at WSU: A curriculum development. J Nano Educ. 2011;3(1-2)13-23.

8. Manuja A, Kumar B, Singh RK. (2012). Nanotechnology developments: opportunities for animal health and production. Nanotechnol. Devel. 2012;2(1)4-14.

9. Cheng KM, Hung YW, Chen CC, Liu CC, Young JJ. Green synthesis of chondroitin sulfate-capped silver nanoparticles: Characterization and surface modification. Carbohydr. Polym. 2014;110:195-202.

10. Kheirollahpour M, Mehrabi M, Dounighi NM, Mohammadi M, Masoudi A. Nanoparticles and vaccine development. Pharm. Nanotechnol. 2020;8(1):6-21.

11 Wang Y, Huang L Composite nanoparticles for gene delivery. Adv. Genet. 2014;*88*:111-137.

12 Tai CY, Tai CT, Chang MH, Liu HS. Synthesis of magnesium hydroxide and oxide nanoparticles using a spinning disk reactor. Ind. Eng. Chem. Res. 2007;46(17):5536-5541.

13 Saallah S, Lenggoro IW. Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications. Kona Powder Part J. 2018;35: 89-111.

14 Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. Colloids Surf. B. 2010;75(1):1-18.

15 İnce ÖB, Kanat Ö. Şap Hastalığı. Etlik Vet. Mikrobiyol. Derg. 2015;26(2):45-51.

16 Tran TD, Caruthers SD, Hughes M, et al. Clinical applications of perfluorocarbon nanoparticles for molecular imaging and targeted therapeutics. Int. J. Nanomed. 2007;*2*(4):515.

17 Andrievsky GV, Bruskov VI, Tykhomyrov AA, Gudkov SV. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C60 fullerene nanostuctures in vitro and in vivo. Free Radic. Biol. Med. 2009;47(6):786-793.

18. Solanki R, Rostamabadi H, Patel S, Jafari SM. Anticancer nano-delivery systems based on bovine serum albumin nanoparticles: A critical review. Int. J. Biol. Macromol. 2021;193:528-540.

19. Mittal AK, Kumar S, Banerjee UC. Quercetin and gallic acid mediated synthesis of bimetallic (silver and selenium) nanoparticles and their antitumor and antimicrobial potential. J. Colloid Interface Sci. 2014;431: 194-199.

20. Arvizo RR, Bhattacharyya S, Kudgus RA, Giri K, Bhattacharya R, Mukherjee P. Intrinsic therapeutic applications of noble metal nanoparticles: past, present and future. Chem. Soc. Rev. 2012;41(7):2943-2970.

21. Gelperina S, Kisich K, Iseman MD, Heifets L. The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis. Am. J. Respir. Crit Care Med. 2005;172(12):1487-1490.

22. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles-a review. Trop. J. Pharm. Res. 2006;*5*(1):561-573.

23. Kumari A, Singla R, Guliani A, Yadav SK. Nanoencapsulation for drug delivery. Excli J. 2014;13:265.

24. Lee BK, Yun YH, Park K. Smart nanoparticles for drug delivery: Boundaries and opportunities. Chem. Eng. Sci. 2015;125, 158-164.

25. Mohantya N, Palaib T, Prustyc B, Mohapatrad J. An overview of nanomedicine in veterinary science. Vet Res. 2014;*2*(4):90-95.

26. Prabhu RH, Patravale VB, Joshi MD. Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights. Int. J. Nanomed. 2015;10:1001-1018.

27. Saleh TA. Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. Environ. Technol. Innov. 2020;20:1-16.

28. Zazo H, Colino CI, Lanao JM. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. J. Control Release. 2016;224:86-102.

29. Mody VV, Siwale R, Singh A, Mody HR. Introduction to metallic nanoparticles. J. Pharm. Bioallied Sci. 2010;2(4):282–289.

30. Bai C, Tang M. Toxicological study of metal and metal oxide nanoparticles in zebrafish. J Appl Toxicol. 2020;*40*(1):37-63.

31. Mason TG, Wilking JN, Meleson K, Chang CB, Graves SM. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. J. Phys. Condens. Matter. 2006;18(41):635-666.

32. Dizaj SM, Mennati A, Jafari S, Khezri K, Adibkia K. Antimicrobial activity of carbon-based nanoparticles. Adv. Pharm. Bull. 2015;*5*(1): 19-23.

33. Rothen-Weinhold A, Gurny R, Dahn M. Formulation and technology aspects of conrolled drug delivery in animals. Pharm. Sci. Technol. Today. 2000;*3*(7):222-231.

34. Siepmann J, Siegel RA, Rathbone MJ. Fundamentals and applications of controlled release drug delivery. New York: Springer; 2012:33-34.

35. Ahlawat J, Hooda R, Sharma M, Kalra V, Rana JS, Batra B. Nanoparticles in biomedical applications. In Green Nanoparticles. Springer; 2020;227-250.

36. Kim SH, Samal S. Newcastle disease virus as a vaccine vector for development of human and veterinary vaccines. Viruses. 2016;8(7):183-198.

37. Keller S, Wilson JT, Patilea GI, Kern HB, Convertine AJ, Stayton PS. Neutral polymer micelle carriers with pH-responsive, endosome-releasing activity modulate antigen trafficking to enhance CD8(+) T cell responses. J Control Release. 2014;191:24-33.

38. Xu L, Liu Y, Chen Z, et al. Surface-engineered gold nanorods: promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment. Nano Lett. 2012;12(4):2003-2012.

39. Das I, Padhi A, Mukherjee S, Dash DP, Kar S, Sonawane A. Biocompatible chitosan nanoparticles as an efficient delivery vehicle for Mycobacterium tuberculosis lipids to induce potent cytokines and antibody response through activation of γδ T cells in mice. Nanotechnology. 2017;28(16):165101

40. Dönmez E, Dolgun HTY, Kırkan Ş. Nanopartiküler Aşılar. J. Anatol. Environ. Animal Sci. 2021;6(4):578-584.

41. Heegaard PM, Dedieu L, Johnson N, et al. Adjuvants and delivery systems in veterinary vaccinology: current state and future developments. Arch. Virol. 2011;156(2):183-202.

BÖLÜM X

KÖPEKLERDE ÖSTRUSUN TESPİTİ, UYARILMASI VE BASKILANMASI

The Detection, Stimulation and Suppression of Estrus in Dogs

Tutku Can ACISU

(Arş. Gör. Dr.), Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama AD, Elazığ, Türkiye
e-mail: tcacisu@firat.edu.tr
ORCID: 0000-0002-0882-937X

1. Giriş

Dişi hayvanlarda üreme, seksüel sikluslara göre belirlenmektedir. Türe özgü seksüel siklus dönemlerinin özelliklerinin bilinmesi ve tespit edilmesi, hayvanların uygun zamanlarda çiftleştirilmesi veya suni tohumlama yapılmasına olanak tanıyarak istenilen gebeliklerin oluşmasını ve yavruların elde edilmesini sağlayacaktır. Bununla birlikte birçok reprodüktif probleme de çözüm olacaktır. Köpeklerde östrusun tespiti ve uyarılması çiftlik hayvanlarında olduğu gibi kolay ve pratik olamamaktadır. Bu nedenle köpeklerde üreme fizyolojisinin daha ayrıntılı bilinmesi gerekmektedir.

2. Köpeklerde Seksüel Siklus

Köpekler seksüel siklus yönünden monoöstrik hayvanlardır ve her siklus döneminde çiftleşme olsun veya olmasın sadece bir östrus görülür. Mevsimin östrusa gelme yönünden bir etkisi yoktur. Yılın her döneminde östrus gözlemlenebilirken, kış sonlarından ilkbahar sonlarına kadar östrusların yoğunlaşması söz konusudur. İki östrus arasında geçen süre ırklar arasında ve aynı ırkın içinde bile oldukça değişkenlik gösterebilir. Seksüel siklusları bakımından diğer türlerden birçok yönüyle farklı olan köpeklerde, proöstrus

ve östrusun uzun olması ve bu zaman içerisinde yer olan ovulasyon zamanının önceden bilinememesi en büyük farklılıktır. (1-4)

Köpeklerde puberta ilk proöstrusun başlamasıyla karakterizedir ve genellikle 6 ile 24. aylar arasında görülür. Pubertaya erişme yaşı başta ırk ve cüsse farkı olmak üzere birçok faktör tarafından etkilenir. Küçük cüsseli ırklar ilk seksüel sikluslarını 6-10. aylarda gösterirken, bu süre büyük cüsseli ırklarda 18-24. aya kadar uzayabilir. (3, 4)

Diğer türlerde olduğu gibi köpeklerde de ilerleyen yaşlarda üreme yeteneği azalmaktadır. Ancak çoğu köpek, hayatının sonuna kadar östrus siklusu gösterebilir. Sekiz yaşın üzerindeki köpeklerde düzenli bir östrus siklusu gerçekleşmeyebilir. Bu hayvanlarda, yavru mortalitesi artabilir, fekondasyon ve fertilite oranı azalabilir. (4)

3. Köpeklerde Seksüel Siklusun Hormonal Mekanizması

Proöstrusa 2-3 hafta kala hipofiz ön lobundan salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH) düzeyi gittikçe artmaya başlar. Salgılanan FSH ovaryumlar üzerinde foliküllerin gelişmesini sağlar. Ortalama her ovaryumda 4-5 adet folikül gelişir. Gelişen foliküllerden östrojen salgılanır ve kan östrojen seviyesi yükselir. Proöstrusun sonuna kadar östrojen seviyesi yükselirken progesteron seviyesi oldukça düşüktür. (2, 4, 5)

Proöstrusun sonlarında östrojen seviyesinin oldukça artması inhibin aracılığıyla FSH salgılanmasını baskılarken luteinleştirici hormon (LH) salgısını başlatır. LH, köpeklerde foliküler luteinizasyonu sağlayarak östrusta progesteron salgılanmasına neden olur. (4, 6)

Östrusta diğer hayvanlardan farklı olarak köpeklerde progesteronun kan seviyesi hızla artarken, östrojenin seviyesinin hızla düştüğü görülür. Bu nedenle östrus belirtileri progesteron etkisi altında şekillenir. Yapılan çalışmalarda progesteronun östrusun şekillenmesinde önemli yer tuttuğu belirtilmiştir. (4)

Köpeklerde ovulasyonlar LH pik salınımını takip eden 48-72 saat içerisinde gerçekleşir. LH salgısı ovulasyon sonrası düşmeye başlar. Bu sırada östrojen seviyesi de sürekli olarak azalmaktadır. Ovulasyon sonrası yine LH etkisiyle corpus luteum şekillenerek progesteron salgılanmaya başlar. Corpus luteum ovulasyondan sonra gebelik olsun veya olmasın 50-70. güne kadar progesteron salgılamaya devam eder. (4, 5)

Corpus luteumların gelişmesi ile daha da artış gösteren progesteron miktarı LH piki sonrası 15-30. günlerde en yüksek değeri olan 15-80 ng/ml ye

ulaşır, 100-120. günden sonra ise bazal seviyesi olan 0,3-0,4 ng/ml ye düşer. (2, 4)

Köpeklerde anöstrus döneminde progesteron seviyesi 1 ng/ml den daha düşüktür. Progesteron seviyesindeki bu uzun süreli düşme corpus luteumun yapısal küçülmesi ile paralellik gösterir ve köpek östrus siklusunun tipik özelliğidir. (2)

Köpeklerde gebe olmayan uterusun önemli bir luteolitik etkisi görülmez ve endojen prostaglandin F2 alfa (PGF2α) sentezi ve rolü tam olarak açıklanamamaktadır. Bu durum uterusun luteolitik faktör üretmediği, bu faktörlerin uterustan ovaryumlara geçişinin olmadığı ya da uterus tarafından antiluteolitik faktörler üretilerek luteolizisin engellendiği şeklinde yorumlanmaktadır. (4) Aynı zamanda köpeklerde mevcut corpus luteum, diöstrusun 25. gününden önce dışarıdan verilen PGF2α'ya karşı duyarsız ancak 25. günden sonra dışarıdan PGF2α verilmesine ise hassastır. Bu durum istenmeyen gebeliklerde geç abort yaptırmak için kullanılabilir ancak bazı önemli yan etkilerin şekillenebildiği bildirilmektedir. (4)

FSH düzeyi geç anöstrus dönemi boyunca yükselir. Östrojen düzeyi anöstrusun başlangıç ve ortalarında oldukça düşüktür. Proöstrusa bir ay kala östrojen hormonunun FSH artışına paralel olarak kademeli bir şekilde arttığı görülür. (5)

Köpeklerde siklusun yıl içerisindeki şekillenme zamanın belirlenmesinde prolaktinin kan düzeyi oldukça önemlidir. Prolaktin düzeyindeki azalma anöstrusun başlamasında etkin bir rol oynar. (2, 4)

4. Köpeklerde Östrus Siklusunun Safhaları

4.1. Proöstrus

Proöstrus, vulvada ilk kanlı akıntının görülmesinden hayvanın çiftleşmeyi kabul etmesine kadar geçen süredir ve ortalama 9 gün (2-22) sürer. Köpekler için proöstrus seksüel aktivitenin başlama periyodudur. Pratik olarak köpeklerde proöstrus; vulvada şişkinlik ve proöstrus kanaması olarak tanımlanan vulvadan kanlı bir akıntının geldiğinin görülmesi ile başlar. Kanlı akıntının görüldüğü ilk gün proöstrusun ilk günü olarak kabul edilir. (3, 4)

Proöstrus kanaması, artan östrojen etkisi ile endometriyumdaki subepitelial kapillar damardaki kanamaya bağlı olarak şekillenir. Köpeklerin vulvalarını yalamaları nedeniyle bazen görülmeyebilir. Fakat vagina içinde kanlı akıntı bu süreç içerisinde bulunur. Proöstrus dönemi sırasında köpekler huzursuz ve

iştahsızdır, su içme isteğinde artış vardır ve sık sık idrar yaparlar. Bu dönem içerisinde erkek köpekler için çekici olmalarına rağmen henüz çiftleşmeyi kabul etmezler. (1, 2)

Proöstrustaki bir köpekte bazı seksüel reflekslerin ortaya çıktığı görülmektedir. Vulvanın her iki tarafındaki ya da hemen üst kısmındaki deriye dokunulması veya hafifçe vurulması sonucu hayvanın vulvasını açıp kapattığı, arka bacaklarını içe doğru bükerek çömeldiği ve kuyruğunu sağa sola doğru salladığı gözlenebilir. (4)

Proöstrus sırasında uterus, normalin iki katı büyüklüğe ulaşmış olup kan damarları çok belirginleşmiştir. Endometriyum ödemli, uterus bezleri ise hipertrofiye olmuştur. Foliküler gelişme, östrojen, FSH ve LH' da artış, sonlara doğru progesteronda artış görülür. (1, 2)

4.2. Östrus

Östrus, dişi köpeğin çiftleşmeyi kabul etmesi ile başlar ve ortalama 9 (6-12) gün sürer. Proöstrusta görülen davranış değişiklikleri daha da ilerlemiştir. Köpek sık sık havlayıp inler. Kuyruğunu yana atıp arkasına dönerek vulvasını yalar. Proöstrus döneminde görülen kanlı akıntı saman rengindeki bir akıntıya dönüşür. Vulva yumuşar ve lumbal basınca ayaklarını gererek cevap verir. Dişi köpekler evden ayrılarak dışarı çıkmak isterler ve çiftleşmek için aktif olarak erkeği ararlar. Feromon salgısı bu dönemde en yüksek seviyededir. Köpeklerde özellikle östrusun gözlemsel olarak tespit edilmesi zordur. (4)

Köpeklerde ovulasyonlar spontan olarak genellikle östrusun başlamasından sonraki 2 ile 4. günler arasında şekillenmeye başlar. Östrojen düzeyi düşerken LH ve progesteron düzeyi artar. Tüm foliküller İlk ovulasyonu takip eden 48 saat içerisinde ovule olur. Ovulasyonla atılan ovum köpeklerde primer oosit halindedir. Bunlar ovulasyondan sonraki 48-72 saat içerisinde sekonder oosite dönüşerek olgunlaşırlar. Olgunlaşma süreci tamamlanıncaya kadar fertilizasyon şekillenmez. (3)

4.3. Diöstrus

Östrus bitiminden anöstrusa kadar geçen süre diöstrus olarak adlandırılır. Bu dönem ortalama 65 (55-90) gün kadar sürer. Köpeklerde metöstrus dönemi yoktur. Ovulasyonların östrus içinde olması ve corpus luteumun da östrus içinde şekillenmeye başlamasından dolayı metöstrus, östrus içinde başlayıp biten bir dönem olarak kabul edilir. Östrusu takip eden bu dönem dişi köpeğin hala erkek

için çekici olmasına rağmen, çiftleşmeye kabul etmemesi ile başlar. Diöstrusun başlarında hafif sümüksü akıntı görülür ancak ilerleyen sürelerde akıntı kesilir. (2)

Ovulasyonların tamamlanmasından sonraki 15 ile 25. günler arasında corpus luteumlar tamamen gelişir. Bu gelişme sırasında Prolaktin ve LH' ın etkin bir rolü vardır. Corpus luteum büyüklükleri 4-6 mm çapına ulaşır. Bu dönemde vaginal kat ince ve düz olup vaginal kornifikasyon kaybolmuştur. Vulva tekrar eski haline dönerek küçülmüştür. (3)

Köpeklerde gebeliğin devamı ovaryum kaynaklı progesteron hormonuna bağlıdır. Corpus luteumun gebelik sırasında regrese olması (yıkımlanması) abort ile sonuçlanır. (2)

4.4. Anöstrus

Diösturusu biten ya da gebeliğini tamamlayıp doğum yapan dişi köpekler herhangi bir belirti göstermeden anöstrus dönemine girerler. Bu safha, seksüel dinlenme periyodudur. Anöstrusun uzunluğu farklılık göstermekle birlikte ortalama 180 (170-122) gündür. Bu süre ırka ve bireye göre oldukça değişkenlik gösterebilir. FSH nispeten anöstrus boyunca yüksektir. LH konsantrasyonları östrojenden sonra geç dönemde artar. (4)

5. Köpeklerde Östrusun Tespiti

5.1. Anamnez

Köpek sahiplerinden veya bakıcılarından iyi bir şekilde alınmış anamnez, köpeğin seksüel siklus evrelerinin tanısında önemli katkılar sağlar. Bu amaçla köpekte kanlı vaginal akıntının veya çiftleşme arzusunun başlama tarihi öncelikle öğrenilmesi gereken hususlardır. Aynı zamanda köpeğin yaşı, seksüel sikluslarının düzeni, önceki siklus kanamasının ne zaman olduğu ve kaç gün sürdüğü, siklusların kontrolü yönünde bir program uygulanıp uygulanmadığı, yaptığı doğum sayısı, son doğurduğu tarih, doğumun şekli, postpartum bir hastalık geçirip geçirmediği öğrenilmelidir. (7)

5.2. Fizyolojik Belirtiler

Siklusun proöstrus evresinde vulvadan kanlı-seröz karakterli bir akıntı gelir. Bu akıntının miktarı değişkendir ve bazen köpeklerin yalaması nedeniyle fark edilmeyebilir. Ayrıca bazı genital organ tümörlerinde ve ovaryum kistlerinde de kanlı vaginal akıntı şekillendiğinden; bu bulgu, tek başına siklus teşhisi için

yeterli değildir. Bu evrede köpekler gittikçe fazlalaşan ve belirginleşen cinsel semptomlar gösterirler. Köpeklerin davranışı değişir, huzursuzdurlar. Dıştan bakıldığında vulva ödemli ve hiperemiktir. Sık idrar yapma gibi belirtiler olmasına rağmen çiftleşmeye izin vermezler. (4, 7)

Östrus dönemine girmiş köpekler erkek köpeklerin yanında iken onlara ilgi gösterirler ve çiftleşmeye izin verirler. Vulva veya perineuma dokunulduğunda kuyruğunu yana doğru çeker. Bu dönemde vulva dudakları daha fazla ödemli olup kanlı vajinal akıntı yerine pembemsi veya renksiz mukuslu ve proöstrusa göre daha az miktarda bir akıntı geldiği görülür. (4)

Diöstrus dönemindeki köpeklerde plazma progesteron konsantrasyonunda artış olduğundan dolayı vulva ödeminde hızla bir gerileme olur. Bu sürede çok az miktarda temiz müköz bir akıntı görülebilir. (7)

Anöstrus evresindeki köpeklerde vulva ödemi tamamen kaybolmuş, vaginal akıntı kesilmiştir. Köpekler iyi bir kondisyon gösterirler. (4, 7)

5.3. Vaginal İnspeksiyon

Köpeklerde hormonal etkilere bağlı olarak vagina duvarında meydana gelen değişimleri bir spekulum veya vaginoskop ile izlemek suretiyle siklus evrelerini teşhis etmek mümkündür. Bu amaçla incelenen dişide vaginoskopik muayene düzenli ve kısa aralıklarla yinelenmelidir. (7)

Proöstrus evresinde plazma östrojen seviyesinin yükselmesine bağlı olarak vaginal mukozada kıvrımlar ve ödem şekillenir. Mukoza pembe-griden kirli beyaza kadar açık renkli ve nemlidir. Serviksin vaginaya bakan ağız kısmı genişlemiştir. (3)

Östrus sırasında plazma östrojen düzeyi azalıp progesteron düzeyi yükseldiğinden mukoza kıvrımları buruşuk bir hal alır ve ödem geriler. Köpeklerde çiftleştirme veya tohumlama işlemleri buruşmanın başlangıcını izleyen 4. günden itibaren yapılmalıdır. (7)

Diöstrus evresinde vajinal mukozadaki kıvrımlar ve buruşukluk kaybolur, mukoza kırmızı-pembe-eflatun gibi renkler alır ve metöstürüsü yansıtan tipik beyaz bölgeler izlenir. (3)

Anöstrusta ise mukoza kırmızı renkli olup kuru ve düzgün görünümdedir. (3, 7)

5.4. Vaginal Sitoloji

Östrus siklusunun evrelerinin saptanmasında özellikle köpek ve kedilerde vaginal sitolojiden sıklıkla yararlanılır. Kullanılan bu yöntem nispeten basit,

ucuz, acı vermeyen ve kolay uygulanabilir olması açısından pratiktir. Vaginal smear örnekleri swab, spatula, platin veya tel öze, pipet ve aspirasyon teknikleri kullanılarak alınır. Günümüzde yaygın olarak steril swab tercih edilmektedir. Bu amaçla kullanılacak swab ile örnek alınmadan önce steril serum fizyolojik ile nemlendirilmiş olmalıdır. Froti hazırlamak için bir elle veya bir spekulum yardımıyla vulva dudakları açılarak swabın pamuklu ucu vulva dudakları arasından dorsale doğru 45 derecelik bir açı ile vaginaya kadar sokulur ve daha sonra horizontal olarak vaginanın üst duvarından omurga boyunca pelvisin tabanına ulaşıncaya kadar vaginada ilerletilir. Bu noktada swab kendi çevresinde 2-3 kez tam olarak döndürülüp geri çekilir. Geri çekilen swabın pamuklu ucu bir lam üzerine bir uçtan diğer uca doğru döndürülerek sürülür. Bu işlem sırasında kuvvetli basınç uygulanmamalı ve pamuk lama sürttürülmemelidir. Aksi halde elde edilen sonuç teşhiste yardımcı olmaz. Hücrelerin zarar görmesini önlemek amacıyla hazırlanan ve havada kurutulan preparatlar bir iki defa %95-100›lük metil alkole batırılarak fiksasyonu sağlanır. Hazırlanan frotiler; Giemsa, Diff Quick gibi boyaların kullanıldığı çeşitli yöntemlerle boyanarak incelemeye alınır. Hazırlanan vaginal smear preparatları mikroskop altında değerlendirilerek hücre karnifikasyonunun derecesi tespit edilir. Hücrelerdeki temel değişiklikler kandaki östradiol düzeyleri değişimlerini yansıtmaktadır. (8-11)

5.4.1. Karnifikasyon

Piknotik çekirdekli ya da çekirdeksiz superficial hücrelerin diğer hücrelere oranının %80 ve daha fazla olmasıdır. Karnifikasyonun derecesi seksüel siklus evrelerini yansıtır ve vaginal smearda maksimum karnifikasyonun tespit edilmesi tohumlama ya da çiftleştirme zamanı gösterir. Bu dönemde çekirdeksiz hücreler sahaya hâkimdir. (4)

Vaginal sitoloji de rastlanan belli başlı hücre tipleri ve bunların özellikleri şunlardır;

Parabazal Hücreler: Vaginal hücrelerin en sağlıklı ve en küçük (10-20µ) olanlarıdır. Genellikle yuvarlak veya oval bir yapıya sahiptirler. Vaginal hücreler içerisinde en büyük çekirdeğe sahip olan hücrelerdir ve çekirdek yuvarlaktır. Hücre çekirdeği çok az miktarda sitoplazma içerir. (8)

İntermedier Hücreler: Vaginal hücreler içerisinde orta büyüklüğe sahip olan (20-30µ) hücrelerdir. Bununla birlikte büyüklükleri farklılık gösterebilir. İntermedier hücreler parabazal hücrelerde bulunanlardan daha küçük bir çekirdeğe sahiptirler. Bu hücrelerin genel yapısı daha oval ve geniştir. Kenarları ise düzensiz bir yapı gösterebilir. Kendi aralarında küçük ve büyük intermedier

hücreler olarak ikiye ayrılırlar. Küçük intermedier hücrelerin köşeleri daha yuvarlaklaşmıştır, büyük intermedier hücreler ise daha geniş ve çekirdeklidir. (10, 11)

Superficial Hücreler: Vaginal hücreler içerisinde en büyük (30-75µ) hacme sahip olan hücrelerdir. Bu hücreler geniş ve köşeli bir yapı gösterirler. Hücre çekirdeği ise piknotik yapılıdır. Diğer bir ifade ile hücre çekirdeği büzüşük küçülmüş, kromatin kitlesi yoğunlaşmıştır. Bunların birçoğunda çekirdek olmayabilir. (8)

Eritrositler ve Lökositler: Bu kan hücrelerinin seksüel siklusun belirli dönemlerinde ortaya çıkması da östrus tespiti açısından önem taşır. Eritrositlere genellikle proöstrusun sonunda ve östrusun başlangıcında rastlanmaktadır. Lökositlere ise östrusun sonunda az miktarda rastlanırken, erken diöstrus sırasında ise daha çok görülür. Bununla birlikte her iki hücrede anöstrus döneminde hazırlanan frotilerde bulunmamaktadır. (2, 8)

5.4.2. Vaginal Sitoloji ile Östrus Dönemlerinin Tespiti

5.4.2.1. Proöstrus

Köpeklerde proöstrusta östrojen artışını izleyen 3-4 gün içerisinde vagina mukozasında karnifikasyon şekillenmeye başlar. Proöstrusun ilk yarısı, her tipten hücrenin karışımı ile karakterizedir. Bu dönemde tüm hücre tiplerine rastlanabilir. Ancak parabazal ve intermedier hücreler superficial hücrelere göre daha fazla miktardadır. Az sayıda nötrofil ve eritrosit bulunabilir. Proöstrusun ikinci yarısında eritrosit miktarı önemli bir artış gösterirken lökositler görülmez. Superficial hücre sayısı gittikçe artar. Proöstrusun sonlarına doğru parabazal ve intermedier hücrelerinin sayısı iyice azalmıştır. (2, 8)

5.4.2.2. Östrus

Proöstrusun sonu ile östrusun başlangıç dönemleri vaginal sitoloji yönünden pek ayırt edilemez. Östrus süresince vaginal smearda piknotik ve çekirdeksiz superficial hücre sayısı çok yüksektir. Bunlar östrusta gözlenen tipik hücrelerdir. Maksimum karnifikasyon zamanında bu hücrelerin sahadaki oranı %90'ı bulur. Bu dönem tohumlama için en uygun zamandır. Östrusun ilk yarısında eritrositler görülürken son yarısında az sayıda da olsa lökosit görülebilir. (4, 9)

5.4.2.3. Diöstrus

Parabazal ve intermedier hücreler daha yoğun olarak görülür. Erken dönemde az sayıda superficial hücre bulunabilir. İlerleyen dönemde bunlar

neredeyse hiç yoktur. Bu dönemin başlaması ile birlikte lökosit sayısının arttığı ve yoğun olarak görülmeye başlandığı tespit edilebilir. Bununla birlikte lökosit sayısı 5-7 gün sonra giderek azalır. (4, 9)

5.4.2.4. Anöstrus

Hücre populasyonu azalmıştır. Az sayıda parabazal ve intermedier hücreler ile birlikte lökositler görülebilir. (4)

5.5. Hormonal Muayene

Köpeklerde siklik aktiviteler hipotalamus tarafından kontrol edilmektedir. Östrus siklusu, ön hipofiz bezinin merkez rol üstlendiği, reprodüktif kanal ve hipotalamusun karşılıklı etkileşimi ile şekillenen olgular bütünüdür. Bu nedenle dişi köpeklerde östrus tespitinde hormon ölçümü önemli bir yardımcı tekniktir. (4)

5.5.1. Progesteron Düzeyi

Köpeklerde progesteron değerleri diğer hayvanlara göre önemli bir farklılık göstermektedir. Bu türde östrojen düzeyi proöstrusta yüksek seviyede iken östrusun başlarında düşmeye başlar. Progesteron düzeyi ise proöstrusun sonunda artmaya başlayarak östrusun ortalarında yükselmeye devam eder. Köpeklerde östrus devresi progesteron hormonunun etkisi altında şekillenir. Özellikle ovulasyonların şekillendiği günlerde progesteron düzeyi 4-10 ng/ml düzeyindedir. Bu dönem tohumlamalar içinde en uygun zaman olarak kabul edilir. Bu bulgudan yola çıkarak yapılan pratik progesteron testleri ile kan progesteron düzeyi takip edilerek en uygun tohumlama zamanı tespit edilebilir. (5, 8)

Tablo 1: Östrus Siklusunun Farklı Dönemlerindeki Serum Progesteron Konsantrasyonları. (12)

Reprodüktif Dönem	Serum Progesteron Konsantrasyonu (ng/ml)
Anöstrus	0,6±0,1
Proöstrus	1,7±0,3
Östrus	<2
Ovulasyon	4-10
Gebelik	>5
Doğum	1,1±0,2

5.5.2. Östrojen Düzeyi

Proöstrustaki bir dişi köpekte hakim olan hormon östrojendir. Bu dönemde östrojen gelişmekte olan ovaryum foliküllerinden sentezlenir ve salınır. Bu nedenle dolaşımda artan östrojen konsantrasyonu proöstrus ve östrus başlangıcının diğer bir deyişle foliküler aktivitenin varlığının bir göstergesidir. (4)

Tablo 2: Östrus Siklusunun Farklı Dönemlerindeki Serum Östradiol Konsantrasyonları. (12)

Reprodüktif Dönem	Serum Östradiol-17 β Konsantrasyonu (pg/ml)
Proöstrus	58±7
Östrus	69±11
Diöstrus	23±7
Anöstrus	20-46

5.5.3. Luteinleştirici Hormon (LH) Düzeyi

LH'ın progesteron salınımında direkt bir rolü yoktur. Ancak özellikle geç luteal evrede prolaktin konsantrasyonunun artmasında etkilidir. Bu nedenle LH'ın prolaktin salınımında bir medyatör görevi üstlenerek köpeklerde luteal fonksiyonun düzenlenmesinde indirekt bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak LH pikinin sadece 1-2 saat sürmesi nedeniyle proöstrus sürecinde her gün veya gün aşırı alınacak en az iki kan numunesi gerekmektedir. Bu durum fazla maliyet ve zaman kaybına yol açtığı için pratik yöntemlerde LH ölçümü çok fazla yer bulamamaktadır. Ayrıca Türkiye dâhil birçok ülkede ticari LH kiti bulunmamaktadır. (2, 5)

Tablo 3: Östrus Siklusunun Farklı Dönemlerindeki Serum LH Konsantrasyonları. (12)

Reprodüktif Dönem	Serum LH Konsantrasyonu
Proöstrus	2,8±0,1
Östrus	36±10
Diöstrus	4,2±1,1
Anöstrus	2,8±0,3
Geç Anöstrus	21-156
Gebelik	3±0,2

5.5.4. Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) Düzeyi

Proöstrusun başlangıcından önceki 2-3 hafta boyunca ön hipofizden artan frekanslarla FSH salınımı devam eder. FSH ovaryum folikülünün gelişmesinde rol oynayarak östrojen salınımını kontrol eder. Ancak aynı folikül olgunlaştığında progesteron da salınacağı için FSH'ın progesteron salınımında endirekt etkili olduğu söylenebilir. Klinik kullanımı yaygın olmamakla beraber ovaryum fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla serum FSH konsantrasyondan faydalanabilir. (2, 8)

Tablo 4: Östrus Siklusunun Farklı Dönemlerindeki Serum FSH Konsantrasyonları. (12)

Reprodüktif Dönem	Serum FSH Konsantrasyonu
Proöstrus	59±9
Östrus	168±37
Diöstrus	108±19
Gebelik	197-255
Anöstrus	—
Geç Anöstrus	240-294

5.5.5. Testosteron Düzeyi

Sağlıklı bir dişi köpekte proöstrus dönemi boyunca serum testosteron konsantrasyonu artış gösterir. Testosteron, preovulatör LH pikine ve dişinin davranışsal olarak erkeği kabul etmesine yakın dönemde maksimum seviyeye ulaşır. Bunun ardından da belirgin bir düşüş yaşar. (12)

5.6. Ultrasonografik Muayene

Köpeklerde ovaryumların küçüklüğü ve çoğunlukla yağ doku ile çevrili olmaları nedeniyle ultrasonda belirlenmesi ve üzerindeki yapıların tespiti güçtür. Bununla birlikte deneyimli hekimler tarafından kızgınlık sırasında foliküller ve corpus luteumlar dolayısıyla ovaryum üzerindeki değişiklikler görüntülenebilmektedir. Tekrarlayan ve dikkatli muayenelerde Graaf folikülünün görülmesi mümkündür. Ultrasonografide foliküller anekojenik formda görülür. Anekojenik boşluk boyutu proöstrus sırasında artar ve çapı proöstrus ortasında 2-3 mm, geç proöstrusta yaklaşık 5 mm ve ovulasyon günü ile LH dalgası günü arasında en fazla 7-10 mm çapa ulaşır. Ovaryumlardaki anekojenik yapıların yokluğu ya da bu yapıların çapının küçülmesi ovulasyon olduğunu gösterir. (13)

5.7. Vaginal Akıntının Elektrik Direncinin Ölçülmesi

Köpeklerde seksüel siklusun değişik evrelerinde vaginal akıntının elektrik direnci dolaşımdaki hormon konsantrasyonlarının etkisine bağlı olarak değişmektedir. Bu yöntemde vaginal akıntının elektrik direnci Ohmmetre ile ölçülmektedir. Proöstrusun başlangıcında vaginal akıntının elektrik direnci yaklaşık 100 ohm iken östrusta bu rakam 900-1000 ohm gibi yüksek bir değere ulaşmaktadır. Diöstruse girildiğinde 500-710 ohm ve anöstrus döneminde ise yaklaşık 70 ohm düzeyinde ölçülmektedir. (7)

5.8. Vaginal Akıntının Glukoz İçeriğinin Ölçülmesi

Köpeklerde vaginal akıntıdaki glukoz varlığını özel test çubukları ile araştırmak suretiyle seksüel siklus evrelerini ve özellikle en uygun tohumlama zamanını tespit etmek mümkündür. Vaginal akıntıda glukoz varlığı, test çubuklarının vaginada tutularak çubuğun uç kısmında meydana gelecek renk değişimine göre saptanmaktadır. Çubuğun uç kısmı glukoz var iken yeşil, glukoz yok iken sarı renk alır. En uygun çiftleştirme veya tohumlama zamanı glukoz testi negatif olduğu zamandır. Ancak bazı köpeklerde tüm östrus boyunca pozitif reaksiyon belirlenmesi ve vaginal akıntının kanla bulaşık olduğu durumlarda bulguları olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle bu yöntemin pratikte kullanımı söz konusu değildir. (7)

5.9. Vaginal Mukusun Kristalizasyonu

Köpeklerde siklus evrelerinin tetkikinde ve en uygun tohumlama zamanının saptanmasında vaginal mukusun kristalizasyon yöntemi başarıyla uygulanmaktadır. Çünkü vaginal mukus, siklusun seyri esnasında karakteristik değişiklikler gösterir. Östrojenin hâkim olduğu devrede bir lam üzerine bir damla vaginal mukus alınıp kurutulduktan sonra mikroskop altında incelenecek olursa, belirgin olarak eğrelti otu manzarasında kristalleşme görülür. Burada östrojen etkisi altında NaCI mukus içerisinde kristalleşir. Eğrelti otu manzarası ise müsinden ileri gelir. Ovulasyondan sonra progestatif evreye girildiğinde kristalleşme kaybolur. Vaginal mukusun kristalizasyonu testi, östrojen seviyesinin düşük olması sebebiyle anöstrus evresinde de pozitif değildir. (7)

6. Köpeklerde Östrusun Uyarılması

Köpeklerde iki östrus arasında oldukça uzun süren bir anöstrus dönemi bulunmaktadır. Köpeklerde östrusun uyarılması iki östrus arasındaki sürenin

kısaltılması veya uzayan anöstrus döneminin sonlandırılması amacıyla yapılır. Bu amaçla özellikle östrojen, FSH, Gebe Kısrak Serum Gonadotropini (PMSG), İnsan Koriyonik Gonadotropini (HCG) ve GnRH hormonları uygulanabilir. Uygulanan hormon preparatları ya hipotalamus-hipofiz-gonad iletişimini etkilemekte ya da doğrudan gonadlar üzerinde etkili olmaktadır. (5)

6.1. GnRH

Köpeklerde östrusun GnRH ile uyarılabilmesi için bu hormonun pulsatif veya sürekli bir şekilde uygulanması gerekmektedir. Östrusun uyarılmasında GnRH kullanımının etkinliğinin araştırıldığı çalışmalardan elde edilen fertilite sonuçları yüksek olmasına rağmen, uygulanan GnRH hormonunun uygulama şeklinin pratik olmadığı görülmektedir. Yöntemin diğer bir dezavantajı ise oldukça yüksek bir maliyet gerektirmesidir. Bu sebeple implant şeklindeki GnRH agonistlerinin uygulanması daha uygundur. Bu amaçla Deslorelin içeren implantlar, köpeklerde 7-14 gün süreyle östrus gözlenene kadar uygulanır. Çifleşme veya suni tohumlama sonrası bu implantlar mutlaka çıkarılmalıdır. Aksi takdirde aborta yol açabilmektedir.(4-6)

6.2. PMSG + HCG

Günümüzde başarısı sınırlı olsa da köpeklerde östrusun uyarılması amacıyla yaygın olarak PMSG ile birlikte HCG hormonu kullanılmaktadır. Uygulamanın yapılabilmesi için köpeklerin anöstrus döneminde olduğunun vaginal sitoloji ile kesin olarak belirlenmesi ve bir önceki östrusun ardından ortalama 160-170 günlük bir sürenin geçmiş olması (geç anöstrus) gerekmektedir. Bu amaçla, dişi köpeklere PMSG hormonu 7 gün süreyle 20 IU/kg/ gün şeklinde uygulanır. Uygulamanın son günü 500 IU HCG uygulanarak ovulasyonlar uyarılır. Uygulama süresinin kısa olması nedeniyle PMSG yöntemi tavsiye edilmekle birlikte bu yöntemin dezavantajı, gebelik oranının düşük olması, ovulasyon zamanının belirlenememesi ve oluşan gebeliklerin corpus luteumun yetersizliği nedeniyle son bulabilmesidir. (2, 4, 6)

6.3. FSH + LH

Dişi köpeklerde anöstrus sonlarına doğru LH ve FSH seviyesi önemli düzeyde artış gösterir. Anöstrusun sonlanması ve seksüel aktivitenin yeniden başlaması, bu iki hormon tarafından sağlanır. Bu yüzden FSH ve LH'ın birlikte uygulanması ile östrus uyarılabilir. Uygulama yöntemi PMSG + HCG yöntemine benzemekle birlikte pratikteki uygulanabilirliği güçtür. (4)

6.4. Dopamin Agonistleri

Dopamin agonistleri antiprolaktinerjik etki gösteren ergotine alkoloid türevleri olup hipofiz ön bezindeki laktotrop hücrelerin D2-Dopamin reseptörlerini etkileyerek onları bloke ederler. Dopamin agonistlerinin anöstrus süresince verilmesi plazma prolaktin konsantrasyonunu azaltarak anöstrus süresini kısaltır. (2, 4)

Bromocriptine ve Cabergoline, köpeklerde en yaygın kullanılan dopamin agonistleridir. Prolaktin hormonu köpeklerde luteal fazın ikinci yarısı süresince ihtiyaç duyulan luteotropik bir hormondur. Bu yüzden antiprolaktinler, luteal fonksiyonu baskılamak için kullanılabilirler. Sonuç olarak prolaktin inhibitörleri ile yapılan uygulamalar, ya luteal regresyonu hızlandırarak ya da anöstrus periyodunu kısaltarak etki gösterirler. (4)

Cabergoline'in diğer dopamin agonistlerine göre daha az yan etki göstermesi sebebiyle östrusu uyarmaya yönelik araştırmalarda kullanılmış ve anöstrus döneminde etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan araştırmalar, erken (90-120 gün), orta (120-160 gün) ve geç (160-190 gün) anöstrus döneminde bulunan köpeklere proöstrus dönemine kadar kas içi yolla günlük 5 ug/kg dozunda Cabergoline uygulandığında proöstrusa gelme süresinin önemli ölçüde kısaldığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan plazma prolaktin seviyesi; Cabergoline uygulaması öncesi yüksek bulunurken, uygulama sonrası önemli ölçüde düşüş göstermektedir. Cabergoline gibi Bromocriptine'in de anöstrus döneminde uygulanması sonrasında 28 gün içinde uygulama yapılan hayvanların %80'inde proöstrusun başladığı tespit edilmiştir. (2, 4, 6)

6.5. Östrojen

Köpeklerde 2-3 gün aralıklar ile küçük dozlar halinde östrojen (17-β-östradiol veya Dietilstilbestrole - DES) uygulamalarının proöstrusun başlamasında etkili olduğu bildirilmiş olmasına rağmen elde edilen fertilite oranları hakkında bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca östrojenlerin yan etkilerinden dolayı günümüzde hayvan sağlığı açısından yapılmamaktadır. (4)

7. Köpeklerde Östrusun Baskılanması

Köpeklerde östrusun baskılanması amacıyla cerrahi yöntemlerden veya hormonal uygulamalardan yararlanılabilmektedir.

7.1. Cerrahi Yöntemler

Köpeklerde östrusun kalıcı olarak engellenmesi ovariektomi ya da ovariohisterektomi operasyonları ile sağlanabilir. Bu uygulamaların canlı ağırlık artışından başka istenilmeyen herhangi bir yan etkisi yoktur. Ancak operasyonun yapılması için ideal yaşın 6-8 ay olduğu belirtilmektedir. (14)

7.2. Hormon Uygulamaları

Köpeklerde östrusun baskılanması amacıyla, Melengesterol asetat (MGA), Medroksiprogesteron asetat (MPA), Proligeston (PR), Delmadinon asetat (DMA) gibi progesteron analogları ile Testosteron propiyonat, Miboleron, Metil testosteron gibi bir takım androjenler kullanılabilmektedir. (4)

Progesteronun sentetik analoglarına, köpeklerde östrusu ertelemek (anöstrus döneminde uygulamaya başlanması ile) ya da östrusu baskılamak için (proöstrus başladıktan sonra uygulamaya başlanması ile) sıklıkla başvurulmaktadır. Tüm bu kimyasal maddelerin; iştah ve kilo artışı, aşırı susama, fiziksel hareketlilikte düşüş ve enjeksiyon yerinde lokal deri reaksiyonları gibi bazı yan etkileri vardır. (2, 4)

7.2.1. Progesteron Analogları

7.2.1.1. Melengesterol asetat (MGA)

Östrusun ertelenmesi amacıyla 2,5 mg/kg/hafta dozda 18 ay boyunca oral olarak verilebilir. Başlayan östrusun baskılanması için ise oral olarak 5 mg dozda 3 gün süre ile verilmesinin ardından uygulamaya 2,5 mg/hafta dozda 10 hafta boyunca uygulanarak devam edilmelidir. (4, 15)

7.2.1.2. Medroksiprogesteron asetat (MPA)

Östrusun ertelenmesi amacıyla her 5 ayda bir 2 mg/kg dozda kas içi olarak verilebilir. (15)

7.2.1.3. Proligeston (PR)

Östrusun ertelenmesi amacıyla 10-30 mg/kg dozda deri altı olarak uygulanır. İlk uygulama anöstrus döneminde yapıldıktan sonra sırasıyla 3. ay, bunu takiben 4.ay, sonraki uygulamalar ise 5 ay aralıklarla sürdürülebilir. (4, 15)

7.2.1.4. Delmadinon asetat (DMA)

Östrusun engellenmesi amacıyla her 6 ayda bir deri altı enjeksiyon yoluyla ya da haftada bir kez oral olarak uygulanabilir. Başlamış bir östrusu baskılaması

için ise 6 gün süre ile günde bir kez oral yolla ya da deri altı olarak verilebilir. (2, 4)

7.2.2. Androjen Analogları

Androjenler, köpeklerde östrusun kontrollerinde başarılı bir şekilde kullanılabilirler. Dişilerde androjenlerin üreme sistemi üzerindeki temel etkileri, negatif feedback mekanizma ile hipofiz ön lobundan gonadotropinlerin salgılanmasını azaltmak suretiyle ovaryum aktivitelerinin baskılanmasını sağlamalarıdır. (2, 4)

7.2.2.1. Testosteron propiyonat

Haftada 1 kez 100 mg dozda kas içi yolla uygulanması östrusu baskılamaktadır. (2, 4)

7.2.2.2. Miboleron

Günlük oral dozu 12 kg canlı ağırlığa kadar 30 µg/kg, 13-23 kg canlı ağırlık için 60 µg/kg, 45 kg üzerindeki canlı ağırlıklar için ise 180 µg/kg'dır. Uygulamaya 24 ay devam edilebilir. Östrus, uygulamanın bitiminden 200 gün sonrasına kadar şekillenebilir. Miboleron'un oral olarak kullanımına, beklenen proöstrustan 30 gün önce başlanmalıdır. (2, 4)

7.2.2.3. Metil testosteron

Haftada 2 kez 25-50 mg oral olarak ya da 1 mg/kg derialtı implant şeklinde uygulanması östrusu baskılamaktadır. (4)

8. Sonuç

Kısraklarda ve ineklerde; kızgınlık teşhisi yapmak, gebelik tanısı koymak ve seksüel siklusun dönemini araştırmak gibi değişik sebeplerle rektal palpasyon ile üreme organlarının muayenesi yapılabilirken köpeklerde bu pek mümkün değildir.

Köpekler inekler gibi yıl boyu poliöstrik hayvanlar olmadığı için östrusun görüldüğü dönemde çiftleşme olmazsa veya suni tohumlama yapılmazsa siklus bitimiyle anöstrusa girer ve bir sonraki östrus siklusuna kadar östrus göstermez.

Östrusun uyarılması için inek, koyun, keçi ve kısraklarda çeşitli östrus senkronizasyonları yapılabilirken köpeklerde sadece hormonal uygulamalar ve dopamin agonistleri kullanılır.

Köpekler kedilerde olduğu gibi mevsimsel poliöstrik siklusa sahip olmadıkları için östrus siklusları kediler kadar uzun sürmez. Ayrıca kedilerde çiftleşme olup olmamasına, çiftleşmeye bağlı ovulasyon olup olmamasına, fertilizasyon olup olmamasına ve gebelik durumlarına göre farklı ihtimallerin olması ve bu ihtimallere göre tekrar tekrar östrus belirtileri gösterebilmelerine karşın köpeklerde yine böyle bir durum söz konusu değildir.

Tüm bu sebeplerden ötürü; köpeklerde seksüel siklus fizyolojisini iyi bilmek, östrusun tespitini doğru yapmak ve bu sayede uygun zamanda çiftleşmeyi sağlamak veya suni tohumlama yapmak elzemdir.

Kaynakça

1. Alaçam E. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama, Doğum ve İnfertilite. 1. Baskı. Türkiye: Dizgievi; 1994.

2. Demirci E. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Türkiye: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Teksiri No:53; 2002.

3. Kalkan C, Horoz H. Pubertas ve seksüel sikluslar. Alaçam E, editor. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Türkiye: Medisan Yayınevi; 2007: 33-40.

4. Sönmez M. Veteriner Hekimlikte Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Türkiye: Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Ders Teksiri; 2022.

5. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. 1.Baskı. Türkiye: Feryal Matbaacılık; 1999.

6. Anadol E. Dişi köpeklerde reprodüktif olguların tanısında kullanılan hormonlar. Erciyes Üniv Vet Fak Derg. 2006; 3(1): 67-71.

7. Kırşan İ. Köpeklerde seksüel siklus evrelerini saptama yöntemleri. İ.V.H.O Derg. 2000; 2(2): 21-24.

8. Alaçam E. Köpek ve Kedilerde Üreme Süreci ve Sorunları. Türkiye: Medisan Yayınevi; 2008.

9. Kırşan İ, Şenünver A, Kılıçarslan R. Dişi köpekte vaginal sitolojik muayeneler yardımı ile seksüel siklus dönemlerinin teşhisi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg. 1996; 2: 173-177.

10. Oruç E, Tuzcu M. Vajinal sitoloji. Oruç E, Tuzcu M. editör(ler). Veteriner Sitoloji. 1. Baskı. Türkiye: Netkopya Print Center; 2009: 136-143.

11. Post K. Canine vaginal cytology during the estrous cycle. Can Vet J. 1985; 26(3): 101-104.

12. Feldman EC, Nelson RW. Canine female reproduction. Feldman EC, Nelson RW. editör(ler). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 2.ed. USA: WB Saunders; 1996: 525-671.

13. Bursa Uludağ Üniversitesi Açık Erişim Sistemi. https://acikerisim.uludag.edu.tr/handle/11452/3949. Erişim tarihi 1 Aralık, 2022.

14. Kustritz MVR. Early spay and neuter. Managing Canine Reproduction, Veterinary Learning Systems. 1998; 29-31.

15. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H. Veterinary Reproduction and Obstetrics (Theriogenology). 6. ed. England: Bailliere Tindall; 1992.

BÖLÜM XI

KEDİ VE KÖPEKLERDE SEZARYEN OPERASYONU

Cesarean Section in Cat and Dog

Damla Tuğçe OKUR

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi,
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Erzurum,
Türkiye, damla.tugce.okur@gmail.com
ORCID: 0000-0003-2733-2155

1. GİRİŞ

Sezaryen operasyonu, doğumdan önce, doğum sırasında ya da gebeliğin herhangi bir döneminde, annede hayati tehlike oluşturmadan yavru veya yavruların uterustan çıkartılmasıdır (1,2). Elektif veya acil sezaryen, güç doğumun önlenmesinde veya tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir cerrahi girişimdir (3). Sezaryen, yaygın bir cerrahi prosedür olmakla birlikte hem annede hem de yavrularda önemli mortalite oranına sahiptir. Yavruların hayatta kalması için sezaryen operasyonunun zamanlaması son derece önemlidir. Doğum, doğumun ikinci aşamasının başlamasından sonra 24 saatten fazla gecikirse, genellikle plasental ayrılma nedeniyle yavrularda ölüm ve annede zehirlenme meydana gelebilir. Acil sezaryen operasyonları, güç doğum tanısı konulduktan sonra kısa bir süre içeresinde yapılmalıdır. İdeal olarak, yenidoğan/anne bağının gelişmesine ve yenidoğanların anne tarafından sahiplenilmesine izin vermek için, annenin operasyon sonrası mümkün olan en kısa sürede tamamen uyanık olması gerekir. Anestezi ve cerrahi protokoller düşünüldüğünde bu nokta oldukça kritiktir (4).

Bir annenin sezaryen operasyonuna alınmasının çeşitli nedenleri vardır. En önemlilerinden biri doğumla ilgili komplikasyonlardan kaynaklanmaktadır. Doğumdaki komplikasyonlar, annenin veya yavruların sağlığını tehdit eden

ve birçok nedene bağlı oluşabilen komplikasyonları kapsar. En yaygın doğum komplikasyonlardan bazıları şunlardır;

Güç doğum: Yaygın olarak engellenmiş doğum olarak bilinir ve yavru doğum kanalından çıkamaz. Genellikle fetüsün pozisyonundan kaynaklanır (5).

Uterus rupturu: Uterusta şekillenen bir yırtılma veya şişkinliktir ve vajinal doğumun gerçekleşememesine engel olur. Bu durum genellikle primipar hayvanlarda gözlemlenen bir komplikasyon olarak karşımıza çıkar (6).

Sistemik hastalıklar: Annenin obezite veya tiroid disfonksiyonu gibi altta yatan sistemik bir hastalık nedeniyle vajinal doğum gerçekleşemeyebilir, bu durum kedilere nazaran köpeklerde daha sık gözlemlenir (7).

Enfeksiyon: Anne gebelik döneminde herhangi bir enfeksiyonel (viral, bakteriyel veya fungal) hastalığa maruz kalır ise sezaryene ihtiyaç duyma olasılığını artırabilir ve anne ile yavruların sağlığına ciddi şekilde riske atabilir. Enfeksiyon belirtileri, doğum sırasında kan, mukus veya diğer akıntıların varlığı ile tespit edilebilir (5).

Irk: Annenin sahip olduğu ırk sezaryen olasılığını arttırabilir. Genellikle köpeklerde brakiosefalik ırklarda, gebelik kaynaklı kardiyopulmoner sistem üzerindeki baskı artacağından vajinal doğum komplikasyon oranının artmasına neden olabilir (5).

Anatomi: Kedi ve köpeklerd pelvik kanalın yapısı, pelvisin boyutu ve şekli vajinal doğuma engel olabilir ve dolayısıyla sezaryen operasyonu ihtimalini arttırır. Örneğin İskoç Terrierleri dorsoventral olarak düzleşmiş bir pelvik kanala sahip olduklarından güç doğum riski yüksektir (8).

Sezaryen operasyonunun endikasyonları;

• Fetal stres sonucu kalp atımının dakikada 170'in altına düşmesi; sağlıklı bir fetüsun fetal kalp atım değeri köpeklerde dakikada 200 iken, kedilerde 282'dir.

• Doğum kanalında oluşabilecek vajinal ödem, yara, hematom, neoplazi, pelvis kırıkları ve serviks veya vulvanın stenozu olgularında,

• Fetal anomaliler, fetüsün prezentasyon, pozisyon veya postür bozuklukları, absolut ve relatif yavru büyüklükleri, fetal sıvıların yetersizliği veya fazlalığı olgularında,

• Medikal uygulamalara cevap vermeyen olgular, annenin zehirlenmesi ve bazı sistemik hastalıklarda,

• Primer ve sekonder uterus tembellikleri, uterus rupturu ve torsiyo uteri olgularında,

• Periatrik, geriatrik veya ilk defa doğum yapan anneler ve özellikle brakiosefalik ırklarda,

• Uterusta çok fazla sayıda yavru bulunan olgularda ve geçmişinde güç doğum hikayesi bulunan hayvanlarda,

• Uterusta ölü veya çürümüş yavru ya da uterus frajilitesine bağlı endotoksemi ve septisemi olgularında hayvanlarda sezaryen operasyonları gerçekleştirilebilir (9,10).

2. Gebelikte Meydana Gelen Fizyolojik Değişiklikler

Gebelik döneminde annenin gastrointestinal, nörolojik, üriner, kardiovasküler ve respiratorik sistemlerinde fizyolojik değişiklikler meydana gelebilir. Gebelik sırasında vasküler direnç ve ekspiratorik rezerv kapasitesi azalırken, annenin kan hacmi (%40) ve kardiak output artar. Ayrıca solunum sayısı, tidal volüm, alveolar ventilasyon ve inspiratorik rezerv kapasitesi de artar (Tablo 1) (11-13).

2.1. Respiratorik Değişiklikler

Gebelik döneminde artan progesteron seviyesi solunum merkezinin arteriyel karbondioksite karşı duyarlı hale gelmesine neden olur. Doğum sırasında annede meydana gelen ağrı ve endişeye bağlı olarak ventilasyon artar (13). Progesteron bronşlardaki düz kaslarda gevşemeye neden olmakla birlikte hava iletiminde artışa, pulmoner rezistansta ise azalmaya neden olur. Gebelik sırasında uterus ile abdominal organların diyaframa yaptığı basınç ve uterusta oluşan kontraksiyonlar sonucu pulmoner akım artar ve rezidüel kapasite azalır (14). Azalan rezidüel kapasite ise hipoksi ve hiperkapni oluşumuna neden olur (13). Fetüs, uterus kasları, plasenta ve meme dokusunun gelişmesiyle birlikte oksijen tüketimi artar ve hipoksemi şekillenir. Bu nedenle operasyon sırasında hipoksinin önlenmesi için oksijen takviyesi oldukça önemlidir (15).

Artan progesteron ve endorfinler hayvanda anestezik doz ihtiyacının azalmasına neden olur. Buna bağlı olarak gebe hayvanlarda inhalasyon anestezisinde kullanılan maddeler gebe olmayanlara göre daha hızlı bir indüksiyon sağlar. Bu süre, normal bir hastanın indüksiyon sürecinden yaklaşık 1/4- 1/5 kadar daha azdır (13,15).

2.2. Gastrointestinal Değişiklikler

Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte uterus hacmi giderek artar. Artan uterus hacmi mideye baskı yaparak midenin yer değiştirmesine neden olur. Ayrıca

gebelik boyunca yüksek konsantrasyonda olan progesteron da mide içeriğinin geç boşalmasına neden olduğu için, gastrointestinal sorunlar bu dönemde sıklıkla ortaya çıkabilir.

Gastrik içerikte var olan asit, klorür ve enzim miktarları gebelik sırasındaki hormonal değişimlere bağlı olarak artar. Alt özofageal sfinkter tonusu azalır ve intragastrik basınç artar. Ağrı ve endişe halinde gastrik motilite azalır. Tüm bunlara bağlı olarak doğum anında regurgitasyon ve aspirasyon pnömonisi şekillenebilir (13,15).

Gebelik sırasında artan gastrik asit ve azalan gastrik kas tonusu nedeniyle, metaklopramid ve H_2 reseptör antagonisti ilaçlar (simetidin, ranitidin veya famotidin), preanestezik protokolünün bir parçası olarak uygulanabilir (13).

2.3. Hepatik ve Renal Değişiklikler

Gebelik döneminde hepatik fonksiyonlarda önemli derecede değişiklikler gözlenmez. Plazma ve glomerülar filtrasyon normale kıyasla %60 artabilir. Buna bağlı olarak kandaki üre, nitrojen ve kreatin konsantrasyonları düşük seyrederken su ve sodyum dengesinde herhangi bir değişiklik gözlenmez (13).

2.4. Uterus Kan Akımında Değişiklikler

Fetal, neonatal yaşam ve maternal homeostaz için uteroplasental dolaşımın sürdürülmesi önemlidir. Plasental perfüzyon, uteroplasental perfüzyon basıncına bağlıdır. Obstetrik anestezi sırasında uterusa giden kan akımının azalmasına bağlı olarak fetal viabilite olumsuz etkilenebilir (14).

2.5. Kardiovasküler Değişiklikler

Artan plazma östrojen seviyesi periferal vasküler rezistansı azaltırken, sistolik ve diastolik basınç değişmez. Bu durum kardiak outputun artmasına neden olur. Gebelikte kan hacmi, plazma miktarındaki artışa bağlı olarak ortalama %40 artabilir. Bu nedenle de gebelik süresince hemoglobin ve hematokrit değerleri düşük seyreder. Azalan plazma protein miktarına bağlı olarak da anestezik maddelerin proteinlere bağlanma oranı düşer (13). Kalp frekansının artması ve aynı zamanda uterus kontraksiyonları ile uterustaki kanın dolaşıma karışması kardiak output riski arttırır (16).

Tablo 1. Gebelik sırasında meydana gelen fizyolojik değişiklikler (11,13)

Dolaşım Sistemi	**Solunum Sistemi**	**Sinir Sistemi**	**Gastrointestinal Sistem**	**Anatomik Değişiklikler**	**Üriner Sistem**
Kardiak output artışı	Akciğerlerin işlevsel kapasitesindeki artış	Progestereon ve β- endorfin salınımı nedeniyle sedatif etki	Mide boşalmasında gecikme	Abdominal genişleme	Renal plazma akışında artış
Kan hacminde artış	Total akciğer kapasitesindeki artış		Özofageal sfinkter tonusunda azalma	İntraabdominal basınç artışı	Glomerülar filtrasyonda artış
Oksijen tüketiminde artış	Oksijen ihtiyacındaki artış, dakikadaki ventilasyon sayısında artış		Gastrin salınımında artış	Vücut kitle indeksinde artış	Üre nitrojen ve kreatinin azalması

2.6. Gebeliğe Bağlı Farmakolojik Değişiklikler

Fizyolojik değişikliklere bağlı olarak, anestezik maddelerin vücuda girişi, dağılımı ve atılımı değişmektedir. Plazmada dolaşan serbest anestezik madde konsantrasyonu, vücuttan eliminasyonuna, proteine bağlanabilme oranına, maternal dokuda dağılımına, plasentadan transferine, vücuttan atılımına ve fetüste dağılımına göre değişmektedir (13). Evcil hayvanlarda gebelik sırasında anestezik maddelerinin emilimi, yayılımı, biyotransformasyonu ve salınım oranları hakkında literatürel bilgi oldukça kısıtlıdır (15,17).

Genellikle anestezik maddeler düşük moleküler ağırlığa, yüksek yağda eriyebilirliğe ve düşük plazma iyonizasyona sahip olduklarından rahatlıkla plasentayı geçebilmektedirler (15,18). Anestezik maddelerin plasentaya geçişi, ilacın özelliğine ve plasenta tipine bağlı olmakla birlikte genellikle basit difüzyonla gerçekleşir (13,17). Anestezik maddelerin plasentadan yavruya geçişi ve atılımı üzerinde; fiziko-kimyasal özellikleri, plasenta türü ve plasenta – fetüs arasındaki sirkülasyon etkilidir (15).

Uygulanan anestezik maddeler fetüsü direkt ya da anne üzerinden dolaylı olarak etkiler (15). Umbilikal vende bulunan kanın büyük çoğunluğu yavrunun karaciğerine gider ve burada metabolize olur, kalan kısmı ise duktus venosusdan vena cavaya geçer. Böylelikle anestezik madde temiz kanla seyreltilir. Bu sayede umbilikal vende var olan anestezik maddenin beyin ve kalp gibi hedef organlara direkt geçişi engellenmiş olur (17).

3. Sezaryen Operasyonunda Hastanın Anesteziye Hazırlanması

Bir sezaryen operasyonu için ideal anestezi protokolü; anne ve fetüs üzerinde hayati bir risk oluşturmadan, operasyon şartlarını yerine getirebilecek düzeyde kas gevşemesi, sedasyon, analjezi ve bilinçsizlik oluşturmayı kapsar (13,15,17).

Fizikokimyasal yapıları nedeniyle anestezikler, analjezikler, sedatifler ve tranklizanlar kan-beyin bariyerini geçebilir. Kan-beyin bariyerini geçebilen anestezik maddeler ise plasental bariyeri de kolayca geçerek fetüse etki ederler. Anestezik maddelerinin neden olduğu depresyon ve mortalite riski, anne ve yavruda eşit düzeyde olduğundan (15), yavru üzerinde etki oluşturmadan sadece anneyi anesteziye alabilecek bir protokol yoktur (11,13,15). Fakat depresyon ve mortalite riskini azaltmak için birkaç seçenek vardır. Bunlar;

• Lokal anestezi tekniği kullanmak,

• Anneye uygulanan anestezi protokolünde gereken dozun 1/4 ile 1/8'i oranı kadar anestezik madde kullanmak,

• Kısa sürede indüksiyon ve uyanma sağlayan ilaçlar (Propofol) kullanmak,

• Uyanma sürecini kolaylaştırmak amacıyla kullanılan anestezik maddelerden antagonisti olanlarını tercih etmek,

• Hastanın inhalasyon aracılığıyla uygulanan voletil anestezik maddelerine maruz kalma süresini minimuma indirmektir (11).

Sezaryen operasyonu için anestezi protokolü seçerken;

• Anne ve fetüsün güvenliği ve konforuna,

• Veteriner hekimin anestezi tekniğine olan tecrübesine,

• Gebelikle ortaya çıkan fizyolojik değişikliklere,

• Seçilen anestezik ilaçların farmakolojisi ve bunların yeni doğan üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkilerine,

• Anestezi tekniğinin avantaj ve dezavantajlarının bilinmesi gibi unsurlara dikkat edilmelidir (13).

Sezaryen operasyonu sonrası anne ve yavrunun sağlıklı olması, en önemli başarı göstergelerinden birisidir. Sezaryen operasyonu aşamasına gelen hastalarda çoğunlukla hipotansiyon, hipoglisemi, hipokalsemi, asit-baz dengesizliği ve dehidrasyon gözlemlenebilir. Preoperatif dönemde annenin sağlık durumunu belirleyebilmek için mutlaka hemotokrit, plazma protein düzeyi, serum üre, kalsiyum, glikoz ve idrar özgül ağırlığı konsantrasyonları değerlendirilmeli, olası anormal durumlar stabil hale getirilmelidir (12).

Genel anestezi sırasında yavruda oluşabilecek hipoksi ve mortalite riskini azaltmak için operasyon sırasında oksijen desteğinin %50 ve üzerinde olması gerekir (13). Vazodilatasyon ve hipotansiyonu kontrol altında tutmak için anestezi sırasında sıvı takviyesi gereklidir (18). Ayrıca yavru köpeklere sürfaktan desteği için intravenöz (IV) olarak deksametazon takviyesi yapılabilir (19).

4. Perioperatif Dönemde Dikkat Edilmesi Gereken Unsurlar

Annenin sağlığını korumak başarılı bir sezaryen operasyonun en önemli adımıdır. Bu amaçla; fizyolojik stabilizasyon, operasyona hazırlık ve anestezi aşamalarının tümünde özenli olunması gerekmektedir. Genellikle sezaryen operasyonuna karar verilirken anne streslidir. Buna bağlı olarak da yorgunluk, hipotansiyon, hipoglisemi, hipokalsemi, asit-baz dengesizliği ve dehidrasyon durumları şekillenebilir. Bu nedenle, preoperatif dönemde hematokrit, idrar özgül

ağırlığı, serum üre, glikoz kalsiyum ve total plazma protein konsantrasyonları değerlendirilmelidir (12).

Sezaryen operasyonlarının %58'i acil olarak yapılmaktadır. Güç doğum gelişen hastalarda dehidrasyon, hipovolemi, hipotansiyon, yorgunluk, hipotermi, toksemi, hipoksi, kanama ve şok durumu gözlemlenebilir. Bu nedenle acil olarak yapılan sezaryen operasyonlarında, annenin ve yavruların ölüm riski artar (18).

Elektif sezaryen güç doğum riski olan hastalara (örneğin, buldog ırkı köpekler) istenebilir. Yenidoğanların solunum sisteminin yetersiz gelişmesi nedeniyle mortalite oranı yüksektir. Bu nedenle, elektif sezaryen mümkün olduğunca doğru zamanda yapılması gerekir. Elektif sezaryene karar verilirken yavruların yaşama oranlarını arttırmak için gebelik süresi doğru hesaplanmalıdır. Köpeklerde ovulasyon öncesi lüteinize edici hormon dalgalanmasından doğuma kadar geçen süre 63 ± 1 gün olduğundan gebelik süresi hesaplanırken yanılma oranları düşüktür (20). Bununla birlikte, gebelik aralığı 57 ila 72 gün arasında değişebildiğinden, çiftleşme tarihlerinin kullanılması güvenilir bir yöntem değildir. Doğumdan önceki 24 saat içinde 2 ng/ml'nin altına düşmesi gereken serum progesteron düzeyinin ölçülmesiyle (21) veya erken gebelikte gebelik kesesinin veya geç gebelikte parietal çapın transabdominal ultrasonografik ölçümleriyle de doğum zamanı belirlenebilir (22). Ayrıca azalan progesteron seviyelerine bağlı olarak (23) vücut sıcaklığında kademeli olarak düşme gerçekleşir. Doğumdan önceki 24 saat içinde vücut sıcaklığında 37,8 °C'nin altına düşmesiyle de doğumun başladığı tespit edilebilinir (21).

Uterusa ve fetüse giden kan akışının azalmasına neden olabilecek heyecanı ve potansiyel katekolamin salınımını en aza indirmek için anneye sakin ve sessiz bir şekilde yaklaşılmalıdır (24). Aksi halde stres veya ağrı hızlı kardiyak dekompansasyona neden olabilir. Perioperatif dönemde anneye IV sıvı tedavisine ve ilaçların uygulanmasına izin vermek için bir IV kateter yerleştirilmelidir. Elektrolit, asit-baz, kalsiyum veya glikoz seviyelerindeki anormalliklerin düzeltilmesi operasyondan önce yapılması gerekir (3).

İndüksiyondan önce operasyon hattının tıraş edilmesi, indüksiyondan doğuma kadar geçen süreyi kısaltır (4). İndüksiyondan doğuma kadar geçen süreyi azaltmak için ayrıca, cerrahi aletlerin anesteziyi başlatmadan önce hazırlanması önerilir (11). Anestezi indüksiyonundan 10 ile 15 dakika önce anneye maske veya nazal tüp ile oksijen desteğinin yapılması entübasyon ve anestezi indüksiyonu/devamı sırasında hipoksi riskini azaltır. Ayrıca yenidoğanlarda yüzey aktif madde üretimini de geliştirir (4).

Özellikle elektif sezaryenlerde ameliyattan 2 ile 8 saat önce metilprednizolon gibi kısa etkili bir kortikosteroidin IV enjeksiyonu progesteron düşüşünü uyararak şok gelişimini önler. Ayrıca yenidoğanlarda yüzey aktif madde üretimini uyararak operasyonun başarı oranını önemli ölçüde artırır (4).

Anestezi indüksiyonu ve idamesi, anestezinin takibi, ameliyat için hazırlık ve yenidoğan resüsitasyonunda yardımcı olacak yeterli destek personeli mevcut olmalıdır. Yenidoğan resüsitasyon için ayrı bir alan ve gerekli ekipman önceden hazırlanmalı ve yenidoğanları canlandırmak için personele özel roller verilmelidir. İdeal olarak, doğum sırasında yenidoğan resüsitasyona yardımcı olmak için yavru başına bir kişi bulunmalıdır (3).

5. Sezaryen Operasyonunda Kullanılan Anestezik Maddelerin Etkileri

Sezaryen operasyonunda uygulanan anestezide ana hedef, fetal solunum, merkezi sinir sistemi ve kardiyovasküler depresyonu en aza indirmek ve canlı, güçlü yavrular doğurmak için anestezik ilaçların fetal etkilerini minimalize etmektir. Anneye yeterli analjezi sağlamak ve hem anne hem de yavrularda morbidite ve mortaliteyi artıracak hipotansiyon, hipoventilasyon, hipoksemi, kanama ve hipotermi gibi anesteziye bağlı komplikasyonları önlemek oldukça önemlidir (4). Uzun süre müdahale edilmemiş güç doğumlar maternal fizyolojik tehlikeye neden olur ve azalmış plasental perfüzyon, hipoksemi ve asidoz nedeniyle fetal depresyon ile sonuçlanır. Elektif sezaryenle karşılaştırıldığında acil sezaryen sırasında anne ve yavru ölümleri önemli ölçüde artar (25). Hem elektif hem de acil sezaryenlerde yavru mortalitesi için zamanlama ve hazırlık son derece önemlidir. Anne ve yavrunun sağlığı için annenin fizyolojik değişikliklerinin ve anestezik maddelerin potansiyel etkisinin tam olarak anlaşılması esastır (4).

6. Operasyon Prosedürü

- Uygun anestezi prosedürünün uygulanması,
- **Antibiyotik kullanımı:** Geniş spektrumlu bir sefalosporin kullanılarak indüksiyondan önce bir kerelik preoperatif IV antibiyotik enjeksiyonu uygulanabilir. Ancak, özellikle dişinin genel durumunda herhangi bir anormallik ve uterus enfeksiyonunun olmadığı elektif sezaryen için genellikle gerekli değildir. Florokinolonlar yenidoğan gelişimi ve büyümesi üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı asla kullanılmamalıdır.

• **Ensizyon hattının belirlenmesi:** Operasyon median hattan veya fossa paralumbalisden yapılabilinir. Median ensizyon hattı, umbilikal skarın hemen kranialinden pubis kemiğine kadardır. Lateral ensizyon hattı, son kosta ile tuber koksanın tam orta noktasıdır. Ensizyon hattı belirlendikten sonra deri ensizyonunun ardından subkutan doku ve abdominal kaslar ensize edilir.

• **Uterusun abdomenden çıkarılması:** Oldukça genişlemiş uterus son derece frajildir ve önemli bir yırtılma riski taşır. Uterus nazikçe manipüle edilmelidir. Ovayum pediküllerinin gevşemesini sağlamak ve uterusun dışarı alınmasını kolaylaştırmak için ovaryum asıcı bağlarına 0.5 ila 2 ml lidokain uygulanabilir. Bu işlem aynı zamanda pediküllerdeki traksiyonla ilişkili postoperatif ağrıyı önemli ölçüde azaltır. Ayrıca, ovaryum pediküllerinin traksiyonu vagal refleksi indükleyerek hipotansiyon ve bradikardiye yol açabildiğinden lidokain böyle bir refleksi önlemeye yardımcı olur.

• **Yavruların çıkarılması:** Yavruları uterustan uzaklaştırmak için korpus uterinin ventral duvarı ensize edilerek tüm yavrular plasentalarıyla beraber çıkarılır. Bazı durumlarda kornu uteri üzerinde ikinci bir ensizyon yapmak gerekebilir. Tüm yavruların çıkarıldıktan sonra emin olmak için iki kornu uteri palpe edilerek kontol edilir.

• **Uterus ve karın boşluğunun kapatılması:** Uterus kapatılmadan önce ensizyon hattındaki yavru suları temizlenir. Uterustaki ensizyon hattı 3/0 veya 4/0 emilebilir iplikle, Cushing veya Lambert dikiş yöntemleri kullanarak kapatılır. Uterus involüsyonun uyarılması ve kanamaların önlenmesi için 5-10 IU dozunda oksitosin intramuskular (IM) yolla verilebilir (2,4,12).

7. Yenidoğanlarada Resültasyon Adımları

• Doğumdan sonra, plasental membranlar yenidoğanın vücudundan özellikler ağız ve burun bölgelerinden uzaklaştırılmalıdır (3).

• Bir şırınga veya aspiratör yardımıyla burun ve ağız aspire edilerek orofarenks solunum salgılarından arındırılmalıdır. Yavruyu aşağı doğru hafifçe sallamak, ayrıca sıvıyı merkezkaç kuvvetiyle çıkarmak daha önceden uygulanan bir teknik olmasına rağmen intrakraniyal kanama da dahil olmak üzere meydana gelebilecek önemli komplikasyonlar nedeniyle evrensel olarak uygun olarak kabul edilmemektedir (26).

• Göğüs kafesine yapılan masaj sadece plasenta sıvılarını çıkarmak için değil, aynı zamanda spontan solunumu uyarmak için de uygulanmalıdır (13).

• Yenidoğanlar genellikle doğumdan sonra hipoksemiktir ve bu klinik olarak fetal bradikardi ile kanıtlanmıştır. Reanimasyon sırasında yavulara maske ile oksijen desteği sağlandıktan sonra yavruları bir oksijen kabinine yerleştirilmelidir (3).

• Yenidoğanların yüksek yüzey alanı/vücut ağırlığı oranı ve zayıf gelişmiş termoregülatuar mekanizmaları nedeniyle hipotermiye karşı çok duyarlıdırlar (13). Bu nedenle yavrular hemen ılık, kuru bir havluyla kurutulmalı ve ısı kaynağının altına yerleştirilmelidir.

• Yavrunun göbek kordonu vücut duvarından yaklaşık 2 cm uzakta klemplenmelidir (3).

• Doxapram reanimasyon aşamasında yavruların dil altına enjekte edilerek yavruların solunum merkezinin doğrudan uyarılmasına neden olur (3).

7.1. Neonatal Resüsitasyon için Ekipman Kontrol Listesi

• Yeterli personel (ideal olarak yavru başına bir kişi)
• Ağız boşluğundan salgıları temizlemek için şırınga veya aspiratör cihazı
• Sıcak, kuru havlular
• Isı kaynağı
• Oksijen kaynağı ve küçük yüz maskesi veya oksijen kabini
• Yenidoğan entübasyonu için küçük endotrakeal veya nazogastrik tüp
• Uygun ilaçlar (atropin, nalokson, flumazenil, glikoz (%25), epinefrin, doxapram)
• İntravenöz sıvılar ve intravenöz kateter
• Steteskop
• Göbek kordonunu bağlamak için dikiş materyali veya klemp ve makas (3).

8. Postoperatif Bakım

Aşırı uterus kanaması varsa veya fetal plasenta endometriyumdan tamamen çıkartılamıyorsa, oksitosin uterus involüsyonunu desteklemek ve kanamaları önlemek için kullanılabilir (3).

Annedeki postoperatif analjezi sağlamak, yenidoğanların erken aktif emmesine izin vermek için önemlidir. Ensizyon hattının (ameliyattan önce veya sonra) lidokain (2 mg/kg) veya bupivakain (2 mg/kg; tek başına veya lidokain ile kombinasyon halinde) ile lokal infiltrasyonu, dengeli bir anestezi protokolünün parçası olarak bölgesel analjezi için uygulanabilir (27). Lokal toplam hacmi artırmak için anestezik hacim %0,9 sodyum klorür ile seyreltilebilir (3).

Parenteral opioidler mükemmel analjezi sağlar ve enjeksiyon, oral veya transdermal olarak uygulanabilir. Opioidlerin sedasyon özelllikleri vardır. Non steroidal antienflamatuar ilaçlar (NSAID), opioidin etkisini güçlendirmek için tek başına veya opioidlerle birlikte kullanılabilir. Tramadol, özellikle bir NSAID ile birlikte kullanıldığında analjezi sağlayan ve çok az yan etkisi olan opioid bir ilaçtır (3).

9. Postoperatif Komplikasyonlar

Potansiyel intraoperatif komplikasyonlar arasında kanama, hipovolemi, hipotansiyon, linea alba ensizyonu sırasında uterus laserasyonu, uterus ensizyonu sırasında fetal laserasyon ve maternal üriner veya gastrointestinal sistem travması yer alır. Ameliyat sonrası komplikasyonlar arasında ise kanama, endometrit, mastit, yara enfeksiyonu ve peritonit yer alır (12,28).

10. Sonuç

Küçük hayvan veteriner hekimliğinde sezaryen acil veya elektif olarak gerçekleştirilebilen ve oldukça sık başvurulan bir operasyondur. Sezaryen operasyonunun başarısı anne ve yavrunun sağlık bir şekilde operasyonu tamamlamasıdır. Bu başarıyı elde edebilmek için, hekim ve yardımcı personellerin gebelikte annede gelişebilecek fizyolojik değişiklikleri iyi bilmesi, operasyon öncesi hazırlıkların tam ve eksiksiz bir şekilde yapılması, uygun anestezi protokolünün seçilmesi ve doğru bir şekilde uygulanması, yenidoğan resültasyonuna hakim olunması ve postoperatif sürecin dikkatli bir şekilde takip edilmesiyle sağlanır.

Kaynakça

1. Alaçam E. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Ankara: Medisan Yayınevi;2010.

2. Anadol E, Gültiken N. Kedi ve köpeklerde güç doğum olgusuna şirurjikal yaklaşım ve anestezi seçenekleri. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2014;(1):15-40.

3. Ryan SD, Wagner AE. Cesarean section in dogs: Physiology and perioperative considerations. Compend Contin Educ Pract Vet. 2006;28(1):34-43.

4. Onclin KJ, Verstegen JP. Cesarean section in the dog. Clinician's Brief. 2008; 72-78.

5. Journalist specialized in animal research. https://www.animalwised.com/when-is-a-dog-cesarean-section-needed-2146.html. Erişim tarihi 10 Aralık, 2019.

6. Tonnessen R, Sverdrup Borge K, Nodtvedt A, Indrebo A. Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. Theriogenology. 2012;7(9): 1788-1801.

7. Kaoud HAE. Canine Medicine: Recent Topics and Advanced Research. Rijeka Croatia:BoD–Books on Demand; 2016.

8. Evans KM, Adams VJ. Proportion of litters of purebred dogs born by caesarean section. J Small Anim Pract. 2010;51(2):113-118.

9. Traas A. Surgical management of canine and feline dystocia. Theriogenology. 2008; 70(3):337-342.

10. Kustritz MVR. Clinical Canine and Feline Reproduction: Evidence Based Answers. USA: Wiley & Blackwell; 2010.

11. Pascoe PJ, Moon PF. Periparturient and neonatal anesthesia. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2001;31(2):315-341.

12. Gilson SD. Cesarean section. Aronson LR, editör. Small Animal Surgical Emergencies. 2. Ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, Inc; 2022:527-533.

13. Thurmon JC, Tranquilli WJ, Grimm KA. Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. USA: Blackwell Publishers; 2007.

14. Shnider S. The physiology of pregnancy. Annual Refresher Course Lectures, American Society of Anesthesiologists, Park Ridge, Illinois;1978.

15. Topal A. Preanestezi dönemi ve güncel preanestezik ilaçlar. Turkiye Klinikleri J Vet Sci Surg- Special Topics. 2015;1(3):1-4.

16. Ueland K, Hansen JM. Maternal cardiovascular dynamics: II. Posture and uterine contractions. Am J Obstet Gynecol. 1969;103(1):1-7.

17. Clarke KW, Trim CM, Hall LW. Veterinary Anaesthesia. UK: Saunders Elsevier; 2014.

18. Moon PF, Erb HN, Ludders JW, Gleed RD, Pascoe PJ. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. JAVMA. 2000;36(4):359-368.

19. Smith F. Challenges in small animal parturition timing elective and emergency cesarian sections. Theriogenology. 2007; 68(3):348-353.

20. Feldman EC, Nelson RW. Breeding, pregnancy and parturition. Feldman EC, Nelson RW editör(ler). Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3. ed. St. Louis, WB: Saunders, Inc; 2004: 775–806.

21. Wykes PM, Olson PN. Normal and abnormal parturition. Slatter DH editör. Textbook of Small Animal Surgery. 3. ed Philadelphia, PA: Saunders, Inc; 2003:1510 –1517.

22. Luvoni GC, Grioni A. Determination of gestational age in medium and small size bitches using ultrasonographic fetal measurements. J Small Anim Pract. 2000;41:292–294.

23. Jones RS. Epidural analgesia in the dog and cat. Vet J. 2001; 161:123-131.

24. Biddle D, Macintire DK. Obstetrical emergencies. Clin Tech Small Anim Pract. 2000;15:88–93.

25. Funkquist PM, Nyman GC, Lofgren AJ, Fahlbrink EM. Use of propofol-isoflurane as an anesthetic regimen for cesarean section in dogs. JAVMA. 1997;211:313–317.

26. Moon PF, Massat BJ, Pascoe PJ. Neonatal critical care. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2001; 31:343–365.

27. Kraus BH. Anesthesia for the caesarean section in the dog. Veterinary Focus. 2016;26(1):24-31.

28. Lizarraga I, Janovyak E, Beths T. Comparing lidocaine, bupivacaine and a lidocaine-bupivacaine mixture as a metacarpal block in sheep. Vet J. 2013;197(2):515-518

BÖLÜM XII

KANABİNOİDLERİN OTOFAJİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Effects of Canabinoids on Autophagy

İmran GARİP

Yozgat Bozok Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji ABD,
imran.garip@bozok.edu.tr
ORCID:0000-0002-4998-8027

1. Giriş

Otofaji, hücrelerin sitoplazma bölümleri, hasarlı organelleri ve proteinleri lizozomal yıkım ile ‘’kendi kendini sindirme’’ mekanizması, hastalıkların gelişiminde ve sağlığın korunmasında görev alan katobolik bir süreçtir. Otofaji, hasarlı organel, anormal proteinlerin meydana gelmesi ve besin yoksunluğu gibi olumsuz stres koşulları altında meydana gelen hücre içi parçalayıcı bir süreçtir. Otofaji mekanizması, bozulmuş bileşenleri işaretleyip ve daha sonra bu bileşenleri geri dönüştürmek için lizozomlarla birleşen otofagozomların oluşumunu başlatır. Hücrede genom kararsızlığına karşı hücreyi kanser, nörodejenerasyon, enfeksiyon, otoimmun hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynar. Ayrıca hücre yüzeyi antijen sunumuna katkı sağlayıp bağışıklık sistemiyle yakın ilişki içindedir (1).

Kanabinoidler kaynağına göre isimlendirilir ve bitkilerden elde edilenler fitokanabinoid, canlının kanabinoid sisteminde bulunanlar endojen kanabinoid, sentezlenerek elde edilenler ise sentetik kanabinoidler olarak adlandırılır (2). Kanabinoid kaynaklı otofajinin, çeşitli hastalıkların tedavisinde agonistlerinin ve antagonistlerinin etkilediği reseptörlerin hedef alınması suretiyle ilaç geliştirme potansiyelleri son gelişmeler ışığında incelenecektir.

2. Otofaji

Otofaji, mitokondri ve diğer hücre içi yapıların sitoplazmik materyal benzeri parçalarının çift membranlı kesecikler içine gömüldüğü gözlemleri bilim camiasının ilgisini yıllar önce çekmiştir. Yunanca "kendini yemek" ile eş anlamlı olan "otofaji", fizyolojik öneminin anlaşılmasına katkıda bulunan ve sürecin açıklanması amacıyla çok sayıda araştırma yapılmıştır (3).

Otofaji, sitoplazmanın, hasarlı organellerin ve proteinlerin bölümlerini hedef alan evrimsel olarak korunmuş bir katabolik süreçtir. Lizozomal bozulma, gelişim ve hastalıkta çok önemli rollere sahiptir. Aslında, bazal otofaji normaldir ve yaşlanmış ve hasar görmüş organelleri ve proteinleri uzaklaştırmak için gereklidir, bu nedenle bir kalite kontrol mekanizması görevi görür. Aynı zamanda, hücre koruyucu bir rol oynayarak, düşük besin koşullarında hücrenin hayatta kalmasını sağlar. Otofaji, organizmada doğal olarak meydana gelir, ancak aşırı veya kontrolsüz olduğunda, "tip II programlanmış bir süreç" olarak adlandırılan hücre ölümünü indükleyebilir (4). Bu durum, endoplazmik retikulum (ER) stresi, genotoksik/onkojenik stres, bozulmuş apoptoz, büyüme faktörü yoksunluğu, radyasyon ve ilaçlar gibi hücre uyaranlara bağlı olarak gelişir (5).

Non-spesifik otofaji, mikrootofaji ve makrootofaji olmak üzere iki ana yolak kullanılarak süreç tamamlanır. Mikrootofajide lizozomal membranın invaginasyonu otofagozomlar meydana gelmeden sitoplazma proteinlerinin lizozomlar tarafından sindirimini ifade ederken, makrootofaji ise hücre içi organellerin ve çözünmüş proteinlerin çift zarlı lizozomlarla birleşmiş otofagozomlar aracılığıyla sindirilmesidir. Seçici otofaji, hücre içindeki mitokondri, peroksizom, ribozom gibi hücre içi organeller sindirilmesine, mitofaji, makropeksofaji, şaperona bağlı otofaji olarak adlandırılır. Son çalışmalarda reseptöre bağlı seçici otofajinin endoplazmik retikulumun (ER) yapısını, fonksiyonunu düzenlediğinden dolayı ERfaji ifadesi kullanılmaktadır (6). Seçici otofajide mikroorganizmaların sindirilmesi ise ksenofaji olarak adlandırılır (7).

Otofajik süreç ilk olarak mayada tespit edilmiştir. Bu yüksek düzeyde organize olmuş intralizozomal bozunma yolu, farklı aşamalarda müdahale eden otofaji ile ilişkili (atg) genler tarafından, indüksiyon, vezikül oluşumu ve otofagozom basamaklarıyla düzenlenir3. Otofajik uyarı üzerine, otofaji, üç adımdan oluşan pre-otofagozom yapısının oluşumu ile başlar: fagoforun çekirdeklenmesi, uzaması ve olgunlaşması (ER, trans-Golgi veya endozomlardan türetilen bir zar) Fagofor, Atg proteinlerin geçici alımı ile karakterize edilir ve çekirdeklenmesi, fosfatidilinositol 3-kinasekatalitik alt birim tip III (PI3K III)

aktivasyonunu ve Beclin-1 ile bir kompleks oluşumunu gerektirir (8). Uzama işlemi, bir Atg12-Atg5-Atg16 kompleksinin oluşumuna, mikrotübül ile ilişkili protein 1A/1B-hafif zincir 3(LC3-I)'in oksidasyonuna ve bunun bir LC3-fosfatidiletanolamin konjugatına (LC3-II) dönüştürülmesine yol açar. Olgun otofagozomlarla ilişkili olarak çift zara yerleştirilmiş yapısal bir bileşen olarak işlev görür (9). Olgunlaşma üzerine, otofagozom, otolizozomu oluşturmak için geç endozomlar veya lizozomlarla birleşir ve içeriği endozomal-lizozomal sistem yoluyla sindirilir (10).

Memelilerde beclin-1, aynı zamanda otofajinin başlatılması için gerekli olan PI3K III kompleksinin alınması ve aktivasyonu için bir platform görevi gören otofajik süreç için önemli bir proteindir (6). Stressiz koşullar altında, Beclin-1, Bcl-2 ailesinin antiapoptotik proteinlerinin Bcl-2 homoloji alanları (BH3) ile etkileşime girerek Beclin-1/PI3KIII kompleksinin oluşumunu engeller. Aynı şekilde Bcl-2 veya Bcl-xL'nin Beclin-1'den ayrılması, besin yoksunluğuna ve diğer fizyolojik uyaranlara yanıt olarak otofajiyi aktive eder5. Ayrıca, UV radyasyon direnci ile ilişkili gen (UVRAG), Bax-etkileşim faktörü 1 (Bif-1) 11 ve BECN1 tarafından düzenlenen otofaji proteini 1(Ambra-1), Beclin-1 kompleksinden Bcl-2 salınımı üzerine aktive olur ve Beclin-1 ile PI3K III arasındaki etkileşimin pozitif düzenleyicileri olarak görev yapar. Fosfatidilinositol 3-kinaz katalitik alt birim tip 1 (PI3K I), aynı zamanda otofajinin ilk adımlarının önemli bir düzenleyicisidir. Aktivasyon üzerine, aktif olmayan ve G protein Rheb'i inaktive edemeyen TSC1/TSC2 protein kompleksini fosforile eden Protein kinaz B'nin (Akt) fosforilasyonunu indükleyen kinazlar ile etkileşime girer. Rhebfurther'in aktif formu, rapamisin kompleksinin1 (mTORC1) memeli hedefini aktive ederek otofajiyi inhibe eder (7).

Memeli hücrelerinde, protein kompleksi mTORC1, bir besin/enerji/redoks sensörü görevi görür. Bu protein kompleksi, protein mTOR'un kendisi ve ilişkili düzenleyici proteinler tarafından oluşturulur (12). Besin maddeleri ve enerji yaygın olduğunda, mTOR Unc-51-Benzeri Kinaz'ı (ULK) hiper-fosforile eder, otofajinin bir baskılayıcısı olarak çalışan otofajik indüksiyon kompleksinin oluşumunu engeller6. Ancak açlık koşulları altında mTOR inhibitör aktivitesini yitirir. Ayrıca, mTOR ya da PI3K/Akt yolu aracılığıyla otofajiyi engelleyen ya da adenozin monofosfatla aktive olan protein kinazın (AMPK) aktivasyonu yoluyla otofajiyi tetikleyen sinyalleri entegre eder (12). Bu nedenle, mTOR'un ana düzenleyicileri Akt ve AMPK'dir. Belirtildiği gibi, kinazAkt, mTOR'u aktive etmek ve otofajiyi inhibe etmek için büyüme faktörleri tarafından uyarılır,

AMPK ise artan bir AMP/ATP oranı, artan sitozolik Ca2+ konsantrasyonu veya genotoksik stres ile bir enerji açığına yanıt olarak aktive olan bir kinazdır. Bu nedenle, Akt'nin aşağı regülasyonu, düşük seviyelerde aktif mTOR ile ilişkilidir, bu da otofajinin oluşmasına izin verirken, AMPK aktivasyonu mTOR'u baskılar ve dolayısıyla otofajiyi teşvik eder (13).

Otofajinin başka bir düzenleyicisi, otofajide ikili rolü olan p53'tür. Besin yoksunluğu veya genotoksik/onkojenik stres koşullarında, tümör baskılayıcı protein p53 sıklıkla inaktive olur ve AMPK aktivasyonu, Akt ve mTOR inhibisyonu veya hasarla regüle edilmiş otofaji modülatörünün (DRAM) aktivasyonu yoluyla otofajinin baskılanmasına yol açar. Fizyolojik p53 seviyelerinin otofajiyi inhibe ettiği ve hücre lokalizasyonunun çok önemli bir parçası olduğu gösterilmiştir, çünkü sadece sitoplazmik p53 bu inhibitör aktiviteyi sergiler (14). Yine de kesin moleküler yolak belirsizliğini korumaktadır. Otofaji, nörodejenerasyon, bağışıklık fonksiyonu, kanser, yaşlanma ve gelişme dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçlerde önemlidir (15). Son çalışmalar, otofajinin, hücrenin hayatta kalmasındaki rolünün, işlevinin sadece bir bölümünü temsil ettiği ve hücre ölümüne de katkı sağlayabileceği ifade edilmektedir (16).

3. Apoptoz ve Otofaji Arasındaki İlişki

Otofaji ve apoptoz iki bağımsız mekanizma ile meydana gelebilir, aynı anda ya da sırayla ortaya çıkabilir. Otofaji, apoptozu teşvik edebilir ya da antagonize edebilir, bu da her iki süreç arasında önemli bir ilişki olduğunu düşündürür. Bu nedenle, hücre tipine bağlı olarak, otofaji, (a) apoptozu baskılayan bir hayatta kalma yolu olarak hareket edebilir; (b) apoptozun moleküler olaylarını teşvik edebilir veya (c) verimli hücre ölümünü garanti ederek kusurlu apoptoz durumunda programlanmış hücre ölümünün bir formu olabilir (12).

Apoptotik yol, hücre ölümüne yol açar ve istenmeyen veya onarılamaz hasarlı hücreleri ortadan kaldırmak için etkinleştirilir. Otofaji, hücresel "kendi kendini sindirmeyi" içerir ve öncelikle hücrenin hayatta kalmasına strese uyum sağlayan bir yanıt olarak işlev görür, ancak belirtildiği gibi hücre ölümüne de yol açabilir. İki mekanizma ortak faktörler tarafından düzenlenir çünkü ortak bileşenleri paylaşırlar ve her biri diğerinin aktivitesini düzenleyebilir ve değiştirebilir (11).

Kaspazlar inhibe edildiğinde veya Bcl-2 aile üyelerinde değişiklikler meydana geldiğinde otofajik hücre ölümü gözlemlenmiştir. Moleküler düzeyde, daha önce açıklandığı gibi, anti-apoptotik faktör Bcl-2, otofajik

protein Beclin-1'e bağlanır ve onu inhibe eder. Yalnızca BH3 proteinleri gibi pro-apoptotik faktörler, bu inhibitör etkileşimi bozarak, Beclin-1/PI3K III kompleksi ve Atg proteinlerinin alınması, otofajiyi aktive eder. Böylece, apoptozun pozitif düzenleyicileri de otofajiyi indükleyebilir. Ayrıca hücre ölümü sırasında kalpain tarafından Atg5 ve Atg4'ün bölünmesi meydana gelebilir. Atg4 ayrıca kaspazlarla parçalanarak apoptoza yol açabilir. Bunun dışında, proapoptotik protein BID'nin kaybı veya kaspaz-8'in inhibisyonu, otofajiye yol açabilir. Sitoprotektif otofajide, aktif kaspaz-8'in otofagozomlar tarafından sekestre edildiği ve lizozomlar tarafından bozunduğu gösterilmiştir (17).

Apoptoz ve otofaji arasındaki diğer moleküler bağlantılar tanımlanmaktadır. Bazıları apoptozun indüklenmesine yol açar ve ayrıca otofajiyi tetikler. Bunların örnekleri arasında ölümle ilişkili protein kinaz 1 (DAPK), fosfataz ve tensinhomolog (PTEN) yer alır. Otofaji inhibisyonuna ek olarak, PI3K I/Akt sinyal yolu apoptozu da bloke edebilir (18).

ER stres yanıtı, apoptoz ve otofaji süreçleri arasındaki karşılıklı ilişkinin başka bir örneğidir. Hücre hasarının çeşitli formları oksidatif stres ve yanlış katlanmış proteinler, sonuç olarak farklı tepkilere yol açan, ER stresine neden olabilir. CCAAT/arttırıcı bağlayıcı protein homolog proteininin (CHOP) aktivasyonu mitokondriye bağımlı apoptoza yol açabilir. Bununla birlikte, CHOP seviyesi, ER stresi ile ilişkili protein psödokinaz trib-bles homolog-3'ü (TRIB3) artarsa, otofaji etkinleştirilebilir. ER stresine, ana intraluminar HSP70 olan GRP78 (immünoglobulin ağır zincir bağlayıcı protein, BiP) seviyesindeki bir artış eşlik ettiğinde, hücre sağ kalımını indükleyebilir (6, 19).

Farklı senaryolar altında bu karşılıklı ilişkiden olumlu veya olumsuz sonuçlar alınabilir. Otofajik süreçteki herhangi bir bozukluk, kanser gibi çeşitli hastalık durumlarının patogenezine katkıda bulunabilir. Otofaji ve kanser arasındaki bağlantı çok yönlü ve karmaşık görünmektedir, çünkü otofaji, doku ve hücresel bağlam, tümör evresi, stresi indükleyen uyaranın gücüne bağlı tümörün hayatta kalmasını ya teşvik eder ya da engeller. Otofaji kanser gelişimini engelleyebilsede, strese yanıt olarak kilit bir hayatta kalma yolu olarak kabul edilir. Aslında, stresli kanser hücrelerinde, otofaji, nekroz ve inflamasyonun inhibisyonu, oksidatif stresin önlenmesi ve genomik kararsızlıklar yoluyla bir hücre hayatta kalma mekanizması olarak indüklenir. Otofajinin anti-tümörijenik etkisi, erken aşamalarda nettir ve inflamatuar yanıtı azaltarak ve kanser hücrelerinin invaziv özellikler kazandığı süreç olan mesenkimal geçişe, epiteli modüle ederek metastatik ilerlemeyi önleyebilir (20).

Son yıllarda otofajinin tümör baskılayıcı işlevleri birçok çalışmanın odak noktası olmuştur. Bazı çalışmalar, PTEN gibi tümör baskılayıcı proteinlerin otofajiyi indüklediğini, kusurlu otofajinin ve bunun sonucunda p62 birikiminin tümör oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Otofajinin pro-tümorijenik etkisinin, alternatif bir enerji kaynağı olarak hareket ederek, malignitenin geç durumlarında meydana geldiği düşünülmektedir, çünkü organeller ve protein geri dönüşümü sonucu, sağlanan enerji hücrenin hayatta kalmasını sağlar. Stres koşulları altında, otofaji, tümörün ilerlemesini ve apoptoza karşı direnci artırabilen enerji üretimini sürdürerek hücrenin hayatta kalmasını sağlayabilir16. Bu nedenle, otofaji inhibitörlerinin, hücrenin hayatta kalmasına veya hücre ölümüne yol açabileceğini anlamak kolaydır. Bu nedenle, otofajiye dayalı tedaviyi kullanmadan önce tümör hücrelerinde otofajinin rolünü dikkatlice tanımlamak gerçekten önemlidir. Otofajinin genetik veya farmakolojik inhibitörlerini kullanarak, otofajinin inhibisyonunun kanser hücrelerini, kanser tedavilerine duyarlı hale getirebildiği bulunmuştur. Aslında, 3-metiladenin (3-MA) kullanan otofajik inhibisyon, dirençli meme kanseri hücrelerini, meme kanseri tedavisinde kullanılan bir aromataz inhibitörü olan eksemestan'a duyarlı hale getirebilir, çünkü bu durumda otofaji, pro-tümörijenik bir rol oynar. Otofajinin farklı farmakolojik inhibitörlerinin erken veya geç aşama inhibitörleri olarak sınıflandırılabileceği açıklanmıştır. İlki 3-metyadenin (3-MA), şıramannin ve LY294002'yi içerirken, geç evre inhibitörler sıtma ilaçları klorokin (CQ) ve hidroksiklorokin (HCQ), bafilomisin A1 ve monensini içerir (21).

4. Kannabinoidler

Kenevir, yalnızca birkaç ülkede tıbbi amaçlarla yasallaştırılan ve en yaygın şekilde tüketilen yasa dışı uyuşturuculardır. "Kannabinoidler" olarak bilinen etken maddeler, saplarda, yapraklarda, çiçeklerde ve tohumlarda bulunur. En yaygın psikoaktif madde olan 9-tetrahidrokanabinol (THC) olan, 60 farklı kannabinoid dahil olmak üzere 400'den fazla bileşik tanımlanmıştır. Bununla birlikte, psikoaktif aktiviteden yoksun olan kannabidiol (CBD) gibi önemli özellikleri olan maddeler de tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin tıbbi özelliklerinden dolayı bazı analogları sentezlenmeye başlamıştır (22).

THC etkileri, spesifik kannabinoid reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla elde edilir (23). Metin girmek için buraya tıklayın veya dokunun. Bunlar, bilinen en büyük G proteini-bağlı reseptör ailesinin tipik üyeleridir ve en iyi karakterize edilmiş CB1 ve CB2 reseptörleridir. Öte yandan, endokannabinoidler olarak adlandırılan endojen lipid ligandları da vardır. Endokanabinoidler (eCB'ler),

aynı kanabinoid reseptörleri ile etkileşime girer. Endokannabinoid sistem (ECS), CB'ler ile birlikte eCB'lerden ve CB'leri taşıyan, sentezleyen veya parçalayan enzimlerden oluşur (24).

CB1 ve CB2'nin yanı sıra, eCB'ler ayrıca geçici reseptörpotansiyel vanilloid 1'i (TRPV1), peroksizom çoğaltıcı aktive reseptör ailesini (PPAR), G-protein-bağlı reseptör 55'i (GPR55) hedefleyebilir veya doğrudan lipid salları ile etkileşime girebilir (25).

En iyi karakterize edilen eCB'ler, N-arakidonoil-etanolamin(AEA), anandamid ve 2-araşidonoilgliserol (2-AG)'dir. ECB'ler, "talep üzerine" aktive edilen spesifik fosfolipazlar yoluyla membran fosfolipid öncülerinden salınır. En belirgin AEA biyosentetik yolu, N-araşidonoilfosfatidiletanolamin (NArPE) üretmek için Ca2+bağımlı N-asiltransferaz (NAT) tarafından transasilasyonu ve ardından spesifik bir fosfolipaz D(NAPE-PLD) yoluyla AEA'ya dönüşümünü içerir. Aynı şekilde 2-AG, diaçilgliserol lipaz tarafından dönüştürülen 1,2-diasilgliserol (DAG) üretmek için spesifik bir fosfolipaz C (PLC) tarafından inositol fosfolipidlerin hızlı hidrolizini içeren iki aşamalı bir yolda sentezlenir (22).

Pasif difüzyonla veya endokannabinoid membran taşıyıcı (EMT) adı verilen spesifik bir taşıyıcı aracılığıyla yeniden alımdan sonra, eCB'ler yağ asidi amid hidrolazı (FAAH) veya monoasil-gliserol lipaz (MAGL) tarafından hidrolize edilir. İlki, araşidonik asit ve etanolamini serbest bırakmak için AEA'nın amid bağını koparırken, FAAH ve daha da önemlisi MAGL, 2-AG'yi araşidonik asit ve gliserole dönüştürür. Siklooksijenaz-2 (COX-2), prostaglandin-etanolamidler oluşturmak için bir substrat olarak AEA'yı kabul edebilir ve prostaglandin-gliseril esterleri üretmek için 2-AG›yi oksijensizleştirebilir. «Kannabinoidler» terimi, THC ile yapısal olarak ilişkili tüm molekülleri içerir. Bu nedenle kannabinoid ligandları üç tipe ayrılabilir: (i) fito-kannabinoidler olarak adlandırılan kenevir kaynaklı bileşikler, (ii) kannabinoid benzeri aktiviteye sahip endojen bileşikler, endokannabinoidler ve (iii) terapötik amaçlar için kullanılan sentetik analoglar (26).

4.1. Kannabinoid Kaynaklı Otofaji

Kannabinoid kaynaklı otofaji ile ilgili çalışmaların çoğu tümör modellerinde yapılmıştır. Kannabinoidlerin çeşitli kanser hücresi dizilerinde otofajiyi indüklediği ve çoğu durumda bu antineoplastik aktivitenin otofajinin (farmakolojik veya genetik) inhibisyonu ile önlendiği gösterilmiştir, bu da bu işlemin kannabinoidin antiproliferatif etkisi için gerekli olduğunu

düşündürmektedir. Öte yandan, tümör dışı hücrelerde kannabinoid kaynaklı otofajinin işlevi ile ilgili bazı çalışmalar da yapılmıştır.

4.1.1. Tümör Olmayan Hücrelerde Kanabinoidlerin Neden Olduğu Otofaji

CB1 reseptör aktivasyonunun, lizozomal aktiviteyi ve hasarlı makromoleküllerin bozulmasını etkilediği gösterilmiştir. Bu, beyin yaşlanmasının seyrini ve başlangıcını etkileyebileceğini düşündürmektedir (27). Kanabinoidlerin bu özellikleri kaliteli yaşlanma konusunda potansiyel taşıdıklarını işaret etmektedir. Açlık veya belirli stres biçimleri sırasında hücreler, sitoplazmalarının büyük, spesifik olmayan kısımlarını sindirmek ve geri dönüştürmek için otofajiyi kullanır. Bununla birlikte, otofaji aynı zamanda immün sinyal yollarını mekansal olarak düzenlemek (örneğin, sitokin üretimini sınırlamak için aktive edilmiş proteinleri geri dönüştürerek) ve iltihabı bloke etmek (örneğin, zararlı reaktif oksijen türlerini serbest bırakmadan önce hasarlı mitokondrileri ortadan kaldırarak) için de kullanılabilir.

Belirli tehditleri izole etmek ve ortadan kaldırmak için hücreler, hedeflenen kargonun önce ubquitination tarafından etiketlenmesi gereken seçici bir otofaji biçimi kullanır. Her yerde bulunan kargo daha sonra sürüklenir ve p62, optineurin, Parkin veya PINK1 gibi çeşitli sekestozom benzeri proteinlerden (SLR'ler) biri tarafından LC3 yoluyla izolasyon zarına bağlanır. Öte yandan, sentetik kannabinoid HU-308 tarafından CB2'nin aktivasyonu, otofajinin aktivasyonu yoluyla deneysel otoimmün ensefalomiyelit patogenezini hafifletebildiği ifade edilmektedir (28). Ayrıca hem CB1 hem de CB2 reseptörlerine etki eden THC ve CBD içeren bir ilaç olan Sativex®, karmaşık nörodejeneratif bozukluklar modelinde, otofajinin uyarılması ile serbest radikallerin azaltılması, mitokondriyal aktivitenin arttırılması ve hipokampus ve serebral kortekste tau ve amiloid birikimini azalttığını göstermektedir. Nörodejeneratif hastalıklardaki etkisinin yanı sıra, CBD, alkol aracılı oksidatif stresin azaltılması dahil olmak üzere birçok mekanizma yoluyla fare karaciğer hücrelerini akut alkol kaynaklı steatozdan koruyabilir (29).

4.1.2. Kannabinoidlerin Antikanser Özellikleri

Fitokanabinoidler, yüzlerce yıllık bir tıbbi kullanım geçmişine sahiptir; ancak, kanser de dahil olmak üzere çeşitli alanlarda potansiyel terapötik etkinliklerini gösteren bilimsel çalışmaların ardından son zamanlarda dikkatleri üzerine çekmişlerdir. Uzun bir süre kanabinoidler, kemoterapi

yan etkileri ve kanser semptomları için palyatif olarak kullanıldı; bununla birlikte, kanabinoidlerin antikanser özelliklerini açıklayan daha fazla bilgi ortaya çıkmaktadır (29). Kannabinoidlerin kanser hücresi proliferasyonu üzerinde inhibe edici bir etki sergilediğini öne süren çok miktarda veri vardır (8). Kannabinoid reseptörleri ve ligandları kanser hücrelerinde yukarı regüle edildiği gibi aşağıda regüle edilebilir. Bu durum kanserin heterojen bir yapıya sahip olduğunu gösterir. Yukarıda tartışıldığı gibi, kannabinoid reseptörleri CB1, CB2 ve GPR55, TRPV2 gibi kanonik olmayan reseptörlerin yanı sıra endokannabinoid metabolize edici enzimler FAAH ve MAGL'nin aşırı ekspresyonu, tümör agresifliği ile ilişkilidir ve ECS'nin kanser ilerlemesindeki önemini gösterir (30). Bununla birlikte, klinik çalışmalar sınırlıdır ve farklı kanser türleri için zıt sonuçlar ortaya çıkmıştır. Kanabinoid reseptörleri ile etkileşiminden bağımsız olarak kanabinoidlerin doğrudan ve dolaylı antikanser aktivitesi de incelenmiştir. Bu antitümör fonksiyonlar, kanser hücresi proliferasyonunda azalma, apoptoz ve migrasyonun inhibisyonu ile sonuçlanan veya tümör vaskülarizasyonunu, mikroçevreyi, immün yanıtı ve enflamasyonu etkileyen hücre sinyal yolaklarındaki değişiklikleri içerebilir. Kanabinoidlerin antikanser aktiviteleri üzerine çok sayıda çalışmaya rağmen, çalışmaların çoğu in vitro ve ksenogreft hayvan modellerinde gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, tümör oluşumunun ve tümör mikroçevresinin ve bağışıklık tepkisinin dahil edilmesinin, onları hastaların patolojik durumunu temsil edecek şekilde özetlenebildiği transgenik hayvanlar gibi daha karmaşık modellerde sınırlı sayıda araştırma vardır. Şimdiye kadar mevcut olan preklinik kanıtların çoğu, kanabinoidlerin en büyük terapötik potansiyelinin mevcut kemoterapi ilaçlarıyla kombinasyonlarında yattığını göstermektedir. Ancak, tüm çalışmalara rağmen, birçok soru açık kalmaktadır. Formülasyon, absorpsiyon ve biyoyararlanım sorunlarının yanı sıra, diğer çözülmemiş sorunlar, kannabinoidlerin kanserde terapötik kullanımlarındaki sürecin ilerlemesini baltalamaktadır (16, 31).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilerde, tümör mikro ortamının kanserin büyümesinde ve ilerlemesinde önemli bir oyuncu olduğuna dikkat çekilmektedir. Bu özel "habitat", ilerlemelerini kolaylaştırmak amacıyla tümör hücreleri tarafından manipüle edilen fibroblastlar, endotelyal ve bağışıklık hücreleri ve hücre dışı matris gibi çeşitli bileşenlerden oluşur. Tümör mikroçevresini oluşturan hücrelerin çoğunluğu kanabinoid reseptörlerine sahip olduğundan, kanabinoidlerin aktivitesinin tümör gelişimini teşvik edip etmediği veya bir antitümör etkiye sahip olup olmadığı henüz netlik kazanmamıştır. Ya dış elementlerin ya da içsel tümörle ilgili faktörlerin neden olduğu iltihaplanma,

kanserin immünsüpresyonu teşvik eden ve tümörlerin yükselişine ve evrimine katkıda bulunan diğer bir iyi bilinen ayırt edici özelliğidir (11, 32). Bazı çalışmalar kannabinoidlerin anti-enflamatuar ilaçlar olma potansiyelini vurgulasa da kannabinoidlerin inflamasyonun düzenlenmesindeki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Son zamanlarda immünoterapi, kanser hücrelerini tanımlamak ve bastırmak için hastaların kendi bağışıklık sisteminin kullanılması artan bir ilgi görmüştür (24). Şimdiye kadar kanabinoidler, özellikle THC hakkında toplanan veriler, lenfositler üzerinde olumsuz bir etkiye işaret ediyor gibi görünmektedir ve bunların, bağışıklık tepkisine yardım etme veya engellemedeki rolleri hakkındaki soruyu yanıtsız bırakmaktadır (33, 34).

Şu anda, kannabinoid bazlı ilaçların ana onaylı uygulama alanları, palyatif bakım ve mide bulantısı ve anoreksi gibi yan etkilerin tedavisi veya bazı nörolojik durumlarda anti-spastikler olarak kalmaktadır. Kanabinoidlerin ve türevlerinin kanser tedavisinde potansiyel kullanımına ilişkin olarak, araştırmacılar ve klinisyenler için yanıtlanmamış pek çok sorunun ele alınması gerekmektedir. Bunlar arasında, kannabinoidlerin tümör mikroçevresi ve bağışıklık tepkisi üzerindeki etkisi çok önemlidir (35). Özellikle, kanabinoidlerin immün yanıt üzerinde uyguladıkları potansiyel olumsuz etki, klinik kullanımları ile ilgili endişeleri artırmaktadır. Ligandların kanabinoid reseptörlerine bağlanması, kanser hücresi proliferasyonunu engelleyebilen ve apoptoz yoluyla kanser hücresi ölümüne yol açabilen bir dizi aşağı akış yolunu aktive eder. Bu, glioma, melanom, pankreas ve meme kanserleri dahil olmak üzere çeşitli kanser türlerinde gösterilmiştir (36).

Kanserde yaygın olarak düzensiz bir yolak olan P13/AKT/mTOR ekseni, hücre büyümesinin ve hayatta kalmasının düzenlenmesinden sorumludur ve kannabinoidlerin reseptörlerine bağlanmasıyla aktive olan bir yoldur (37). THC'nin gliomadaki reseptörlere bağlanması, ER üzerinde stres yaratan seramid birikimine neden olur ve psödokinaz tribbles homolog-3'e (TRIB3) bağımlı AKT/mTOR inhibisyonuna yol açar (38). Bu daha sonra glioma hücrelerinin çoğalmasını engeller. Benzer şekilde, karsinom hücrelerinde, kanabinoidler JWH-015 ve THC, AMPK'nin ER stresine bağlı aktivasyonu yoluyla AKT/mTORC1'i inhibe eder. Bu bloke edildiğinde, kanser hücreleri büyümeye devam eder (39). Kanabinoidler tarafından aktive edilen ve kanser hücresi proliferasyonunu azaltmada yer alan başka bir yol, MAPK yoludur. Bu serin/treonin protein kinazlar, spesifik hedeflerin fosforilasyonu yoluyla stres uyaranlarını sitokin üretimi, hücre döngüsü durması ve hücre ölümü gibi farklı hücresel tepkilere dönüştürür (40). Hücrelerin GPR55 antagonistleri

CID16020046 ve CBD ile tedavisi, MAPK sinyalini, hücre büyümesini ve hücre döngüsü ilerlemesini önler. Bu, CB1 ve CB2 reseptörleri THC veya sentetik kannabinoidler WIN-55,212-2, CP55940, JWH-133 veya HU210 tarafından aktive edildiğinde ve seramid ve ER stresinin birikmesi glioma hücre büyümesini inhibe ederek MAPK sinyalini değiştirdiğinde de görülür (41). Kannabinoid reseptörlerinin ligandları tarafından aktivasyonu, kanser hücresi proliferasyonunu inhibe eden ve aynı zamanda hücre döngüsünün durması ve hücre ölümü gibi başka antikanser etkilere sahip olan bir dizi aşağı akış yoluna sebep olur (42). Kannabinoidlerin farmakolojik aktivitelerini ve bunların arkasındaki mekanizmaları daha iyi anlamak, terapötik olarak nasıl kullanacaklarını bilmek önemlidir.

Kanabinoidlerin kanser hücreleri üzerindeki anti-proliferatif ve proapoptotik etkilerinin yanı sıra, aynı zamanda anti-invaziv etkiler de sergilerler. Reseptörlerin kannabinoidler tarafından aktivasyonu, kanser hücrelerinin anjiyojenezi, tümör invazyonunu ve metastazını bloke eder43. CB reseptörlerinin THC tarafından uyarılması, servikal ve akciğer kanseri modellerinde istila önleyici aktivite göstermiştir. Prostat kanseri hücrelerinde, endokannabinoid 2-AG tarafından CB1'in aktivasyonu invazyonu inhibe etmektedir. Anjiyogenez, yeni kan damarlarının filizlenmesidir ve tümör metastazı için hayati önem taşır. Bu, büyük ölçüde, tümörün ilerlemesi için önemli olan ve kannabinoidlerle tedavi edilerek baskılanabilecek olan tümör neovaskülarizasyonuna bağlıdır. Vasküler-endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plasental büyüme faktörü ve aniopoietin-2 gibi pro-anjiyojenik faktörler inhibe edildiğinde, tümör hücrelerine kan akışını ve beslenmesini önleyerek, böylece tümör büyümesini ve yayılmasını inhibe ederek aşağı doğru düzenlenir. Glioma, meme ve prostat kanseri modellerinde azalmış tümör vaskülarizasyonu görülmüştür (43).

4.1.3. Tümör Hücrelerinde Kanabinoidlerin Neden Olduğu Otofaji

Farklı deneysel tümör modellerinde yürütülen son çalışmalar, kannabinoid tedavisinin bir sonucu olarak otofajinin aktivasyonunu bildirmiştir. Kannabinoidlerin kanser hücreleri ile etkileşim şeklinin, bağlandıkları reseptör tipi ve bunun sonucunda hücre içi aktive edilmiş yollar dahil olmak üzere tümör sistemine bağlı olduğu bildirilmektedir.

Fitokanabinoidlerle tedavide, otofajinin apoptozdan önce geldiği, otofajik hücre ölümüne neden olduğu görülmektedir. THC'nin otofaji aracılı apoptotik hücre ölümünü indükleyebildiğini gösterilmiştir. Bu anti-tümöral etki, en azından kısmen, TRIB3 de dahil olmak üzere, ER stresi ile ilgili birçok

proteinin, otofajinin meydana gelmesine izin vererek yukarı regülasyonu üzerine dayanır (44). Araştırmacılar, Trib3-/-farelerden türetilen dönüştürülmüş fare embriyonik fibroblast hücrelerini (MEF) kullanarak, Trib3-/-MEF'lerin aksine, Trib3+/+MEF'lerde THC tedavisinin hücre canlılığının tamamen kaybolmasını ve apoptotik özelliklerden önce gelen otofajik belirteçler, her iki yol arasında bir çapraz ilişkiyi gösterir. Aynı grup, otofajinin uyarılmasının CB1'e bağlı olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, THC'nin seramidin de novo-sentezinin birikmesini, stresle düzenlenen protein p8'in ve aşağı akış hedeflerinin yukarı regülasyonunu, transkripsiyon faktörü 4'ü (ATF4), CHOP ve TRIB3'ü aktive ettiğini bulmuşlardır. Bu durum, seramid birikimi kannabinoid- ER stresini ve otofajiyi tetiklemiştir. Bu hücrelerde THC'nin ayrıca Akt/mTORC1 inhibisyonu yoluyla otofajiyi indüklediği görülmektedir. Çalışmalarda elde edilen sonuçlar, glioblastoma multiforme hastalarında kannabinoid tedavisinin MEF hücrelerinde elde edilen sonuçları desteklemektedir (45, 46).

Glioma hücrelerinde yapılan bir çalışma, THC'ye dirençli hücrelerin karakteristiği olan gen ekspresyon profilini, en güçlü ilişkili gen olan büyüme faktörü Mdk (Midkine, aynı zamanda nöron büyümesini teşvik edici faktör 2-NEGF2 olarak da bilinir) olarak tanımlamıştır. Bu büyüme faktörü, çeşitli kanser hücrelerinin proliferasyonunun ve migrasyonunun modülasyonu ile ilişkilidir ve hücre ölümüne karşı koruyucu bir faktör olarak hareket ederek, sıklıkla malign tümörlerde aşırı eksprese edilir (47). Ayrıca pankreas kanseri hücrelerinde de benzer bir direnç mekanizmasının çalıştığı bulunmuştur. Kannabinoide dirençli pankreas kanseri hücre dizisi PANC-1, kannabinoide duyarlı pankreas kanseri hücre dizisi MIA PaCa-2'den daha yüksek Mdk seviyeleri sergilemiştir. Mdk, kannabinoid dirençli hücre hattını ve ayrıca THC'nin glioma hücre kültüründe neden olduğu otofajiyi ve apoptozu engeller. Aksine, dirençli hücre hatlarında Mdk veya anaplastik lenfoma kinaz reseptörünün (ALK) yıkılması veya bu reseptörün farmakolojik inhibisyonu, THC'nin indüklediği otofajiyi ve apoptozu arttırır. Bu durumda, dirençli hücre hatlarında THC ile tetiklenen transkripsiyon faktörü p8 ve TRIB3 indüksiyonu, Mdk veya ALK yıkımı arttırılmaktadır. Birlikte ele alındığında, bu gözlemler, kanabinoidler tarafından otofaji aracılı hücre ölümünü önlemek için Mdk'nin (ALK aracılığıyla) p8/TRIB3 ekspresyonunu ve Akt/mTORC1 ekseninin aktivitesini modüle ettiğini gösterir (48).

Göğüs kanseri hücrelerinde, CBD ile tedavi, ökaryotik translasyon başlatma faktörü 2 ve azalmış fosforile mTORC1 seviyeleri ile ER stresini indüklemiştir. Otofajik belirteç LC3-II'deki artışa, otofaji ve apoptoz arasında bir karşılıklı

ilişkiyi gösteren bölünmüş-PARP (Poli (ADP riboz) polimeraz 1)'deki bir artış eşlik etmiştir. Beclin-1 ve PI3K III arasındaki etkileşimi arttırmanın yanı sıra CBD, Beclin-1 ve Bcl-2 arasındaki ilişkiyi inhibe ettiğinden, Beclin-1'in CBD aracılı apoptozun indüklenmesinde merkezi bir rol oynadığını bulmuşlardır. Psikoaktif olmayan kannabinoid etkilerinin reseptörden bağımsız olduğu, ROS oluşumuna, BID'nin mitokondriye translokasyonuna ve içsel apoptotik yolun aktivasyonuna neden olduğu bulunmuştur. Böylece, CBD tarafından indüklenen ROS üretiminin artışı bloke edildiğinde, apoptoz ve otofaji süreçleri önlenmektedir (49). Çok yakın zamanda, bu kannabinoidin, geçici reseptör potansiyel vanilloid 2'nin (TRPV2) aktivasyonu yoluyla bir otofajik süreci indükleyerek glioma kök benzeri hücrelerin (GSC'ler) farklılaşmasını tetiklediği gösterilmiştir. Ayrıca, CBD, GSC'lerin çoğalmasını engelleyebilmiştir. Kemoterapi ilacı carmustin (BCNU) ile kombinasyon halinde, apoptozu indükleyerek bu hücrelerin BCNU tedavisine direncini bastırmıştır. CBD'nin otofajiyi teşvik eden aktivitesi, AKT/mTOR protein kinaz ağı tarafından düzenleniyor gibi görünüyor olsa da ve PTEN'de sürece dahil olabilir. GSC'ler, glioblastoma multiforme'nın tümör başlatma ve kazanılmış kemorezistansta yer aldığına inanılan bir alt popülasyondur. Bu nedenle, CBD'nin neden olduğu otofaji, tümör baskılayıcı bir mekanizma olarak işlev görür (50). Armstrong ve ark. THC ve CBD (Sativex®) kullanılarak, bu kanabinoidlerin melanom hücrelerini kanonik olmayan otofajik aracılı apoptotik hücre ölümüne yönlendirdiğini, proliferasyonu ve tümör büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Bahsedilen çalışma, kannabinoid melanom tedavisinde klinik yarar formetastatik olabileceğini öne sürmektedir (51).

CBD ve THC'ye benzer şekilde, resorsinol türevi O-1663'ün, özellikle metastatik kanser hücrelerinde meme kanseri hücrelerinde otofaji ve apoptoz indüklediği de gösterilmiştir. Bu anti-metastatik aktivite, CB2 antagonistinin uygulanmasıyla kısmen tersine çevrilmiştir (52). Bununla bağlantılı olarak, CB2 reseptör aktivasyonunun, THC ve sentetik bir kannabinoid olan JWH-015'in hepatoselüler karsinom (HCC) hücre dizilerinde ve insan HCC ksenograftlarında antitümörojenik etkilerinden TRIB3/Akt/mTORC1 yolu sorumlu olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, HCC hücrelerinde kannabinoidler tarafından otofaji aracılı hücre ölümü için AMPK'nin artan fosforilasyonunun gerekli olduğu görülmektedir. CB2'nin farmakolojik blokajı, THC ve JWH-015'in Akt ve AMPK fosforilasyonu ve ayrıca otofaji üzerindeki etkisini ortadan kaldırmıştır (53). Daha yakın zamanlarda, PPAR-□'nin farmakolojik inhibisyonunun veya siRNA ile genetik ablasyonun HCC hücrelerinde kanabinoidlerin ölüm etkilerini

azalttığı da gösterilmiştir. Ayrıca, TRIB3'ün aşağı regülasyonu, PPAR-Ɣ ifadesini azaltmış ve p62 birikimini indüklemiştir (54).

Pankreas adenokarsinom hücrelerinde, AMP/ATP seviyelerinin sentetik kannabinoidlere yanıt olarak güçlü bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Bu durumda, kannabinoid kaynaklı otofajiyi elde etmek için AMPK aktivasyonu gerekli olmaktadır (55).

Pellerito ve ark ayrıca kolon kanseri hücre dizilerinde sentetik bir kannabinoid tedavisi olan WIN55, 212–2'den sonra ER stres indüksiyonu ve hücre ölümü bildirmiştir. Daha önce açıklanan çalışmalara göre, fosforile edilmiş Akt seviyeleri azalmış TRIB3 ve CHOP seviyeleri artmıştır. Buna karşılık, Beclin-1 yıkımı, bu etkilere karşı koymada etkisiz olduğunu ve WIN'in Beclin-1 bağımsız bir otofajik yolu indüklediğini doğrulamıştır. Ancak bu çalışmada, bir otofajik sürecin dahil edilmesi, ilacın sitotoksik etkilerine karşı hayatta kalma yanlısı bir rol oynuyor gibi görünmektedir. Bu tür veriler, WIN tedavisinden sonra önemli ölçüde aşağı regüle edilen bu reseptörlerin ifadesi olan kannabinoid sinyalleşmesinde PPAR-□'nin rolü için kanıt sağlamıştır (56).

Başka bir çalışmada, bu kannabinoidin insan osteosarkom hücreleri üzerindeki etkisini, CHOP, TRIB3 ve GRP78 gibi ER stres belirteçlerinin indüklenmesi ve LC3-II'nin güçlendirilmesiyle birlikte WIN tedavisinin neden olduğu G2/M hücre döngüsü durdurmasıyla, bir otofajik yanıtı gösterir. Önceki çalışma ile bağlantılı olarak, Beclin-1 düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmez (57).

Antiproliferatif etkileri nedeniyle, kannabinoidler astemozolomid (TMZ), TNF-alfa ile ilişkili apoptoz indükleyici ligand (TRAIL), gemsitabin (GEM) ve radyasyon gibi diğer mevcut anti-kanser tedavileri ile kombine edilmektedir. Bu çalışmalar, kanser tedavilerini iyileştirmek için kannabinoid bazlı ilaç kullanan hastalar için özellikle önemlidir. Yetersiz otofaji normal bir hücreyi kötü huylu bir tümör haline getirebilir. Bununla birlikte, artan kanıtlar, tümör oluşumunun ileri aşamalarındaki tümörün, hayatta kalma ve çoğalma için güçlü bir şekilde otofajiye bağlı olduğunu göstermektedir. Anti kanser tedavilere direnç, otofajinin, otofajik hücre ölümünü indüklemek yerine (daha önce varsayıldığı gibi), kanser hücrelerinin, tümör büyümesine ilerleyen metabolik stres ve hipoksi ile başa çıkmasına yardımcı olduğunu gösterdi. Birçok gözlem, kanser gelişiminde otofajiye ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Kannabinoidlerin otofajiyi indüklemesi sonucu kanserli hücrenin hayatta kalmasını sağlayan mekanizmalar tanımlanmıştır (57-59).

4.2. Metabolik Hastalıklarda Kanabinoidlerin Neden Olduğu Otofaji

CB2 reseptör agonisti Hu-308, Tip 2 diyabetten kaynaklı kardiyomiyopatide meydana gelen myokardial infarksiyonda, CB2 reseptörü aracılığıyla uyarılma sonucu, kardiyoprotektif etki gösterdiği ifade edilmektedir. Otofaji kalp kası, kalp damarlarında ve arteriosklerozda faydalı etkilere sahiptir. Etki mekanizması, CB2 reseptörünün aktivasyonuyla, AMPK'nın fosforilasyonun artarken ve mTOR-p70S6k fosforilasyonunun azalması temeline dayandığı ileri sürülmektedir. Hu-308'in kardiyoprotektif etkisi deney hayvanlarında bafilomisin-1 ile ortadan kaldırılması ise tedavi edici etkinin otofaji yoluyla olduğu tezini doğrulamaktadır. Lizozoma dayanan kendi kendini parçalayan bir süreç olan otofajinin, multipl skleroz, alkolik karaciğer hastalığı ve enflamatuar barsak hastalığı dahil olmak üzere birçok yangıyla ilişkili hastalıkta CB2'yi aktive ederek aracılık ettiği hafifletici etkiye katkıda bulunduğu gösterilmiştir, fare makrofajlarında otofaji sürecini indükleyerek NLRP3 inflamatuarının inhibisyonu yoluyla CB2'yi aktive etmenin fare modellerinde inflamatuar bağırsak hastalığını hafiflettiğini gösterdi. CB2 ile otofaji arasındaki benzer ilişki,multipl skleroz deney hayvanı modellerinde rapor edilmiştir (60). Diyabetik kardiyomyopatide'deki otofaji süreci için, artan otofajinin kalpteki bozuklukların iyileştirilmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (61).

5. Sonuç

İn vivo ve in vitro gerçekleştirilen çalışmalar, kannabinoid sistemin aktivasyonunun programlanmış hücre ölümünü indükleyebileceğini göstermiştir. Genel olarak, kanabinoidler ER stresini indükler, ayrıca TRIB3 ve otofajiyi arttırır. Bununla birlikte, tartışılan çalışmalarda sunulan sonuçlar arasında bazı tutarsızlıklar olduğundan, kanabinoidler tarafından otofajinin aktivasyonunun sonuçları tam olarak anlaşılmamıştır. Bazı durumlarda, otofaji, otonom bir ölüm yolu varsayılarak bir ölüm mekanizması gibi davranır veya apoptozun aktivasyonu için önemlidir. Öte yandan, koruyucu bir mekanizma olarak hareket edebilir (31).

Kanserde, otofaji, kanser hücresi çoğalmasına ve ilerlemesine yardımcı olan veya engelleyen ikili bir işlev göstermiştir. Erken evre tümörlerde, otofaji, tümörü ve hasarlı hücresel bileşenleri ortadan kaldıran bir antitümorijenik etkiye sahiptir. Bununla birlikte, daha sonraki evre tümörlerde, otofaji, zararlı kanser mikro ortamları altında alternatif bir enerji kaynağı olarak işlev

görebilir, dolayısıyla kanser hücresinin hayatta kalmasını destekler. Otofajinin kanser gelişimindeki paradoksal özellikleri, otofaji düzenleyici mekanizmaya ve antikanser tedavilerinde nasıl kullanılabileceğine odaklanan daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (62-64).

Kanabinoidler ayrıca kanserdeki rolleri, kemoterapi yan etkilerinin hafifletilmesi ve tümör büyümesini ve proliferasyonunu azaltma yetenekleri açısından da araştırılmıştır. Son yıllarda, otofajik kanser hücresi ölümüne aracılık etmek için sentetik kannabinoidlerin araştırılmasına ilgi artmakta ve bu da kanabinoidlerin yeni bir hedefli antitümör tedavisi olarak potansiyel uygulamalarının altını çizmektedir. Bununla birlikte, kanser ortamlarında kanabinoid kaynaklı otofajinin sonuçları ve tümör terapilerindeki etkileri tam olarak anlaşılmamıştır; bu nedenle, bu mekanizmaya ilişkin daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Kannabinoidlerin geleneksel kemoterapiler ve radyasyon terapileri ile kombinasyonunu, ilacın sitotoksisitesini büyük ölçüde azalttığı ve terapötik etkinliği arttırdığı gösterilmiştir (65-67). Bu oldukça avantajlıdır ve mevcut kanser tedavilerinin etkisini iyileştirmek için çok faydalı olabilir.

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarda, otofajinin yukarı regülasyonunun ilaç direncine katkıda bulunabileceğini veya artırabileceğini göstermiştir. Otofaji, tümör hücrelerinin hayatta kalma oranını artıran koruyucu bir mekanizma olarak tanımlanmıştır. CQ (kloroquinon) ve HCQ (hidroksikloroquinon) gibi birkaç otofaji inhibitörü, lizozomal pH'ı değiştirerek otofajiyi inhibe etmek, dolayısıyla otofagozom birikimini ve ardından otofajik bozunmanın baskılanmasını engellemek için tümör tedavisine eklenen ilaç etken maddeleridir. Bu nedenle, kanabinoidlerin otofaji üzerindeki etkilerinden, antikanser tedavilerine karşı direnci azaltmak için mevcut diğer kemoterapötik ajanlarla kombine tedavide yararlanılabilir (68, 69). Kanabinoidlerin antitümörijenik etkisini gösteren etkili dozajları belirlemek için klinik deneyler ve optimal uygulama yöntemlerini araştırılmaktadır.

Aktive reseptörler ve bunun sonucunda ortaya çıkan etkiler hücre tipine ve kannabinoide göre değişir. Bu nedenle, kanabinoidlerin neden olduğu otofajinin hücre ölümüne veya hücre hayatta kalmasına yol açabileceği koşulları ve bunların eylemlerinde yer alan molekülleri anlamak için daha fazla çalışma gereklidir. Ayrıca, mevcut anti-kanser ajanları ile kannabinoid kombine tedaviler, bu tedavilerin antiproliferatif etkilerini iyileştirdiği düşünülmektedir. Bu gözlemler, kannabinoidlerin tedavi potansiyeline sahip olduğunu ve anti tümör ilaçlar olarak araştırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

1. Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: Cellular and molecular mechanisms. J Pathol. 2010;221(1):3-12. doi:10.1002/PATH.2697

2. Bockmann EC, Brito R, Madeira LF, et al. The Role of Cannabinoids in CNS Development: Focus on Proliferation and Cell Death. Cell Mol Neurobiol. Published online August 4, 2022. doi:10.1007/s10571-022-01263-y

3. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. Nature. 2008;451(7182):1069-1075. doi:10.1038/NATURE06639

4. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the Pathogenesis of Disease. Cell. 2008;132(1):27-42. doi:10.1016/J.CELL.2007.12.018

5. Buzun K, Gornowicz A, Lesyk R, Bielawski K, Bielawska A. Autophagy Modulators in Cancer Therapy. Int J Mol Sci. 2021;22(11). doi:10.3390/IJMS22115804

6. Bryant KL, Stalnecker CA, Zeitouni D, et al. Combination of ERK and autophagy inhibition as a treatment approach for pancreatic cancer. Nat Med 2019 254. 2019;25(4):628-640. doi:10.1038/s41591-019-0368-8

7. Li W, Zhang L. Regulation of ATG and Autophagy Initiation. Vol 1206.; 2019. doi:10.1007/978-981-15-0602-4_2

8. Science DKJ of cell, 2005 undefined. The molecular machinery of autophagy: unanswered questions. journals.biologists.com. Accessed December 4, 2022. https://journals.biologists.com/jcs/article-abstract/118/1/7/28211

9. Stolz A, Ernst A, Dikic I. Cargo recognition and trafficking in selective autophagy. Nat Cell Biol. 2014;16(6):495-501. doi:10.1038/NCB2979

10. Cristino L, Bisogno T, Di Marzo V. Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders. Nat Rev Neurol. 2020;16(1):9-29. doi:10.1038/S41582-019-0284-Z

11. Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. Cancer Cell. 2006;10(1):51-64. doi:10.1016/J.CCR.2006.06.001

12. Polewska J. [Autophagy--molecular mechanism, apoptosis and cancer]. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2012;66:921-936. doi:10.5604/17322693.1021109

13. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. Cell. 2008;132(1):27-42. doi:10.1016/J.CELL.2007.12.018

14. Costa L, Amaral C, Teixeira N, Correia-Da-Silva G, Fonseca BM. Cannabinoid-induced autophagy: Protective or death role? Prostaglandins Other

Lipid Mediat. 2016;122:54-63. doi:10.1016/J.PROSTAGLANDINS.2015.12.006

15. Lee XC, Werner E, Falasca M. Molecular Mechanism of Autophagy and Its Regulation by Cannabinoids in Cancer. Cancers 2021, Vol 13, Page 1211. 2021;13(6):1211. doi:10.3390/CANCERS13061211

16. Malhotra P, Casari I, Falasca M. Therapeutic potential of cannabinoids in combination cancer therapy. Adv Biol Regul. 2021;79. doi:10.1016/j.jbior.2020.100774

17. Zoncu R, Efeyan A, biology DSN reviews M cell, 2011 undefined. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. nature.com. Accessed December 5, 2022. https://www.nature.com/articles/nrm3025

18. Eisenberg-Lerner A, Bialik S, … HSCD&, 2009 undefined. Life and death partners: apoptosis, autophagy and the cross-talk between them. nature.com. Accessed December 5, 2022. https://www.nature.com/articles/cdd200933

19. Salazar M, Carracedo A, … ÍSTJ of, 2009 undefined. Cannabinoid action induces autophagy-mediated cell death through stimulation of ER stress in human glioma cells. Am Soc Clin Investig. Accessed December 5, 2022. https://www.jci.org/articles/view/37948?ref=nf

20. Koay LC, Rigby RJ, Wright KL. Cannabinoid-induced autophagy regulates suppressor of cytokine signaling-3 in intestinal epithelium. Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol. 2014;307(2). doi:10.1152/AJPGI.00317.2013

21. Lee XC, Werner E, Falasca M. Molecular Mechanism of Autophagy and Its Regulation by Cannabinoids in Cancer. Cancers 2021, Vol 13, Page 1211. 2021;13(6):1211. doi:10.3390/CANCERS13061211

22. Marzo V Di, Petrocellis L De. Plant, Synthetic, and Endogenous Cannabinoids in Medicine. Annu Rev Med. 2006;57(1):553-574. doi:10.1146/annurev.med.57.011205.135648

23. Costa L, Amaral C, Teixeira N, Correia-Da-Silva G, Fonseca BM. Cannabinoid-induced autophagy: Protective or death role? Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2016;122:54-63. doi:10.1016/j.prostaglandins.2015.12.006

24. Zaiachuk M, Pryimak N, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Cannabinoids, Medical Cannabis, and Colorectal Cancer Immunotherapy. Front Med. 2021;8. doi:10.3389/FMED.2021.713153

25. Zaiachuk M, Pryimak N, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Cannabinoids, Medical Cannabis, and Colorectal Cancer Immunotherapy. Front Med. 2021;8. doi:10.3389/fmed.2021.713153

26. Bogdanović V, Mrdjanović J, Borišev I. A Review of the Therapeutic Antitumor Potential of Cannabinoids. J Altern Complement Med. 2017;23(11):831-836. doi:10.1089/acm.2017.0016

27. Piyanova A, Albayram O, Rossi CA,et al. Loss of CB1 receptors leads to decreased cathepsin D levels and accelerated lipofuscin accumulation in the hippocampus. Mechanisms of ageing and development, 2013;134(9):391-399. doi:10.1016/j.mad.2013.08.001

28. Shao BZ, Wei W, Ke P, Xu ZQ, Zhou JX, Liu C. Activating Cannabinoid Receptor 2 Alleviates Pathogenesis of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Via Activation of Autophagy and Inhibiting NLRP3 Inflammasome. CNS Neurosci Ther. 2014;20(12):1021-1028. doi:10.1111/cns.12349

29. Casarejos MJ, Perucho J, Gomez A, et al. Natural Cannabinoids Improve Dopamine Neurotransmission and Tau and Amyloid Pathology in a Mouse Model of Tauopathy. J Alzheimer's Dis. 2013;35(3):525-539. doi:10.3233/JAD-130050

30. Calvaruso G, Pellerito O, Notaro A, Giuliano M. Cannabinoid-associated cell death mechanisms in tumor models (review). Int J Oncol. 2012;41(2):407-413. doi:10.3892/IJO.2012.1476

31. Costa L, Amaral C, Teixeira N, Correia-Da-Silva G, Fonseca BM. Cannabinoid-induced autophagy: Protective or death role? Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2016;122:54-63. doi:10.1016/J.PROSTAGLANDINS.2015.12.006

32. Anderson CM, Macleod KF. Autophagy and cancer cell metabolism. Int Rev Cell Mol Biol. 2019;347:145-190. doi:10.1016/bs.ircmb.2019.06.002

33. Wang B, Kovalchuk A, Li D, Ilnytskyy Y, Kovalchuk I. In Search of Preventative Strategies : Novel Anti- Inflammatory High-CBD Cannabis Sativa Extracts Modulate ACE2 Expression in COVID-19 Gateway Tissues. Prepr (Not Peer Rev. Published online 2020.

34. Milando R, Friedman A. Cannabinoids: Potential Role in Inflammatory and Neoplastic Skin Diseases. Am J Clin Dermatology 2018 202. 2018;20(2):167-180. doi:10.1007/S40257-018-0410-5

35. Bakshi HA, Faruck HL, Ravesh Z, et al. Therapeutic Potential of Cannabinoids on Tumor Microenvironment: A Molecular Switch in Neoplasia Transformation. Integr Cancer Ther. 2022;21:153473542210967. doi:10.1177/15347354221096766

36. Dariš B, Tancer Verboten M, Knez Ž, Ferk P. Cannabinoids in cancer treatment: Therapeutic potential and legislation. Bosn J Basic Med Sci. 2019;19(1):14-23. doi:10.17305/bjbms.2018.3532

37. Boyacıoğlu Ö, Korkusuz P. Cannabinoids as Prospective Anti-Cancer Drugs: Mechanism of Action in Healthy and Cancer Cells. Published online 2022. doi:10.1007/5584_2022_748

38. Blázquez C, Ruiz-Calvo A, Bajo-Grañeras R, et al. Cannabinoid-induced motor dysfunction via autophagy inhibition. Autophagy. 2020;16(12):2289-2291. doi:10.1080/15548627.2020.1827560

39. Paquette M, El-Houjeiri L, Pause A. mTOR Pathways in Cancer and Autophagy. Cancers (Basel). 2018;10(1):18. doi:10.3390/cancers10010018

40. Vara D, Salazar M, … NOHCD&, 2011 undefined. Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. nature.com. Accessed December 5, 2022. https://www.nature.com/articles/cdd201132

41. Lee XC, Werner E, Falasca M. Molecular Mechanism of Autophagy and Its Regulation by Cannabinoids in Cancer. Cancers (Basel). 2021;13(6):1211. doi:10.3390/cancers13061211

42. Wu J, Zhang Z, Teng Z, Abdullah SW, Sun S, Guo H. Sec62 Regulates Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy Balance to Affect Foot-and-Mouth Disease Virus Replication. Front Cell Infect Microbiol. 2021;11. doi:10.3389/fcimb.2021.707107

43. Blázquez C, González-Feria L, Álvarez L, Haro A, Casanova ML, Guzmán M. Cannabinoids Inhibit the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Gliomas. Cancer Res. 2004;64(16):5617-5623. doi:10.1158/0008-5472.CAN-03-3927

44. Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer. Nat Rev Cancer. 2007;7(12):961-967. doi:10.1038/nrc2254

45. Kyriakou I, Yarandi N, Polycarpou E. Efficacy of cannabinoids against glioblastoma multiforme: A systematic review. Phytomedicine. 2021;88:153533. doi:10.1016/j.phymed.2021.153533

46. Doherty GJ, de Paula BHR. Cannabinoids in glioblastoma multiforme—hype or hope? Br J Cancer. 2021;124(8):1341-1343. doi:10.1038/s41416-021-01265-5

47. Chen S, Bu G, Takei Y, et al. Midkine and LDL-receptor-related protein 1 contribute to the anchorage-independent cell growth of cancer cells. J Cell Sci. 2007;120(22):4009-4015. doi:10.1242/jcs.013946

48. Mirkin BL, Clark S, Zheng X, et al. Identification of midkine as a mediator for intercellular transfer of drug resistance. Oncogene. 2005;24(31):4965-4974. doi:10.1038/sj.onc.1208671

49. Shrivastava A, Kuzontkoski PM, Groopman JE, Prasad A. Cannabidiol Induces Programmed Cell Death in Breast Cancer Cells by Coordinating the Cross-talk between Apoptosis and Autophagy. Mol Cancer Ther. 2011;10(7):1161-1172. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-1100

50. Nabissi M, Morelli MB, Amantini C, et al. Cannabidiol stimulates Aml-1a-dependent glial differentiation and inhibits glioma stem-like cells proliferation by inducing autophagy in a TRPV2-dependent manner. Int J Cancer. 2015;137(8):1855-1869. doi:10.1002/ijc.29573

51. Armstrong JL, Hill DS, McKee CS, et al. Exploiting Cannabinoid-Induced Cytotoxic Autophagy to Drive Melanoma Cell Death. J Invest Dermatol. 2015;135(6):1629-1637. doi:10.1038/jid.2015.45

52. Murase R, Kawamura R, Singer E, et al. Targeting multiple cannabinoid anti-tumour pathways with a resorcinol derivative leads to inhibition of advanced stages of breast cancer. Br J Pharmacol. 2014;171(19):4464-4477. doi:10.1111/bph.12803

53. Vara D, Salazar M, Olea-Herrero N, Guzmán M, Velasco G, Díaz-Laviada I. Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. Cell Death Differ. 2011;18(7):1099-1111. doi:10.1038/cdd.2011.32

54. Vara D, Morell C, Rodríguez-Henche N, Diaz-Laviada I. Involvement of PPARγ in the antitumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma. Cell Death Dis. 2013;4(5):e618-e618. doi:10.1038/cddis.2013.141

55. Dando I, Donadelli M, Costanzo C, et al. Cannabinoids inhibit energetic metabolism and induce AMPK-dependent autophagy in pancreatic cancer cells. Cell Death Dis. 2013;4(6):e664-e664. doi:10.1038/cddis.2013.151

56. Pellerito O, Notaro A, Sabella S, et al. WIN induces apoptotic cell death in human colon cancer cells through a block of autophagic flux dependent on PPARγ down-regulation. Apoptosis. Published online April 3, 2014. doi:10.1007/s10495-014-0985-0

57. Notaro A, Sabella S, Pellerito O, et al. Involvement of PAR-4 in Cannabinoid-Dependent Sensitization of Osteosarcoma Cells to TRAIL-Induced Apoptosis. Int J Biol Sci. 2014;10(5):466-478. doi:10.7150/ijbs.8337

58. Torres S, Lorente M, Rodríguez-Fornés F, et al. A combined preclinical therapy of cannabinoids and temozolomide against glioma. Molecular Cancer Therapeutics. 2011;10(1):90-103. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0688

59. Donadelli M, Dando I, Zaniboni T, et al. Gemcitabine/cannabinoid combination triggers autophagy in pancreatic cancer cells through a ROS-

mediated mechanism. Cell Death Dis. 2011;2(4):e152-e152. doi:10.1038/cddis.2011.36

60. Kubajewska I, Constantinescu CS. Cannabinoids and experimental models of multiple sclerosis. Immunobiology. 2010;215(8):647-657. doi:10.1016/j.imbio.2009.08.004

61. El-Azab MF, Wakiel AE, Nafea YK, Youssef ME. Role of cannabinoids and the endocannabinoid system in modulation of diabetic cardiomyopathy. World J Diabetes. 2022;13(5):387-407. doi:10.4239/wjd.v13.i5.387

62. Ramer R, Schwarz R, Hinz B. Modulation of the endocannabinoid system as a potential anticancer strategy. Front Pharmacol. 2019;10(MAY). doi:10.3389/FPHAR.2019.00430/FULL

63. Laezza C, Pagano C, Navarra G, et al. The endocannabinoid system: A target for cancer treatment. mdpi.com. 2020;21(3). doi:10.3390/ijms21030747

64. Kienzl M, Kargl J, Schicho R. The Immune Endocannabinoid System of the Tumor Microenvironment. Int J Mol Sci. 2020;21(23):1-25. doi:10.3390/IJMS21238929

65. Torres S, Lorente M, Rodríguez-Fornés F, et al. A Combined Preclinical Therapy of Cannabinoids and Temozolomide against Glioma. Mol Cancer Ther. 2011;10(1):90-103. doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-0688

66. Emery SM, Alotaibi MR, Tao Q, Selley DE, Lichtman AH, Gewirtz DA. Combined Antiproliferative Effects of the Aminoalkylindole WIN55,212-2 and Radiation in Breast Cancer Cells. J Pharmacol Exp Ther. 2014;348(2):293-302. doi:10.1124/jpet.113.205120

67. Malhotra P, Casari I, Falasca M. Therapeutic potential of cannabinoids in combination cancer therapy. Adv Biol Regul. 2021;79:100774. doi:10.1016/j.jbior.2020.100774

68. Liang X, Tang JC, Liang YL, Jin RA, Cai XJ. Suppression of autophagy by chloroquine sensitizes 5-fluorouracil-mediated cell death in gallbladder carcinoma cells. Cell Biosci. 2014;4(1). doi:10.1186/2045-3701-4-10

69. Armstrong JL, Hill DS, McKee CS, et al. Exploiting cannabinoid-induced cytotoxic autophagy to drive melanoma cell death. J Invest Dermatol. 2015;135(6):1629-1637. doi:10.1038/JID.2015.45

BÖLÜM XIII

SU ÜRÜNLERİNDE FİTOTERAPİ UYGULAMALARI

Phytotherapy Applications in Aquaculture

Azime KÜÇÜKGÜL[1]& Altuğ KÜÇÜKGÜL[2]

[1](Prof. Dr.) Munzur Üniversitesi,
Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri
Yetiştiriciliği Bölümü,
e-mail: akucukgul@munzur.edu.tr
ORCID: 0000-0002-0515-6667

[2](Doç. Dr.) Mustafa Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,
e-mail: altugkucukgul@hotmail.com
ORCID: 0000-0003-4387-6814

1. Giriş

Ülkemizde dâhil tüm dünyada gittikçe büyüyen bir sektör haline gelen su ürünleri üretimi yetiştiricilik yoluyla yıl bazında devamlı bir artış göstermiştir (TUİK 2019). Artışın devamı yetiştiricilik ünitelerinde besleme koşullarının iyileştirilmesi, hastalıklarla verilen mücadele gibi çeşitli faktörlerin etkisi altındadır (1).

Türkiye'nin bütün denizleri; coğrafik, ekolojik, meteorolojik özellikleri itibariyle farklılık arz eder. Bu farklılık özellikle Karadeniz ve Akdeniz arasında daha fazladır. Bu durum yetiştiricilik yönüyle ele alındığında tür çeşitliliği ve bolluğu bakımından birçok avantaj sağlar. Türkiye de su ürünleri yetiştiriciliği 2000'li yılların başından itibaren giderek artmış son yıllarda %50-60 oranlarına ulaşmıştır (2).

Yetiştiricilik çalışmalarının artmasıyla birlikte balık hastalıklarının önemi de artmıştır. Çünkü su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişimini sınırlayan ve ciddi kayıplara neden olabilen önemli faktörlerden birisi balık hastalıklarıdır. Yetiştiricilik ünitelerinde hastalık faktörlerinin en önemli dezavantajı sağlıklı ürün elde edememektir. Bunun yanında, gerek işletme bazında gerekse yerel ve genel üretimde kayıplara yol açması gibi olumsuz etkileri ile ayrıca halk sağlığı, güvenli ve kaliteli su ürünleri sunmayı zorlaştırma, uluslararası standartların dışına çıkma gibi birçok problemleri de beraberinde getirmesi yönüyle üzerinde ciddiyetle durulması gerekli konulardandır.

Yetiştiricilik sistemlerinde geçmişten bugüne balıklarda büyüme ve üremeyi geliştirmek, hastalık durumlarından korumak yâda sağaltımını temin etmek adına çeşitli uygulamalar öngörülmektedir. Bu uygulamalar; katkı maddeli yemler, immün stimulan uygulanımı (güçlü bağışıklık sistemi için), tedavi içerikli antibiyotik, antiparaziter ve antifungal kullanımını kapsamaktadır. Bunlardan özellikle dikkat edilmesi gereken bilinçsiz ve her koşulda antibiyotik kullanımı patojenler üzerinde direnç gelişimine, balıketinde rezidü oluşumuna ya da doğal ekosistemde olumsuz sonuçlara neden olma gibi durumlara sebebiyet verebilmektedir (3, 4)

Bu sentetik ürünlere, kimyasallara, antibiyotiklere karşın son yıllarda balık hastalıklarında da sıklıkla alternatif tedavi olarak bitkisel kaynaklı ürünler (fitoterapi) tercih edilmektedir. Ucuz maliyet içermeleri, düşük dozlarda etki sağlamaları, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, patojenlere karşı etkin olmaları ayrıca çevre dostu olmaları tercih edilme sebepleri olarak düşünülebilir. Bunun yanında birçok literatür ile bitkilerden elde edilen esansiyel yağ, hidrozol, ekstrat vb. kullanımları balık hastalıkları üzerinde de denenmiş içermiş oldukları çeşitli etken maddeler sayesinde olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir. Bu bölümde su ürünleri yetiştiriciliğinde özellikle balık hastalıklarında kullanılan bitkisel kaynaklı tedavinin (fitoterapi) önemi üzerinde durulacaktır.

2. Bitkisel Tedavi

Yüksek kaliteli ürün yetiştiricilik sistemleri içinvazgeçilmezdir. Bu nedenle balıkların optimal çevre standartlarının temin edilmesi sağlıklı olabilmeleri için şarttır. Doğal habitatlarında birçok patojen ile karşı karşıya olmalarına rağmen balıklar diğer memelilere nazaran daha ilkelde olsa güçlü bağışıklıkları nedeniyle nadiren hastalanırlar (5).

Balık yetiştiriciliğinde koruyucu amaçlı aşı uygulamaları geliştirilmiştir (6). Fakat aşılar ticari olarak sınırlı, spesifik, aşı optimal şartlarındaki zorluklar gibi

birçok dezavantaj içermektedir (6, 7). Bunun dışında balıklardaki hastalık kontrol uygulamalarından bir diğeri olan immünstimulan kullanımı kemoterapötüklere ve aşılara alternatif olarak düşünülmüştür (8). Bir immünostimulan olarak da değerlendirilen bitkisel ürünler su ürünleri yetiştiriciliğinde potansiyel uygulamaya sahiptir (9).

Alternatif tıp uygulamalarından birisi olan Yunancadan köken alan (Phyton-bitki; therapeia-tedavi) fitoterapi; hastalıklara engel olmada ya da sağaltımda bitkinin tümü ya da çeşitli kısımlarının (yaprak, çiçek, tohum ve kök vb.) kullanımı olarak bilinmektedir (10).

Fitoterapi terimini 1870-1953 yıllarında ilk olarak Fransız hekim Henri Lenclerc tarafından La Presce Medical adlı dergide kullanılmıştır (11, 12). Aslında geçmiş zamanlarda da her toplum tarafından kullanıldığını birçok yazıtta ifade edilmiştir. Ninova tabletleri (M.Ö.3000) göstermiştir ki antik medeniyetlerde hayvansal ve bitkisel ilaçların kullanımıyla tedavi sağlanmıştır. İlaveten, M.Ö. 2500 yıllarında Çin ve Hint tıbbının önemli temsilcilerinden Rig Veda, eserlerinde birçok şifalı bitkiden bahsetmiştir.

Sentetik kaynaklı ilaçların kullanımı ile ciddi yan etkiler olduğu ve dolayısıyla bundan birçok olumsuzluğun bitkisel ürünler ile tedavi yoluyla giderebileceği düşüncesiyle fitoterapi uygulanımı giderek popüler hale gelmiş ve her alanda (kimya, biyokimya, ilaç endüstrisi vb.) kullanımıyla ilgili literatür bildirilmiştir.

2.1. Bitkisel Ürünlerin Kullanım Alanları

İnsan varoluşundan itibaren bitkilerle ilgilenmiştir. Bitkileri kullanmalarındaki ilk amaç karnını doyurmak olmuştur. Zaman içinde gözlem ve denemelerle bitkilerin farklı ve yeni kullanım alanlarını keşfetmişlerdir. Özellikle yağ, karbonhidrat, protein gibi temel besinlere dahası tıbbi ve aromatik içeriklere sahip olduklarını görmüş bitkilerin ilaç kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Bu nedenle tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı insanlık tarihi kadar gerilere gitmektedir. İlk olarak gıda, baharat gibi amaçlarla kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler sonraları daha farklı sektörlerde (ilaç sanayi, parfüm, kozmetik, şekerleme, diş macunu vb.) kullanılmaya başlanmıştır.

Türkiye oldukça zengin bir bitkisel çeşitlilik sergilemektedir. Bunun nedenleri arasında iklim yapısı, coğrafik özellikleri, jeolojik karakteri ve karasal ve sucul ekosisteme sahip olması gibi özellikleri sayılabilir (13). Türkiye florasında 174 flora kapsamında 1251 cins ve 12000'den fazla tür ve alt tür bulunmaktadır (14). Dolayısıyla bu durum endemik bitki çeşitliliği

doğurmaktadır (yaklaşık 12000). Bunun dışında ülkemizde ticareti yapılan 346 adet bitki türü olup 112 adedinin ihraç edildiği ve ihraç bitki dâhilinde 24 adet endemik tür olduğu bildirilmiştir (13). Türkiye'nin birçok yöresinde yapılan çalışmalarda yetişen doğal bitki türlerinin %10-12'si çeşitli kullanım amaçlarına sahiptir (15). Tüm dünyada bitki ve kısımlarının birçok hastalık için tedavi edici özellikte olduğu bilinmekte ve eskiden beri kullanılmaktadır. Bu nedenle teknolojik gelişim ile paralel olarak bitki kullanım alanlarının doğrulanması, etken maddelerin tanımlanması ve ilaç haline getirilmesi gerekmektedir (16).

Son yıllarda alternatif tedavi yöntemleri, ayrıca gıda ve bitkisel nitelikteki ürünler giderek önemli hale gelmektedir. Bitkisel ürünler ve gıda takviyeleri doğal olmaları nedeniyle güvenli, zararsız ve yan etkilerinin neredeyse olmaması ile sentetik ilaçların yerine kullanımları göz ününde bulundurulmaktadır. Bu olumlu yönler aynı zamanda da bitkisel ürünlerin pazar payının büyümesine katkı sağlamaktadır (17).

Çağdaş fitoterapi kavramı yeni hayata geçirilmiş bir kavram olup uzun zamandır bitki kısımlarının kullanılması ile yapılan tedavi yöntemlerini içine almaktadır. AB üyesi ülkelerde kabul gören bu kavram "Hastalıklardan korunmak yâda tedaviyi desteklemek için tıbbı içerikli bitki veya onların etken maddelerinin dâhil edildiği (drog) yâda bir işlem ile doğal ürünlerden hareketle standardize edilmiş farmasötik formlar (tablet, kapsül, tentür vb.) kullanmak" olarak tanımlanır. Bu nedenle hali hazırda uygulanan fitotrapi yöntemleri aslında çağdaş anlamda bitkiden bitkisel ilaca geçişi (fitofarmasötik) ifade etmektedir (17).

Bitkisel ürünler yemeklerde, doğal lezzeti öne çıkarmak, desteklemek amacıyla baharat olarak kullanılmaktadır. İyileştirici özelliğe sahip bitkiler ise yaprağı kullanılmak suretiyle bitkisel çay formunda tüketilebilmektedir.

Bitkisel kökenli esansiyel yağlar kullanılarak bir tedavi yöntemi olan aromaterapi tedavi ve lezzetlendirici gibi amaçlar için yağın içine kokuyu verecek olan bitki organı (çiçek, tohum, vb.) ilave edilmesi ile tedavi amaçlı kullanılmaktadır (18). Aromaterapik yağlar; tedavide haricen kullanılmakta, masaj, kompres, inhalasyon ve banyo şeklinde de uygulanabilmektedir. Tedavi amaçlı kullanılan bitkilerden en çok tercih edilenleri *Achillea millefolium* L. (civan perçemi), *Coriandrum sativum* L. (kişniş), *Melissa officinalis* L. (oğulotu), *Pimpinella anisum* L. (anason), *Thymus vulgaris* L. (akdeniz kekiği)'dir.

2.2. Bitkisel Ürünlerin Kullanım Formları

2.2.1. Ekstrakt

Uzun yıllardır insanlarda merak uyandıran bitkisel ilaçlar sağlıklı olmak ve doğal yollardan sağlığa kavuşmak için kullanılmaktadır. En fazla ve yaygın olarak kullanılan bitkilerin başında ise nane, adaçayı, ısırgan otu ve kekik yer almaktadır. Daha çok ekstraktlar halinde kullanılan bu bitkilerin aktif bileşenlerinin biyo-aktivitesinin, saf aktif bileşenlerinkine göre daha etkin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bitkisel ekstraktların kullanımı dünyanın dikkati alternatif doğal ilaçlara yönlendirmiştir.

Ekstrakt en yalın haliyle bitki özü anlamında kullanılmaktadır. Kurutulmuş bitkilerin özel ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak temin edilen bitki özlerine esktrakt denir. Bitkiden alınabilecek en büyük fayda ekstrakt sayesinde sağlanır (Resim 2.1.). Standardize, ratio şeklinde, toz yâda sıvı formunda üretilebilir. Su, alkol vb. çözücülerin kullanımıyla kurutulmuş yâda taze bitki yapraklarının, meyvelerinin, çiçeklerinin, reçine ve odun kısımlarının saflaştırılması, bileşenlerinin ayrılması, toksik maddelerden arındırılması ve kararlılığın arttırılması amacıyla belirli sıcaklık ve basınç altında işleme tabi tutulması gerekmektedir. Ekstraktlar devamlı ekstraksiyon, maserasyon, perkolasyon vb. yöntemlerle hazırlanmaktadır.



Resim 2.1. Bitki ekstraktları (19)

Alkoloidler, vitaminler, yağ asitleri, glikozidler ve çeşitli reçineler içeren bitki ekstraktları birçok yarar sağlamaktadır. Çay ve kahvede bulunan

bir alkoloid olan kafein sinir sistemini tetiklemektedir. Aynı zamanda kafein içeriğine sahip medikal diğer alkoloidler kinin, morfin, nikotin olarak bilinmektedir. Bir diğer örnek söğüt ağacı kabuğundan temin edilen salisindir. Bitkiye göre değişmekle beraber içeriğinde yer alan yağ asitleri steraik, linolenik ve linoleik asitlerdir. Kanser tedavisinde kullanılan bazı bileşikleri doğal bileşiklerinde bulunduran bitkilerde bulunmaktadır. Bitkinin yetiştiği yer, toprak, mevsim gibi birçok faktör bitkisel ekstrakların özelliklerini oluşturmaktadır. Ayrıca bitkisel kökenli ekstraktlar kullanım amacına göre farmakolojik etkileri, saflık ve toksisite dereceleri dikkatlice değerlendirilmeli ve özenle kontrol edilmelidir.

2.2.2. Uçucu Yağ

Bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilen (meyve, çiçek, yaprak, tohum, kök vb.) uçucu ve aromatik karakterli bitki özütleri sahip olduğu çeşitli özelliklerden dolayı aromatik yağ, eterik yağ, esansiyel yağ, hidrosol vb. isimlerle anılmaktadır. Hidrofobik karakterde olan suda çözünmeyen ancak çeşitli organik çözücülerle çözünebilen uçucu yağ bulundukları yapıların zedelenmiş ve/veya parçalanmış hücrelerinden dışarı sızarlar (20). Sahip oldukları tüm bu özellikler nedeniyle uçucu yağlar distilasyon (damıtma), presleme ve ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilebilirler. Daha çok elde edilen uçucu yağlar açık sarı renkli yada renksiz olup oda şartlarında sıvı, uçucu, bitkiye has spesifik kokulu, yağımsı özellikte olmaktadırlar. Gliserid yapı içermezler. Uçucu yağlar ve bileşenleri nitel ve nicel özellikleri dikkate alındığında; bitkinin cinsine, yaşına, iklim, sıcaklık, nem, toprak gibi yetiştirilme koşullarına, hasat durumlarına, depolama şartlarına ve elde edilen yönteme göre değişiklik gösterebilmektedir. Uçucu yağ oranı yüksek olan bitkiler sıcak ülkelerde (tropik) özellikle Akdeniz bölgesine dâhil ülkelerde yetişmektedir (21).

Yapılarında iki binden fazla bileşik içeren uçucu yağların çoğu gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi analizi ile kemotiplendirilmiştir (20). Karakteristik özelliklerini ise makro miktarlarda bulunan bileşenler oluşturmaktadır. Yapılan birçok çalışmada bileşenler arası sinerjistik ve antagonistik etkiler değerlendirilmiş; yapı bileşenlerinin ise çoğunlukla terpenoidler (isoprenoitler) ve terpenlerden oluştuğu, ayrıca fenol türevi aromatik bileşikler, alifatik karbonlar (düşük moleküllü), asitler, alkoller, aldehitler, daha az olmakla azot ve sülfür içeren bileşikler, kumarinler ve fenil propanoidlerin homologlarından kaynaklandığı bildirilmiştir (22, 23).

5.3. Bitkisel Ürün Bileşenleri

Bitkilerin kimyasal molekülleri primer ve sekonder metobolitler olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Primer olanlar temel yaşam faaliyetleri (üreme, gelişme ve büyüme) yönetirken; sekonder olanlar ise primer metabolitler tarafından biyosentetik yollarla üretilmektedir (24).

Protein, karbonhidrat, lipid, hem ve nikleik asit vb. bileşikler primer karakterde olup hücre üretimi ve korunmasında rol oynar (25). Fenolik bileşikler (fenilpropanoitler, flavonoidler, kateşinler, taninler gibi), terpenoidler (mono ve seskiterpenler, saponinler, iridoitler gibi) ve polisakkaritler gibi bileşiklerden oluşan sekonder bileşikler bitkinin özellikle ilaç yapımında kullanılan alkaloitler (kinidin, morfib gibi), terpenoidler (digosin vb.) içermektedir. Bu bileşiklerin çoğu protein, nükleik asit ve biomembran etkinliği spesifik olmayan yollarla tetiklemektedir (26). Birçok çalışma özellikle bitki içeriğinde yer alan sekonder metabolitler üzerine yoğunlaşmıştır ki bunlar arasında en sıklıkla çalışılan fenolik bileşiklerdir. Bunun ana sebebi fenolik bileşiklerin antioksidan, antikanserojenik, antimikrobiyal ve antimutajenik vb. biyolojik aktiviteye sahip olmalarından ileri gelmektedir (27, 28).

Bitki özütleri ile yapılançalışmalarda bitkiye has aktif bileşiğin saflaştırılarak kullanılmasının daha yararlı olduğu bildirilmiş, buna neden olarak ise saponin yâda polifenol gibi bileşiklerin etkinliği az olsa dahi bitkinin aktif bileşeninin çözünme katsayısını yükselterek biyo-yararını arttırması ileri sürülmüştür (26, 29). Bunun yanında bitki içeriğinde bulunan bileşenlerin sinerjistik etkinliği de sentetik farmasötiğin gösterebileceği yan etkileri elemine edebilmektedir (25).

5.4. Klinik Fitoterapi

Tıbbi bitkilerle tedavi insanoğlunun yerleşik hayata geçmesi kadar eski zamanlardan beri gelen bir gelenektir. Bitki kaynaklı ürünler (ekstrakt, esansiyel yağ, ilaç vb.) az gelişmiş ülkelerde özellikle kırsal alanlarda gelenek ve kültürlerin önemli bir kısmını teşkil etmektedir (30). Aynı zamanda bu ürünler birçok kronik seyirli hastalıkların (hipertansiyon, diyabet, kanser vb.), depresyon gibi psikolojik rahatsızlıkların, gastrointestinal sorunların giderilmesin ve fiziksel performansın arttırılmasında oldukça fazla tercih edilmektedir (31, 32).

Bitkilerden köken alan ürünler ile oluşturulan tıbbi bitkiler zamanımızda birçok hastalığın tedavisinde kullanılan bileşimlerin doğal kaynağıdır (33). İnsanlar üzerinde biyolojik etki gösteren kimyasal maddeler birçok bitkinin

içeriğinde bulunmaktadır (30). Örneğin enfeksiyon kaynaklı rahatsızlıkların tedavisi için kullanılan flavonoid, terpenoid, kinin, tanin, alkaloid gibi kimyasallar birçok bitki tarafından sentezlenmektedir (34).

Doğal antioksidan kaynaklar olarak değerlendirilen bitki ve ürünleri ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve sentetik antioksidan ve koruyucuların yerine kullanılabileceğine dair raporlar sunulmuştur (35, 36). Bunun dışında, bitkilerden elde edilen uçucu yağ formulasyonları ve bileşiklerinin farmakolojik özellikleri incelenmiş endüstri, kozmetik ve tıp gibi alanlarda yararlı kullanıma sahip oldukları belirtilmiştir (37).

Birçok enfeksiyonun tedavisi amacıyla kullanılan antibiyotiklere karşı direnç geliştiren mikroorganizmaların artması nedeniyle son yıllarda alternatif arayışlara gidilmiş ve tıbbi bitkilerin doğal antimikrobiyaller olarak kullanılabileceği çalışmalarla desteklenmiştir (38). Bu çalışmalarda bitkisel tedavi olarak bitkiye has kimyasal bileşenlerin sinerjistik etkinliğinin tek bir etken maddeye göre daha yararlı olacağı, bu nedenle daha faydalı bir tedavi göstereceği bildirilmiştir (39, 40). Tüm bu çalışmalar ışığında araştırıcılar bitki özütlerinden temin edilen doğal antimikrobiyal ajanların inhibitör etkili bileşimlerini incelemeyle başlamışlardır (41).

Birçok uçucu yağ etken maddelerine göre değişmekle beraber koloretik, diüretik, antimikrobiyal, karminatif, sedatif vb. etkiler göstermektedir (42). Yeni oluşmuş yaraların tedavisine kullanılan bazı bitkilerin, yaraların iyileşmesi ve dokunun oksidatif zarardan korunmasında fayda sağlayabileceğini göstermektedir (43). Aloe vera bitkisi ile yapılan bir diğer çalışmada, deride oluşan yanık tedavisinde iyileşme hızını arttırdığı bildirilmiş, acemanan (mannoz 6-fosfat) ile fibroblastları uyardığı ve kolajen sentezi üzerinde olumlu etkiler yaptığı, aynı zamanda antiinflamatuar, antimikrobiyal ve nemlendirici özellikte olduğu rapor edilmiştir (44). Sinop'ta yapılan bir çalışmada Berber ve ark. (45) 15 adet bitkiden elde ettikleri ekstraktların8 farklı mikroorganizmaya denemişler ve ileri düzeyde antimikrobiyal özellikli olduğunu bildirmişlerdir, ayrıca bu bitkilerin kimyasal kompozisyonlarını belirlemişler ve etken maddelerinin enfeksiyon kaynaklı hastalıkların tedavisi için bazı sentetik antibiyotiklere karşı kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Antimikrobiyal etki odaklı birçok çalışma göstermiştir ki bitki esansiyel yağı bitkinin karakteristik aromasından sorumlu olup antimikrobiyal etkiyi sağlamaktadır. Elbette bitki türü, kompozisyonu, mikroorganizma türü, bitkinin işleme, depolama koşulları vb. birçok faktör antimikrobiyal aktiviteyi etkilemektedir(46).

3. Balık Hastalıklarında Fitoterapi Uygulamaları

Sağlıklı beslemede katkısı oldukça fazla olan su ürünleri taşıdığı yüksek protein içeriği ile önemlidir. Bu nedenle yetiştiriciliği gün be gün artmaktadır. Ancak, üretimindeki artış ile beraber bazı olumsuz faktörler (stres, aşırı stok, su parametrelerindeki ani değişimler gibi) ciddi ekonomik kayıplar doğurmakta ve infeksiyöz hastalıklara zemin hazırlamaktadır (47, 48).

Birçok mikroorganizma (bakteri, virüs, mantar vb.) çeşitli infeksiyöz hastalıkların etkeni olarak bilinmekte ve bu ajanlara karşı çeşitli kimyasal içerikli antimikrobiyal bileşenler kullanılmaktadır. Fakat sağlık ve çevre güvenliği açısından yan etkilere sahip olan bu bileşenlerin gün geçtikçe kullanımlarında kısıtlama gözlenmiştir. Özellikle antibiyotik kullanımı balık dokularında rezidü oluşumu, antibiyotiğe dirençli mikroorganizma gelişimi gibi birçok handikap gösterdiğinden hem çevre hem de tüketici açısından ciddi probleme sebep olabilmektedir (49, 50). Bu sebepler göz önüne alındığında balık hastalıkları açısından da daha doğal, yan etkisi olmayan alternatif uygulama arayışları başlamıştır.

Kimyasallarla tedaviye göre daha ucuz ve etkili olabilen bitkisel tedavi su ürünleri sektörü içinde alternatif bir potansiyel oluşturmaktadır (51). Literatürde balıklar için iştah ve ağırlık arttırma, daha güçlü bağışıklık, antiparazit, antimikrobiyal etkiler gibi çalışmalarda bitkisel ürünlerin içeriğinde mevcut olan alkoloid, terpenoid, flavonoid, sapnin gibi aktif moleküllerden yararlanılmıştır (48, 52, 53). Bunun birlikte enfeksiyona karşı tedavi yöntemleri olarak yine bitkisel ürünler balık hastalıkları için birçok araştırıcı tarafından çalışılmıştır (54-58). Tıbbi ve aromatik kaynaklı bitkisel çalışmalarda su ürünleri yetiştiriciliği için en fazla tercih edilen bitkilerin başında nane (*Mentha piperita),* fesleğen (*Ocimum basilicum*) (59), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kekik (*Thymus vulgaris*) (55, 60) gibi Lamiaceae (Ballıbabagiller) familyasına dâhil bitkiler tercih edilmiştir.

Su ürünleri yetiştiricilik işletmelerinde tıbbi ve aromatik bitkilerle tedavi birçok durumda değerlendirilmiş (antimikrobiyal, bağışıklık sistemi, antioksidan, antifungal vb.) bunlar aşağıda özetlenmiştir.

6.1. Bitkisel Ürünlerin Balıkların Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkileri

Non-spesifik bağışıklıkta düzenleyici rol üstlenen bitkisel ürünler balık hastalıkları için kullanılan kimyasal, antibiyotik gibi maddelerin kullanımını azaltarak maliyeti düşürmede önemli roller üstlenebilir (6-64). Bitkisel kaynaklı

ürün tercihlerinde bitkisel immünstimulanların kolayca vücut tarafından absorbe edilip büyük oranda emilebilme, tek bir maddeden ziyade destekleyici madde, vitamin, eser element, antimikrobiyal etkinlik içerme, kimyasal gibi kalıntı bırakmama ve vücuttan atılım hızının kolay olması, hücre tarafından emilebilecek molekül ağırlığına sahip olma vb. önemli kriterlerdendir (65).

Güçlü bir immün sistem için bitkisel ürünlerin baz alındığı çalışmalardan birisi olan *Ocinum sanctum*'dan elde edilen bir ekstrat tilapia balıkları üzerinde denenmiş ve nötrofil aktivitesinde artışlar saptanmış, aynı zamanda *Aeromonas hydrophila*'ya karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir (59). Ponpornpisit ve ark. (66) tarafından yapılan bir diğer araştırmada birçok bitki ile elde edilen bir karışım olan C-UPIII, *Tetrahymena pyriformis* adlı bir parazit ile enfekte edilen lepistes (*Poecilia reticulata*) balıkları üzerinde denenmiş hastalığa karşı direnç geliştirdiği bildirilmiştir. İntraperitonel olarak balıklara enjekte edilen Cheimmun adlı bitkisel bir karışımın (*Echinacea angustifolia, Eupatorium perfoliatum, Baptisia tinctoria*) fagositoz aktivitesinde artış gösterdiği bir başka çalışmayla ortaya konmuştur (67). Gökkuşağı alabalıklarında üç farklı bitkisel ekstraktın (*Zingiber officinale, Urtica dioica ve Viscum album*) balık dietlerine eklenmesi ile oluşturulan denemede solunum patlama kapasitesi ve bakterisidal aktivitede olumlu sonuçlar kaydedilmiştir (68). Sivaram ve ark. (69) çalışmalarında orfoz (*Epinephelus tauvina)* balıklarında yüksek mortalite gösteren *Vibrio harveyi* üzerinde bitkisel ekstratları kullanmış bu bitkilerden Ocimum *sanctum* ve *Withania somnifera*'nın balıkların büyümesini ve immün sistemini olumlu etkilediği; ancak *Myristica fragrans*'ın bağışıklık sistemini baskıladığı bildirilmiştir.

6.2. Balıklarda Bitkisel Ürünlerin Antiparaziter Etkileri

Balıklarda ektoparazit olarak yaşayan monogenean parazitler (*Dactylogyrus, Gyrodactylus* ve *Neobenedenia*) tüm dünyada önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (70, 71). Balık parazitik enfeksiyonlarında tedavi giderlerini azaltma, daha iyi parçalanmak suretiyle çevre için kalıntıya sebep olmama, buna ilave olarak zengin içeriklere sahip olma gibi potansiyelleri nedeniyle bitkisel tedavi kullanımı ön plana çıkmaktadır (59, 72, 73).

Sarımsak (*Allium sativum)* ilaveli yemlerle beslenen Asya levreği olarak bilinen barramundi (*Lates calcarifer*) balıklarında Neobenedenia sp. monogenean enfeksiyonuna karşı antiparazitik etkiler Militz ve ark. (74) tarafından araştırılmıştır. İki farklı konsantrasyona (50 ml/kg ve 150 ml/kg) maruz bırakılan balıklar 10 ve 30 gün boyunca beslenmişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğimde,

bir ay boyunca beslenen balıklarda her iki konsantrasyonda da enfeksiyonun %70 oranında elemine edildiği saptanmıştır. Araştırıcılar Neobenedenia sp. enfeksiyonu için deniz balıklarında sarımsak ekstresinin yeme ilave edilmesi suretiyle kullanılabileceğini rapor etmişlerdir. Bir diğer çalışmada, Yavuzcan Yıldız & Bekcan (75) sazan balıklarında sarımsak (*Allium sativum*) ve soğan (*Allium cepa*) ekstreslereinin bir monogena olan *Gyrodacthlus elgans*'a karşı etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışma *in vivo* ve *in vitro* olarak yürütülmüş olup *in vitro* denemeler 250, 125, 100, 50 ve 10 mg/ml konsantrasyonlarda sarımsak ve soğan ekstreleriyle oluşturulmuştur. Uygulanan tüm konsantrasyonlarda G. *elegans* kümülatif mortalitesinin 6 dakika içinde % 100'e ulaştığı gözlenmiştir. İn vivo denemelerde ise EC_{50}konsantrasyonu hesaplanmış ve 8.37 mg/ml sarımsak (*A. sativum*) ve 4.72 mg/ml soğan (*A. cepa*) ekstresi banyo tarzında sazanlara 3 dakika boyunda uygulanmıştır. *G. elegans* ortalama yoğunluğunun ise sarımsak ekstresi sonucu balıklarda %14.40, soğan ekstresi için ise %19.79 oranında azaldığı belirlenmiştir. Stres parametrelerinde (hematokrit, plazma glukoz ve plazma laktat) ise hafif değişiklikler saptanmış ve 1 saat içinde normal değerlere döndüğü rapor edilmiştir.

Cichlidogyrus tilapiae, *C. thurstonae*, *C. halli*, *Scutogyrus longicornis* monogenean parazitleri ile infekte Nil tilapiaları üzerinde yapılan bir diğer çalışmada nane (*M. piperita)* ve biberiye (*Lippia sidoides) uçucu yağlarının antiparazitik etkileri hem in vivo hemde in vitro olarak belirlenmiştir (*57). Biberiye yağının etkin olduğu ancak hematolojik değişimlere sebep olduğu gözlenmiş ve tavsiye edilmemiştir. Nane yağının ise balıklarda herhangi bir olumsuzluğa (vücut yüzeyinde değişim, ölüm vb.) sebep olmadığı ve güvenilir olduğu bildirilmiştir. Nane yağının kullanıldığı bir diğer araştırmada ise Ferreira ve ark. (76), siyah pacu (*Collosoma macropomum)* balıklarında bir dinoflagellat olan *Pisciboodinium pillul*are karşı etkileri incelenmişlerdir. 20 ve 40 mg/l nane yağı uygulanmış her iki grupta da parazit yükünün önemli oranlarda azaldığı bildirilmiştir.

İnfekte tilapia balıkları (*Oreochromis mossambicus) üzerinde limon kabuğu uçucu yağının etkileri Edwardsiella tarda*'ya karşı denenmiş balıkların büyüme performansı ve non-spesifik bağışıklık sistemleri üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda mortalite oranlarında ise önemli azalmalar kaydedilmiştir (77).

Konu ile ilgili literatürler göstermiştir ki balıkların parazitik infeksiyonları açısından kimyasallar ile tedaviye göre bitkisel kökenli ürünlerin kullanımı insan, balık ve çevre açısından daha az yan etkiye sahiptir. Aynı zamanda antiparazitik

çalışmalarda bitkisel tedavinin kullanımına daha fazla önem verilmesi gerektiği düşünülmektedir. Buna ilaveten özellikle toksisite olmaksızın doz ve süre tespit çalışmaları bu alanda önem taşımaktadır.

6.3. Balıklarda Bitkisel Ürünlerin Antifungal Etkileri

Balıklarda mikotik hastalıklar özellikle kuluçkahanelerde ciddi sorunlar ortaya çıkarabilmektedir. İkincil etkenler olarak görülen mantar enfeksiyonları hastalığın seyri ve prognozuda bu nedenle etkilemektedir. Genelde organik materyalce zengin sularda gelişen mantarlar diğer faktörlerinde etkisi altında da (olumsuz çevresel faktörler, sağım ve nakil gibi durumlar neticesinde gözlenebilen yaralanmalar, kötü su kalitesi vb.) gelişebilmektedir (78-81).

Mikotik enfeksiyonlarda özellikle etkenin tanımlanması ve uygun tedavi koşullarının sağlanması biraz daha zor olabilmektedir. Buna en büyük neden hastalığa birden fazla türün sebep olmasıdır. Buna rağmen fungal hastalıklarda en büyük genusun Saprolegnia olduğu birçok araştırıcı tarafından literatüre eklenmiştir (79, 82). Bu cins içinde sucul canlılarda ki özellikle balıklarda *S. parasitica, S. ferax* ve *S. diclina* en önemlileridir (82).

Yukarıda bahsi geçen etkenlerden herhangi biri ile infekte olmadan önce balıklarda rutin kontrollerinin yapılması, su parametrelerinin periyodikolarak izlenmesi, kuluçkahanelerde sterilizasyon ve dezenfeksiyona dikkat edilmesi, stres koşullarından mümkün olduğunca uzak tutulması, mekanik işlemlerin dikkatli yapılarak zedelenmeye yol açmaması, balık stoklamada gerekli sayıya dikkat edilmesi ve iyi bakım koşullarının sağlanması önemlidir (79, 81). Mantar hastalıklarının tedavisinde birçok kimyasal kullanılmaktadır. Bunlar arasında en çok tercih edileni malaşit yeşilidir. Fakat tümör gibi durumlara sebebiyet vermesi, gıdalara karışabilmesi, mutagenik karakterde olması ile birçok ülkede yasaklı listesine girmesine sebep olmuştur (79, 83, 84). Bunun yanında hidrojen peroksit, iyodoforlar, formalin vb. sıklıkla kullanılan fungisitlerdir.

Son zamanlarda balık yetiştiriciliğinde bu kimyasalların olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için bitkisel kökenli ürünlerden (ekstrakt, uçucu yağ vb.) yararlanıldığı bilinmektedir (85, 86).

Eucalyptus globulus, M. piperita, Salvia officinalis ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarının miks kullanıldığı çalışmada, gökkuşağı alabalıklarının yumurtaları üzerinde antifungal etkiler değerlendirilmiş ve malaşit yeşili ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak araştırıcılar *Saprolegnia parasitica* ve *Fusarium solani* mantarlarının bitkisel karışımın dozuna bağlı olarak antifungal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (87).*Curcuma longa* (zerdaçal) ekstraktının antifungal

etkileri ise birkaç patojen üzerinde denenmiş ve etkin olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmada *Saprolegnia diclina'*nın MIC değeri 2500, *S. parasita* 2500, *Achyla channae* 1250 ve *Aphanomyces piscicida* ise MIC 62,5 µg/ml olarak saptanmıştır (88). *Oncorhynchuds mykiss* yumurtalarından teşhis edilen *S. parasitica* üzerinde yapılmış bir diğer çalışmada iki uçucu yağ ve beş ekstrakt (ethanol) kullanılmış *Tanacetum parthenium, Mentha longifolia* ve *Satureja bachtiarica'* ya ait ekstraktlar 31.25, 62.5 ve 125 µg/ml MIC değerleri göstermiştir. 0.63 µl/ml MIC ise uçucu yağlarda (Thymus daenensis ve T. *khuzestanicum)* izlenmiştir (89).

6.4. Balıklarda Bitkisel Ürünlerin Antibakteriyel Etkileri

Balık bakteriyel enfeksiyonlarında tedavi için son yıllarda çeşitli kemoterapötikler kullanılmaktadır. Ancak beraberinde gözlenen birtakım olumsuzluklar (dirençli bakteri gelişimi gibi) doğal bitkilerden elde edilen ürünlerin kullanımını ön plana çıkarmış özellikle anti stres, büyüme performansı, bağışıklık sisteminde uyarıcı etki yapma vb. birçok faktör buna öncülük etmektedir (90). Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde bilindiği gibi kullanılan antibiyotik uygulamaları rezidü sorunu, akülüme problemi açısından da hem balık hem tüketici açısından risk faktörü olarak değerlendirilmesi hasebiyle alternatif uygulamalar değerlendirilmiş ve bu hususta bitkisel kökenli ürünler tercih edilmiştir(49, 50) Bitkisel ürünlerden daha çok uçucu yağ; terpenoid, fenol, flavanoid, alkoloid gibi aktif bileşenlerinden dolayı önemli anti-mikrobiyal özellikler göstermiş ve infeksiyöz hastalıkların tedavisi için önemli rol oynamıştır (52, 69, 91).

Konu ile ilgili çalışmalar incelendiğine;

Ekici ve ark. (92), birkaç bitki uçucu yağını çeşitli balık patojenleri üzerinde denemiş ve antimikrobiyal özelliklerini rapor etmişlerdir. Buna göre patojenler üzerinde zencefil, karabaş, kekik, melisa ve biberiye uçucu yağlarının etkin olduğu bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise Streptococcus iniae etkenine karşı 4 uçucu yağ antibakteriyel özellikleri yönüyle incelenmiş en etkili olanın tarçın uçucu yağı olduğu raporlanmıştır. Bu nedenle tarçın yağının kimyasal kompozisyonları aynı çalışma ile belirlenmiş majör bileşen olarak % 90,24 ile cinnamaldehyde tespit edilmiştir (93). Küçükgül ve ark. (52) tarafından yapılan in vivo araştırmada Lipopolisakkarit (LPS) ile stimüle edilmiş gökkuşağı alabalığının böbrek ve karaciğerinde karvakrol destekli yemlemenin etkileri çalışılmış bazı sitokin ve apoptoz belirteçlerindeki seviyeler değerlendirilmiştir. LPS'nin etkisi ile gen ekspresyon seviyelerinde up-down regülasyonlar

kaydedilmiştir. Karvakrol destekli yemlemenin ise bu değerler üzerinde etkin rol oynadığı raporlanmıştır. Yine balık patojenlerine karşı (Y. ruckeri, L. garvieae ve A. hydrophila) uçucu yağların değerlendirildiği başka bir araştırmada uygulanan doz ile antibakteriyel etkinliğin paralel olduğu gösterilmiş, aynı zamanda türe bağlı olarak aktiviteninde etkilendiği bildirilmiştir (94). Khan ve ark. (95) tarafından yapılan çalışmada ise Staphylococcus aureus, M. luteus, E. coli, P. aeruginosa, Enterobacter cloacae ve K. pneumoniae bakterilerine karşı Lonicera lanceolata bitkisinden hazırlanan 15 ekstraktların antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiş ve tüm ekstraktların antibakteriyel özelliğe sahip olduğu rapor edilmiştir. Labeo balıklarında (Labeo victorianus) limon kabuğu uçucu yağının araştırıldığı bir başka denemede balıkların biyokimyasal, büyüme oranları, immünolojik parametre değerleri Aeromonas hydrophila'a karşı incelenmiş ve antimikrobiyal etkiler incelenmiştir. Balıkların büyüme durumlarında artışlar izlenmiş, plazma kortizol ve glikoz seviyelerinde ise azalmalar kaydedilmiştir. Bu azalmalar ise balığın strese karşı verdiği tepki olarak yorumlanmıştır. Metin ve ark. (96) çeşitli balık bakterileri ile karanfil ve nane yağlarını bir araya getirmiş ve antibakteriyel özellikleri açısından değerlendirmiştir. Karanfil uçucu yağının güçlü etkiye sahip olduğu diğerinin ise orta derecede etkin olduğu bildirilmiştir.

7. Sonuç ve Öneriler

Balık yetiştiriciliğinde (özellikle kuluçkahane) antibiyotik, aşı ve çeşitli kemoterapötik uygulamaları son yıllara kadar yaygın olarak kullanılmaktaydı. Fakat dirençli mikroorganizma gelişimi, doğru teşhiste karşılaşılan problemler gibi birçok olumsuzluk doğru zamanda doğru ilaç kullanılması, düzenli koruyucu tedbir uygulamaları ve hastalık kontrollerinin muntazam yapılmasının önemini bir kez daha vurgulamış ve ön plana çıkarmıştır (97, 98).

Koruma tedbirlerinden birisi olan aşılama spesifik karakter göstermesi, pahalı olması gibi birçok handikap içermesi yönüyle hastalıklarla mücadele yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle ulaşımı daha kolay, daha ucuz ve spesifitesi az uygulamalar arayışına ihtiyaç hissedilebilmektedir. Bunlardan birisi olan immünstimulan kullanımları geniş spektrumlu olması, profilaktik özelliğe sahip olması, çevreye dost ve yemle kolay uygulanması, immün sistemi baskılaması gibi pek çok avantaj gösterse de yine de eksik kaldığı yönler olabilmektedir.

Ülkemizde son zamanlarda hızla gelişen bir sektör haline gelen su ürünleri yetiştiriciliğinde birçok infeksiyöz hastalıklar kısıtlayıcı olarak

görülmekte ve tedavi edici uygulamalar sıklıkla uygulanmaktadır. Ancak birçok uygulama sahip olduğu avantajlardan çok dezavantajlar ile yarardan çok zarar oluşturmakta ve beraberinde ciddi ekonomik kayıplar ortaya çıkarabilmektedir. Bunlara ilaveten ise balık üreticisinin bilgisiz deneyimsiz olması ayrı bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Hâlbuki pek çok balık hastalığının da alınacak önlemlerle giderilebileceği bilinmektedir. Balık hastalıklarına karşı profilaktik ve küratif olarak uygulanabilecek hazır preparasyonların olmaması, var olan kimyasalların da pahalılığı nedeniyle, zengin bitki örtüsüne sahip ülkemizde tıbbi bitkilerden yararlanarak bu soruna kısmen de olsa çözüm getirilebilir.

Son zamanlarda ise bitkisel kökenli ürünlerin kullanımı balık yetiştiricileri için alternatif bir tedavi olarak değerlendirilmiş ve uygulanabilirliği birçok çalışma ile de vurgulanmıştır. Aynı zamanda tıbbi kökenli bitkilerin içerdikleri biyoaktif bileşenler sayesinde etkinlikleri de (antimikrobiyal, antiparaziter, antifungal vb.) ziyadesiyle ortaya konmuştur.

Bundan sonraki araştırmalarda balık yetiştiriciliğinde tıbbi bitkilerle ilgili çalışmalar *in vivo* ve *in vitro* olarak birlikte değerlendirilmeli ve elde edilen sonuçların desteklenmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Baba E. Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Bitkisel İmmunostimulant Kullanımı. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 2017; 7(3): 249-256.

2. FAO 2018. FAO Yearbook, Fishery and Aquaculture Statistics 2016, Rome. 104pp.

3. Çelikkale MS, Düzgüneş E & Okumuş İ. Fisheries Sector in Turkey: Potential, current state, constraints and recommendations (in Turkish), İstanbul Ticaret Odası, Yayın No:1999(2), İstanbul: 414, Lebib AS; 1999

4. Olatoye IO & Afisu B. Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (Clarias gariepinus) in Ibadan, Nigeria. World Journal of Fish and Marine Sciences, 2013; 5 (3): 302-309.

5. Magnadottir B). Innate immunity of fish. Fish Shellfish Immunology, 2006; 20: 137–151.

6. Sommerset I, Krossoy B, Biering E & Frost P. Vaccines for fish in aquaculture. Expert Rev. Vaccines, 2005; 4(1), 89-101.

7. Zapata AG, Torraba M, Alverez F, Anderson OP, Oixon AW & Wisiniewski M. Eleetron mic:roskopic exa· minalion ol antıgen uptake by

salmonid giU cells afıer bath immunizalion wilh abaeterYı J Fish Biol. 1987; 31. 209- 217.

8. Aoki, T. Chemotherapy and Drug Resistance in Fish Farm in Japan. In: Shariff, M., Subasinghe, R.P. andArthur, J.P., Eds., Diseases in Asian Aquaculture, Vol. 1, Asian Fisheries Society, Manila, 1992; 519-529.

9. Yin G, Jeney G, Racz T, Xu P, Jun X & Jeney Z. Effect of two Chinese herbs (Astragalus radix and Scutellaria radix) on non-specific immune response of tilapia, Oreochromis niloticus. Aquaculture, 2006; 253: 39–47.

10. Parildar H, Serter R & Yesilada E. Diabetes mellitus and phytotherapy in Turkey. J Pak Med Assoc, 2011; 61(11): 1116.

11. Sert E, Sert A, Kalaycı MZ, Sakarya AA & Yüksel ŞB. Ağız ve diş sağlığı'nda fitoterapinin yeri. Integr Tıp Derg, 2015; 3: 35-40.

12. Sarışen Ö & Çalışkan D). Fitoterapi: bitkilerle tedaviye dikkat. Sted Dergisi, 2005; 14/8: 182-7.

13. Yaylı N. Uçucu Yağlar ve Tıbbi Kullanımları, 1. Ilaç Kimyasi, Üretimi, Teknolojisi, Standardizasyonu Kongresi, Kimyagerler Derneği, Antalya, 2013; 29-31 Mart, s. 1-8.

14. Kendir G & Güvenç A. Etnobotanik ve Türkiye'de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış, Hacettepe Ü., Eczacılık Fak. Dergisi, 2010; 30(3): 49-80.

15. Aslan N. Endemik tıbbi bitkilerimiz. II. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Yalova, 23–25 Eylül 2014, s. 9-21.

16. Şener B. Bitkisel İlaçlar ve Bitkisel İlaç Mevzuatı, Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, Zeytinburnu, İstanbul, 5-6 Haziran, 2010; s. 153-171.

17. Kartal M & Erdem SA. Bitkisel Ürünlerde Dünya Pazarı ve Türkiye, MİSED, 2012; 27-28: 38-43.

18. Yücel E. Tıbbi Bitkiler 1(A-L) Ders Notları, Eskişehir, 2008; 48-53.

19. URL-3 2019. www.saglik.tr.net/genel saglik bitkilerle tedavi.shtmlurl Bitkilerle Tedavi 14 Mayıs 2021.

20. Çelik E & Çelik GY. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 2007; 5(2): 1-6.

21. Bayaz M. Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. Akademik Gıda, 2014; 12(3): 45-53.

22. Başer HC. Uçucu Yağlar Ve Aromaterapi, 2009; https://www.researchgate.net/publication/291972230_Ucucu_yaglar_ve_aromaterapi 15 Mayıs 2021.

23. Evren M & Tekgüler B. Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri, Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 2011; 9(3): 28-40.

24. Ülger TG & Yabancı Ayhan N. Bitki Sekonder Metabolitlerinin Sağlık Üzerine Fonksiyonel Etkileri. ACU Sağlık Bil Derg, 2020; 11(3):384-390.

25. Briskin DP. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. Plant Physiol, 2000; 124(2):507-14.

26. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Medicines, 2015; 2(3):251-86.

27. Kolaç T, Gürbüz P & Yetiş G. Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. İ.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, 2017; 5(1): 26-42

28. Pekdemir S, Çiftçi M & Karatepe M. Elazığ'da Yetişen Polygonum cognatum Meissn (Madımak) Bitki Ekstraktlarının In vitro Biyolojik Aktiviteleri ve Bazı Fitokimyasal Bileşenlerinin Belirlenmesi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2020; 18: 368-378.

29. Yeşilada E. Hekim ve bitkisel ilaç; bilmek ya da bilmemek. TAF Prev Med Bull, 2009; 8(3):259-62.

30. Njume C, Afolayan AJ, Ndip RN. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of Helicobacter pylori Infections. Afr. J. Pharm. Pharmacol., 2009; 3:685-699.

31. Bent S. Herbal medicine in the United States: Review of efficacy, safety, and regulation. J Gen Intern Med, 2008; 23:854–859.

32. Kucukoner M, Bilge Z, Isıkdogan A, Kaplan MA, Inal A & Urakci Z. Complementary and alternative medicine usage in cancer patients in southeast of Turkey. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013; 10:21-25.

33. Vital, P.G, Rogelio N. Velasco Jr. R.N, Josemaria M. Demigillo, J.M, Rivera W.L. Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical screening of Ficus septica Burm and Sterculia foetida L. leaf extracts. Journal of Medicinal Plants Research, 2010; 4(1): 58-63

34. Hussain T, Arshad M, Khan S, Satar H & Qureshi MS. In Vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. Pak. J. Bot., 2011; 43:531-538.

35. Dorman HJD, Deans SG & Noble RC. Evaluation in vitro plant essential oils as natural antioxidantS. Journal of Essential Oil Research, 1995; 71, 645-651.

36. Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V, Venuti V, Sulfaro V, De Pasquale A & Saija A. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical comparision of some spice essential oils. Food Chemistry, 2005; 89: 549-554.

37. Kırbağ S & Bağcı E. Picea abies (L.) Karst. ve Picea orientalis (L.) Link uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi üzerine bir araştırma.Journal of Qafqaz University, 2000; 3 (1), 183-190.

38. Yarnell E, Abascal K. The Leading Publisher in Biotechnology. Alternative & Complementary Therapies, 2004; 10(5) : 277- 284.

39. Shanthi Sree KS, Yasodamma N, Paramageetham CH. Phytochemical screening and ın vitro antibacterial activity of the methanolic leaf extract: Sebastiania chamaelea Müell. Arg. The Bioscan, 2010; 5: 173 -175.

40. Mohd Nazri NA A, Ahmat N, Adnan A, Syed Mohamad S A, Syaripah Ruzaina SA. In vitro antibacterial and radical scavenging activities of Malaysian table salad. African Journal of Biotechnology, 2011; 10:5728-5735.

41. Dash BK, Sultana S, Sultana N. Antibacterial activities of methanol and acetone extracts of Fenugreek (Trigonella foenum) and Coriander (Coriandrum sativum). Life Sci and Med. Res., 2011; 27: 1-8.

42. Maksimovicz A, Dordevic S, Mraovic M. Antimicrobial activity of Chenopodium botrys essential oil. Fitoterapİa. 2005; 76: 112-114.

43. Khalil EA. Evaluation of the wound healing effect of some Jordanian traditional medicinal plants formulated in Pluronic F127 using mice (Mus musculus). Journal of Ethnopharmacology, 2007; 109: 104- 112.

44. Maenthaisong R. The efficacy of aloe vera used for burn wound healing: A systematic review. Burns, 2007; 3(3) :713- 718.

45. Berber İ, Avşar C, Çine N, Bozkurt N, Elmas E. Sinop'da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi, 2013; 3 (1): 10-16.

46. Sağdıç O. Sensitivity of Four Patogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols. Lebensm.-Wiss.u.-Technol. 2003; 36: 467-473.

47. Cabello FC. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environ Microbiol, 2006; 8: 1137–1144.

48. Reverter M, Bontemps N, Lecchini D;, Banaigs B & Sasal P. Use of Plant Extracts in Fish Aquaculture as an Alternative to Chemotherapy: Current Status and Future Perspectives. Aquaculture, 2014; 433:50-61.

49. Zheng ZL, Tan JYW, Liu HY. Evaluation of Oregano Essential Oil (Origanum heracleoticumL.) on Growth, Antioxidant Effect and Resistance Against Aeromonas hydrophilain Channel Catfish (Ictalurus punctatus). Aquaculture, 2009; 292(3-4): 214-218.

50. Okmen G, Ugur A, Sarac N, Arslan T. In vivo and in vitro Antibacterial Activities of Some Essential Oils of Lamiaceae Species on Aeromonas salmonicidaIsolates from Cultured Rainbow Trout, Oncorhyncus mykiss. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012; 11(15):2762-2768.

51. Soares BV, Tavares-Dias M. Espécies de Lippia (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. Biota Amaz, 2013; 3: 109–123.

52. Küçükgül A, Küçükgül A, Gülsafak I. Bio-functions of carvacrol supplemented feeds on lipopolysaccharide-induced rainbow trout (Oncorhynchus mykiss Walbaum, 1792). Iranıan Journal of Fısherıes Scıences, 2019; 18(2): 205-214.

53. Küçükgül A, Küçükgül A. Apoptotic effects of artificial feed supplemented with Thymus vulgaris on Oncorhynchus mykiss against Yersinia ruckeri. Indian Journal of Geo-Marine Sciences, 2017; 46(06): 1170-1174.

54. Küçükgül A, küçükgül A, Metin T. Investigation on the effects of Inula viscosa L. on rainbow trout gonad cells induced by lipopolysaccharide. Journal of Fisheries, 2021; 9(1): 1-7.

55. Küçükgül Güleç A, Danabaş D, Ural M, Seker E, Arslan A, Serdar O. Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to Yersinia ruckeri infection. Acta Veterinaria Brunensis, 2013a; 82:297–302.

56. Gabriel NN, Qiang J, He J, Ma XY, Kpundeh MD, Xu P. Dietary Aloe vera supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against Streptococcus iniae in tilapia (GIFT). Fish Shellfish Immunology, 2015; 44:504–514.

57. Hashimoto GSO, Marinho Neto F, Ruiz ML, Acchile M, Chagas EC, Chaves FCM, Martins ML. Essential oils of Lippia sidoidesand Mentha piperitaagainst monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. Aquaculture 2016; 450, 182–186.

58. Diler Ö, Görmez Ö, Terzioğlu S & Atabay A. Pelin Otu (Artemisia vulgaris L)' nun Gökkuşağı Alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss, Walbaum) Hastalıklara Karşı Direnç ve Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Reaserch, 2018; 4(1): 1-11.

59. Logambal SM, Venkatalakshmi S, Michael RD. Immunostimulatory effect of leaf extract of Ocimum sanctum Linn. İn Oreochromis mossambicus (Peters). Hydrobiologia, 2000; 430(1-3): 113-120.

60. Kucukgul Gulec A, Kucukgul A, Danabas D, Ural M, Seker E, Aslan A, Serdar, O. Therapeutic effects of thyme (*Thymus vulgaris*, Linneaus) and fennel (*Foeniculum vulgare*, Miller) essential oils in infected rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss,* Walbaum). Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 2013b; 8(3): 1069-1078.

61. Galeotti M. Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation. Journal of Applied Ichthyology, 1998; 14: 189-199.

62. Sakai M. Current Status of Fish Immunostimulants. Aquaculture, 1999; 172: 63-92.

63. Jeney G, Jeney SZ. Application of immunostimulants for modulation of the non-specific defense mechanisms in sturgeon hybrid: *Acipenser ruthenus×A. Baerii*. J. Appl. Ichthyol., 2002; 18: 416–419.

64. Fu YW, Hou WY, Yeh ST, Li CH, Chen JC. The immunostimulatory effects of hot water extract of Gelidium amansii via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp Litopenaeus vannamei and its resistance against Vibrio alginolyticus. Fish Shellfish Immunology, 2007; 22: 673–685.

65. Poppenga RH. Herbal medicine: Potential for intoxication and interaction withconventional drugs. Clinical Techniques in Small Animal Practice, 2002; 17: 6–18.

66. Ponpornpisit A, Endo M, Murata H. Prophylactic effects of chemicals and immunostimulants in experimental Tetrahymena infections of guppy. Fish Pathology, 2001; 36: 1-6.

67. Peddie S, Secombes CJ. The immunostimulatory effects of Chevimmun in the rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 2003; 23: 48-51.

68. Dügenci SK, Arda N, Candan A. Some medicinal plants as immunostimulants for fish. Journal of Ethnopharmacology, 2003; 88: 99-106.

69. Sivaram V, Babu MM, Citarasu T, Immanue lG, Murugadass S, Marian MP. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (Epinephelus tauvina) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against Vibrio harveyi infections. Aquaculture, 2004; 237: 9 –20

70. Deveney MR, Chisholm LA, Whittington ID. First published record of the pathogenic monogenean parasite Neobenedenia melleni (Capsalidae) from Australia. Diseases of Aquatic Organisms, 2001; 46(1): 79-82.

71. Woo PTK, Bruno DW, Lim LHS. Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture. 2002; CABI.

72. Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal medicine. Expanded commission E monographs. 2000; Integrative Medicine Communications.

73. Olusola SE, Emikpe BO, Olaifa FE. The potentials of medicinal plant extracts as bio-antimicrobials in aquaculture. Int. J. Med. Aromat. Plants, 2013; 3(3): 404-412.

74. Militz TA, Southgate PC, Carton AG, Hutson KS. Dietary supplementation of garlic (Allium sativum) to prevent monogenean infection in aquaculture. Aquaculture, 2013; 408: 95-99.

75. Yavuzcan Yildiz H & Bekcan S. Control of ectoparasitosis in carp (Cyprinus carpio) induced by Gyrodactylus elegans (Monogenea) with garlic (Allium sativum) and onion (Allium cepa) extracts. Ecocycles, 2020; 6(1): 10-17.

76. Ferreira LC, da Cruz MG, Lima TBC, Serra BNV, Chaves FCM, Chagas EC, Ventura AS & Jerônimo G.T. Antiparasitic activity of Mentha piperita (Lamiaceae) essential oil against Piscinoodinium pillulareand its physiological effects on Colossoma macropomum(Cuvier, 1818). Aquaculture, 2019; 512: 734-343.

77. Baba E, Acar Ü, Öntaş C, Kesbiç OS & **Yılmaz S. Evaluation of** Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia Oreochromis mossambicuschallenged with Edwardsiella tarda. Aquaculture, 2016; 465: 13-18.

78. Bailey TA. Method for in vitro screening of aquatic fungicides. Journal of Fish Diseases 1993; 6: 91-100.

79. Bruno DW & Wood BP. Saprolegnia and Other Ooomycetes, Fish Diseases and Disorders. In: Viral, Bacterial and Fungal Infections, eds. Woo, P. T. K. and Bruno, D. W., 1999; 3: 599-653.

80. Willoughby LG & Roberts RJ. Towards strategic use of fungicides against Saprolegnia parasitica in salmonid fish hatcheries. Journal of Fish Diseases 1992; 15: 1-13.

81. Arda M; Selçuk S & Sarıeyyüpoğlu M. Balık hastalıkları. Medisan Yayın serisi: 61, II. Baskı Ankara. 2005, s. 230.

82. Diler Ö. Saprolegniasis Hastalığının Patogenesisi ve Isparta Bölgesi Balık İşletmelerindeki Dağılımı Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi, A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, 1992; Ankara. 117s.

83. Fernandes C, Lalitha VS & Rao KVK. Enhancing Effect of Malachite Gren on the Development of Hepatic Pre-Neoplastic Lesions Induced by N-nitrosodi-ethylamine in Rats. Carcinogenesis, 1991; 12: 839-845.

84. Atamanalp M, Bayır A, Sirkecioğlu AN & Cengiz M. Bir Dezenfektanın (Malahit Yeşili) Subletal Dozlarının Gökkuşağı alabalığı (Oncorhyncus mykiss) Kan Parametreleri Üzerine Etkileri. G. Ü., Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 2003; 23 (3): 177-187.

85. Kıvanç M & Akgül A. Antibacterial Activities of Essential Oils from Turkish Species and Citrus. Flavour and Fragrance Journal, 1986; 1: 175-179.

86. Dığrak M, Bağcı E, Alma MH. Antibiotic Action of Seed Lipids from Five Tree Species Grown in Turkey. Pharmaceutical Biology, 2002; 40 (6): 425-428.

87. Mousavi SM, Mirzargar SS, Mousavi HE, Omidbaigi R, Khosravi A, Bahonar A. Antifungal and toxicity effects of new combined essential oils on Oncorhynchus mykiss in comparison with malachite green. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology, 2012; 4(2): 1-8.

88. Udomkusonsri P, Kongkathip N, Kongkathip B, Boonma S, Trongvanichnami K, Kaewmokul S, Kusucharit N. Antifungal Activities of Turmeric Crude Extract on the Fish Pathogenic Fungi In vitro. Proceedings of 32nd Congress on Science and Technology of Thailand (CD version), 2006; 1-3.

89. Pirbalouti AG, Taheri M, Raisee M, Bahrami RH, Abdizadeh R). In vitro Antifungial Activity of Plant Extract on Saprolegnia parasitica from Cutaneous Lesions of Rainbow Trout Eggs. J. of Food Agricultue & Environment, 2009; 7 (2): 94-96.

90. Rodriguez JM, Martinez MI, Horn N, Dodd HM. Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol. 2003; 80: 101-116.

91. Citarasu T, Babu MM, Marian MP. Application of biomedicinal products for improving marine shrimp larval production. Aqua-Terr. Annual Symposium. School of Biological sciences, MK. University, Madurai, 1998, India.

92. Ekici S, Diler Ö, Didinen BI, Kubilay A. Balıklardan izole edilen bakteriyel patojenlere karşı bazı bitkisel uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesi. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 2011; 17: 47-54.

93. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. Annals Bio Research, 2010; 1(4): 218-228.

94. Görmez Ö, Diler Ö. Balık Patojenlerine Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktivitesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi, 2017; 2 (1): 112-122.

95. Khan A, Nazir S, Tahir K, Khan ZUH, Wu N, Yasmeen R, Ali I. Antimicrobial Assay of Methanolic Crude of Lonicera lanceolata. African Journal of Microbiology Research, 2014; 8(26): 2534-2539.

96. Metin S, Didinen BI, Mercimek EB, Ersoy AT. Bazı bakteriyel balık patojenlerine karşı bazı bakteriyel uçucu yağlarının antibakteriyel aktivitesi. Yunus Araştırma Bülteni, 2017; 1:59-69.

97. Kirkan S, Goksoy OE, Kaya O, Tekbiyik S. In-vitro antimicrobial susceptibility of pathogenic bacteria in rainbow trout (O. mykiss, Walbaum). Turk. J. Vet. Anim. Sci., 2006; 30: 337-341.

98. Kum C, Gökbulut C, Akar F, Kırkan Ş, Sekkin S. Gökkuşağı alabalıklarında (Oncorhynchus mykiss) Enterococcus seriolicida izolasyonu ve etkili antibakteriyel sağaltım seçeneğinin belirlenmesi. Vet. Hek. Dern. Derg, 2004; 75: 47-53.