



**ENDOMETRİTİS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *CANNABIS SATIVA*
L.'NİN TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ece TUNÇ

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Duygu BAKİ ACAR

Tez No: 2026-012

Afyonkarahisar

**T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**ENDOMETRİTİS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *CANNABIS SATIVA*
L.'NİN TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ece TUNÇ

**Danışman
Prof. Dr. Duygu BAKİ ACAR**

Tez No: 2026-012

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir.**

**Proje No:
“25.SAĞ.BİL.06”**

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

Öğrencinin	Adı- Soyadı	Ece TUNÇ
	Numarası	223339001
	Anabilim Dalı	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı
	Program	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora
Tezin Başlığı		Endometritis Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Cannabis sativa L. 'nin Tedavi Edici Etkinliğinin ve Biyofilm Oluşumuna Etkisinin Araştırılması
Tez Savunma Sınav Tarihi		06.07.2026
Tez Savunma Sınav Saati		11:00
Yukarıda bilgileri verilen tez, Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.		
Başkan	Prof. Dr. Mürşide Ayşe DEMİREL	
Üye	Prof. Dr. Duygu BAKİ ACAR (Danışman)	
Üye	Prof. Dr. Fatih AVDATEK	
Üye	Doç. Dr. Gökhan BOZKURT	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Muhammed Kürşad BİRDANE	
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / / tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır. Prof. Dr. Mustafa TEKERLİ Enstitü Müdürü		

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

06/07/2026

İmza

Ece TUNÇ

ÖZET

ENDOMETRİTİS MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA *CANNABİS SATİVA* L.'NİN TEDAVİ EDİCİ ETKİNLİĞİNİN VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Bu çalışmada, *Escherichia coli* (*E. coli*) kaynaklı endometritis olgularına karşı *Cannabis sativa* L. tohum yağının tek başına ve antibiyotik ile kombine kullanımının biyofilm oluşumuna etkisi ile tedavi edici etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırma, 42 adet dişi Sprague Dawley sıçan üzerinde yürütülmüştür. Uterusa patojenik *E. coli* inokulasyonu yapılarak deneysel endometritis modeli oluşturulmuş ve sıçanlar Sham, Sham Cannabis, Taşıyıcı, Antibiyotik, Cannabis, Kombine olmak üzere rastgele altı gruba ayrılmıştır. Yirmi bir günlük deneysel sürecin ardından mikrobiyolojik koloni sayımları, biyofilm analizleri, vajinal sitoloji, histopatolojik incelemeler, Tümör Nekrozis Faktör- α (TNF- α), İnterlökin-1 β (IL-1 β) sitokin ve Zonula Occludens-1 (ZO-1) protein seviyeleri analiz edilmiştir. İn vitro analizlerde *Cannabis sativa* L. yağının biyofilm oluşumunu doza bağımlı olarak %77,6'ya varan oranda inhibe ettiği belirlenmiştir. İn vivo bulgulara antibiyotiğin tek başına doku hasarını önlemede yetersiz kaldığı, Kombine ve Cannabis gruplarının histopatolojik lezyon skorlarının ise diğer tedavi gruplarına kıyasla istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ($P=0.000$) ölçüde düştüğü belirlenmiştir. En düşük doku TNF- α seviyesi Kombine grupta ölçülmüş ve gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur ($P=0.028$). Taşıyıcı grupta yüksek olan koloni sayısı ve biyofilm oluşumu ($P=0.000$), Kombine grupta belirgin ölçüde sınırlandırılmıştır. IL-1 β ve ZO-1 seviyelerinde ise anlamlı bir fark görülmemiştir. Sadece antibiyotik kullanımının kronik endometritiste biyofilm tabakasını aşma ve doku hasarı onarımında yetersiz kaldığı sonucuna varılmıştır. *Cannabis sativa* L. ekstraktının antibiyotik tedavisiyle kombine edilmesinin, aşırı inflamasyonu baskılayarak doku onarımını hızlandırdığı ve biyofilm kaynaklı enfeksiyonlara karşı sinerjik bir alternatif tedavi protokolü sunduğu kanıtlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, *Cannabis sativa* L., *E. coli*, Endometritis, Sıçan

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE THERAPEUTIC EFFICACY AND EFFECT OF *CANNABIS SATIVA L.* ON BIOFILM FORMATION IN RATS WITH ENDOMETRITIS MODEL

This study aimed to evaluate the effect of *Cannabis sativa* L. seed oil, alone and in combination with antibiotics, on biofilm formation and its therapeutic efficacy against *Escherichia coli*-induced endometritis cases. The research was conducted on 42 female Sprague Dawley rats. An experimental endometritis model was created by inoculating the uterus with pathogenic *E. coli*, and rats were randomly divided into six groups: Sham, Sham Cannabis, Carrier, Antibiotic, Cannabis, and Combined. Following a twenty-one-day experimental period, microbiological colony counts, biofilm analyses, vaginal cytology, histopathological examinations, Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), and Zonula Occludens-1 (ZO-1) protein levels were performed. In vitro analyses determined that *Cannabis sativa* L. oil inhibited biofilm formation in a dose-dependent manner at a rate of up to 77.6%. In vivo findings revealed that the antibiotic alone was insufficient in preventing tissue damage; however, the histopathological lesion scores of the Combined and Cannabis groups were found to decrease to a statistically highly significant degree ($P=0.000$) compared to the other treatment groups. Furthermore, the lowest tissue TNF- α level was measured in the Combined group, and the difference between the groups was found to be significant ($P=0.028$). The colony count and biofilm formation, which were high in the Carrier group ($P=0.000$), were markedly limited in the combined treatment. No significant difference was observed in IL-1 β and ZO-1 levels. It was concluded that the use of antibiotics alone in chronic endometritis is insufficient to overcome biofilm and repair tissue. It has been proven that combining *Cannabis sativa* L. extract with antibiotic treatment accelerates tissue repair by suppressing excessive inflammation and offers a synergistic alternative treatment protocol against biofilm-associated infections.

Keywords: Biofilm, *Cannabis sativa* L., *E.coli*, Endometritis, Rat

ÖNSÖZ

Sunulan çalışmada endometritis modeli oluşturulan sıçanlarda *Cannabis Sativa* L.'nin tedavi edici etkinliği ve biyofilm oluşumuna etkisi araştırılmıştır.

Doktora eğitimim süresince, tez çalışmamın her aşamasında mesleki tecrübesini ve değerli bilgilerini bütün içtenliğiyle benimle paylaşan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemi asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Prof. Dr. Duygu BAKİ ACAR'a,

Asistanlığa başladığımdan beri bilgi ve destekleriyle yanımda olan Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Mehmet UÇAR, Prof. Dr. Hacı Ahmet ÇELİK, Prof. Dr. Erhan ÖZENÇ, Prof. Dr. Oktay YILMAZ, Dr. Öğretim Üyesi M. Kürşad BİRDANE ve Dr. Öğretim Üyesi Ebubekir YAZICI'ya, tez çalışmamın deney aşamasında destek ve bilgilerini benden esirgemeyen Sayın Prof. Dr. M. Ayşe DEMİREL, Doç. Dr. Mustafa ESER'e, çalışmamın asıl maddesi olan *Cannabis sativa* L. 'nin temini ve analizlerini gerçekleştiren Doç. Dr. Hülya DOĞAN hocama ve histopatolojik analizlerimi gerçekleştiren Dr. Öğretim Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL hocama, çalışmamın istatistik analizlerini gerçekleştiren Prof. Dr. Sinan SARAÇLI hocama, tez çalışmam sırasında önüme çıkan engelleri aşmama yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Abuzer ACAR'a, tez projemi maddi olarak destekleyen Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimi'ne (BAPK) ve tezimin deney aşamasında desteğini esirgemeyen Uzm. Vet. Hek. Aslıhan ÖZDİL ile Vet. Hek. İlayda Doğa ÇAL'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maddi manevi hayatımın her anında yanımda olan, bugünlerimi borçlu olduğum sevgili annem Çiler BAŞ, babam Burhan BAŞ ve tez çalışmam esnasında yanımda olan kardeşim Ege BAŞ'a, destekleri için kayınvalidem-kayınpederim Hüriye TUNÇ, Mehmet TUNÇ'a tez çalışmamın her aşamasında emeği olan en büyük desteğim, eşim Ahmet Cihat TUNÇ'a ve varlıkları en büyük hediyem canım kızlarım Zeynep Erva TUNÇ ile Azra Elay TUNÇ'a, sonsuz sevgi ve teşekkürlerimle.

Ece TUNÇ
Afyonkarahisar

2026
İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	SAYFA
KABUL VE ONAY SAYFASI	
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	
ÖZET	I
SUMMARY	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
RESİMLER DİZİNİ	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
1.1. Uterus Enfeksiyonları	2
1.1.1. Metritis	3
1.1.2. Endometritis	5
1.1.3. Endometritis Patogenezi	6
1.1.4. Endometritis Tanısı	9
1.1.5. Endometritiste Koruyucu Hekimlik	12
1.1.6. Endometritiste Güncel ve Alternatif Tedaviler	13
1.2. <i>Cannabis sativa</i> L.	22
2. MATERYAL ve METOT	27
2.1. <i>Cannabis sativa</i> L. Yağının Hazırlanması ve İçeriğinin Analizi	27
2.2. <i>E. coli</i> İzolasyonu ve Moleküler Yöntemle Tanımlanması	28
2.3. <i>E. coli</i> Süspansiyonun Oluşturulması	29
2.4. <i>Cannabis sativa</i> L. Yağının Biyofilm Oluşumunda İn Vitro Etkinlik Düzeyinin Analizi	30

2.5. Endometritis Modelinin Oluşturulması	31
2.6. Vajinal Sitoloji	31
2.7. Deney Grupları ve Tedavi Uygulamaları	32
2.8. Deneyin Sonlandırılması	33
2.9. Uterus İçeriğinin Mikrobiyolojik İncelenmesi	33
2.10. Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi	34
2.11. Dokulardan Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi	34
2.12. Dokulardan TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 Analizi	35
2.13. Histopatolojik Analizler ve Uterus Ağırlık Ölçümü	36
2.12. İstatistiksel Analizler	37
3. BULGULAR	38
3.1. <i>Cannabis sativa</i> L. Yağ Asit Bileşenleri	38
3.2. <i>E.coli</i> İzolasyonu ve Moleküler Tanı Bulguları	40
3.3. İn Vitro Ortamda <i>Cannabis sativa</i> L. Yağının Biyofilm Oluşumunda Etkinlik Analizi Bulguları	42
3.4. Vajinal Sitoloji Bulguları	46
3.5. Uterus İçeriğinin Mikrobiyolojik Bulguları	49
3.5. Biyofilm ve SEM Bulguları	51
3.6. TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 Bulguları	54
3.7. Uterusun Makroskopik ve Histopatolojik Analiz Bulguları	56
4. TARTIŞMA	66
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	79
6. KAYNAKLAR	81
7. EKLER	94
ÖZGEÇMİŞ	95

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

°C: Derece Santigrat

µg: mikrogram

µl: mikrolitre

µm: mikrometre

ADMA: Asimetrik dimetilarjinin

BHBA: β-hidroksibutirik asit

B. cereus: Bacillus cereus

BHBA: Beta Hidroksi Bütirik Asit

C16:0: 16 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyan doymuş yağ asidi

C18:0: 18 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyan doymuş yağ asidi

C18:1: 18 karbon atomu içeren ve 1 çift bağ bulunduran tekli doymamış yağ asidi

C18:2: 18 karbon atomu içeren ve 2 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi

C18:3: 18 karbon atomu içeren ve 3 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi

C20:1: 20 karbon atomu içeren ve 1 çift bağ bulunduran tekli doymamış yağ asidi

C20:4: 20 karbon atomu içeren ve 4 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi

C22:0: 22 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyan doymuş yağ asidi

CAS: Chemical Abstracts Service (Kimyasal madde kayıt sistemi)

CB1: Kanabinoid reseptör tip 1

CB2: Kanabinoid reseptör tip 2

CBC: Kannabikromen

CBD: Kannabidiol

CBDv: Kannabidivarin

CBG: Kannabigerol

CBL: Kannabisiklol

CBN: Kannabinol

CCFA: Sefovfur kristalin serbest asit

CEH: Kistik Endometriyal Hiperplazi

CINC-1: Sitokinle uyarılan nötrofil çekici faktör
CL: Korpus luteum
COL-1: Kollajen-1
DDAH2: Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
di-GMP: Siklik diguanosin monofosfat
DMSO: Dimetil sülfoksit
E. coli: Escherichia coli
EGF: Epidermal Büyüme Faktörü
EnPEC: Endometriyal Patojenik *E. coli*
EPS: Ekstraselüler polimerik matriks
ESR1/ESR2: Hücresel östrojen reseptörü
g: Gram
GPR18: G proteinine bağlı reseptör 18
GPR55: G proteinine bağlı reseptör 55
GPx: Glutasyon peroksidaz
HRP: Horseradish Peroxidase
i.m.: İntra muskular
i.v: İntra venöz
IL-10: İnterlökin-10
IL-1 α : İnterlökin-1 alfa
IL-1 β : İnterlökin-1 beta
IL-6: İnterlökin-6
IL-8: İnterlökin-8
LH: Lüteinleştirici hormon
LPS: Lipopolisakkaritler
MBC: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MIC: Minimum inhibitör konsantrasyon
mnh: Mononükleer hücre
MPO: Miyeloperoksidaz
MSA: Metilselenat
MSC: Selenometiyonin
MSS: Merkezi sinir sisteminde
MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri (Monounsaturated Fatty Acids)
NAC: N-asetilsistein

NCBI: National Center for Biotechnology Information
NED: Negatif enerji dengesi
NEFA: Esterleşmemiş yağ asitleri
NF-κB: Nükleer Faktör kappa B
nm: nanometre
O₂: Oksijen
O₃: Ozon
OD: Optik dansite / Optik yoğunluk
P : İstatistiksel fark (P değeri)
P. aeruginosa: Pseudomonas aeruginosa
PAMP: Patojenle ilişkili moleküler paternler
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu
PGF2α: Prostaglandin F2 alfa
PMN: Polimorfonükleer nötrofiller / Polimorfik çekirdekli hücre
PRP: Trombositten zengin plazma
PRR: Patojen tanıma reseptörü
PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated Fatty Acids)
QS: Quorum sensing
ra: Korelasyon Katsayısı
ROS: Reaktif oksijen türleri
RT: Retansiyon süresi
s.c. : Subcutan
Se: Selenyum
SEM: Taramalı Elektron Mikroskop
SFA: Doymuş yağ asitleri (Saturated Fatty Acids)
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences Inc.
Strep. Zooepidemicus: Streptococcus zooepidemicus
T. pyogenes: Trueperella pyogenes
TCSs: İki bileşenli sinyal iletim sistemleri
THC / Δ9-THC: Delta-9-tetrahidrokannabinol / Tetrahidrokannabinol
THCv: Tetrahidrokannabivarin
TLR4: Tool like reseptör
TNF-α: Tümör nekrozis faktör alfa / Tümör nekroz faktörü alfa

TNF- β : Tümör nekroz faktörü beta

UD: Uterusta Dejenerasyon

UEBH: Uterusta Endometriyal Bez Hiperplazisi

UH: Uterusta Hiperemi / Uterusta Hemoraji

UMNHI: Uterusta Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu

VKS: Vücut kondisyon skoru

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

wt%: Ağırlık yüzdesi

ZO-1: Zonula Occludens-1



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. TNF- α düzeylerinin karar ağacı analizi bulguları	63
Şekil 3.2 Uterus koloni sayısının karar ağacı analizi bulguları	65



RESİMLER DİZİNİ

	SAYFA
Resim 2.1. ELISA Reader Cihazları	35
Resim 3.1. Enfeksiyonlu dokudan izole edilen <i>E.coli</i> 'nin petri görüntüsü. a) Esosin metilen blue agarda <i>E.coli</i> . b) Violet red bile agarda <i>E.coli</i> .	40
Resim 3.2. Deneysel sürecin 10. gününe ait <i>E. coli</i> inokulasyonu yapılan grupların vajinal svap görüntüleri	46
Resim 3.3. Deneysel sürecin 5., 10. ve 14. gününe ait <i>E. coli</i> inokulasyonu yapılan grupların vajinal sitoloji görüntüleri	47
Resim 3.4. Uterus dokularına ait SEM görüntüleri	53
Resim 3.5. Uterus dokusundaki gruplar arası farklılıkları yansıtan histopatoloji görüntüleri	56
Resim 3.6. Sakrifikasyon sonrası uterusun makroskopik görüntüleri	56

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 2.1. Narlı çeşidine ait kannabinoid kompozisyonu	28
Çizelge 3.1. <i>Cannabis sativa</i> L. yağ asidi kompozisyonu	39
Çizelge 3.2. Etken maddelere ait in vitro antibiyofilm deneyi absorbans sonuçları (A570 nm)	44
Çizelge 3.3. <i>Cannabis sativa</i> L. yağına ait in vitro antibiyofilm deneyi % inhibisyon değerleri	44
Çizelge 3.4. Antibiyotik in vitro antibiyofilm deneyi % inhibisyon değerleri	45
Çizelge 3.5. Çalışma gruplarının doku örneklerindeki koloni sayısı ve biyofilm(A570 nm) değerleri ($\bar{x} + SD$)	50
Çizelge 3.6. TNF- α (pg/mL), IL-1 β (ng/mL) sitokin ve ZO-1(ng/L) proteini ölçümleri ($\bar{x} + SD$)	55
Çizelge 3.7. Histopatolojik skorlar (UH, UD, UMNHI, UEBH) ve grupların uterus ağırlıklarının (gr) ölçümleri ($\bar{x} + SD$)	59
Çizelge 3.8. Histopatolojik skorlar, uterus ağırlıkları (gr), koloni sayısı, biyofilm(A570nm) ve TNF- α (pg/mL), IL-1 β (ng/mL) ile ZO-1(ng/L) arasındaki korelasyon analizi	61

1.GİRİŞ

Doğumdan sonra, ineklerin tekrar gebe kalabilmesi için uterus involüsyonunun gerçekleşmesi, endometriyumun rejenerasyonu, ovaryum siklik aktivitesinin yeniden başlaması ve uterustaki patojenik bakterilerin kontrol altına alınması gerekmektedir. Ancak, modern süt sığırı işletmelerinde postpartum dönem uterus hastalığına neden olan endometriyumun bakteriyel enfeksiyonları yaygındır ve reproduktif verimliliğin düşmesine hatta infertiliteye neden olmaktadır (Sheldon vd., 2009). Postpartum dönem uterusunda yaşanan başlıca klinik problemler metritis ve endometritis olarak bilinmektedir. *Escherichia coli* (*E. coli*) , *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*) ve anaerobik patojenik bakterilerin kolonizasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Sheldon ve Owens 2017). Uterus enfeksiyonları reproduktif verimliliği azaltmakla birlikte yem tüketimi ve süt verimini de azaltmakta dolayısıyla sürü sağlık maliyetlerini de arttırmaktadır (Lewis 1997). Süt endüstrisinin önümüzdeki 50 yıl içinde sürdürülebilir bir şekilde yoğunlaşması için, yüksek süt verimli ineklerin uterus patolojisine duyarlılığının sebeplerine odaklanarak uterus hastalıklarını önlemek ve tedavi etmek amacıyla alternatif yollar geliştirmek önem taşımaktadır (Sheldon ve Owens 2017). Endometritis, kısıraklarda da infertilitenin önemli bir nedeni olarak bilinmektedir (Troedsson 1999, LeBlanc 2010). Kısıraklarda görülen endometritis akut enfeksiyöz, kronik enfeksiyöz veya çiftleşme sonrası oluşan endometritis olarak sınıflandırılmaktadır. Hastalığın önlenmesinde en kritik unsur, doğum ve çiftleşmeden sonra uterus içeriğinin hızlı bir şekilde fiziksel olarak temizlenmesi olarak bilinmektedir. Fiziksel temizleme, sarkan uterus veya yetersiz serviks gibi anatomik anormallikler, uterusun kasılma yeteneğinin azalması, vasküler elastoz veya lenfanjektazi gibi dejeneratif değişiklikler nedeniyle engellenebilmektedir. Endometritis, patojen etken ve buna karşı gelişen bireysel immunolojik yanıttan etkilenmektedir. Streptokoklar inflamatuvar bir eksudat üretimini tetikleyerek nötrofil fagositozunu engellemekte, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*), *E. coli* ve bazı mayalar ile mantarlar epitel yüzeylere sıkıca yapışarak fiziksel olarak uzaklaştırılamamaktadır. Bakteriyel mikrokolonilerin büyümesini ve korunmasını destekleyen yapışkan bir matris olan biyofilm salgılamaktadırlar. Biyofilmler hücresel, humoral bağışıklık savunmalarına ve

antibiyotiklere karşı doğal direnç sağlamaktadır. Uzun süreli antibiyotik tedavisinden sonra kronik enfeksiyonlara yol açmaktadırlar (Otto 2006, LeBlanc 2010). Bakteriyel kaynaklı uterus enfeksiyonları, at yetiştiriciliği sektöründe büyük kayıplara neden olmakta, infertilite problemi kısırakların %25-60'ında görülmektedir (LeBlanc vd., 2007). Kayıplar, gebe kalamama, erken fetal kayıplar, gebeliğin orta döneminde abortus, plasentitis, septik yenidoğan doğumu, postpartum metrit veya yeniden çiftleşmede gecikmeler şeklinde ortaya çıkabilmektedir (LeBlanc ve Causey 2009).

1.1. Uterus Enfeksiyonları

Süt inekleri postpartum dönemde doğum kanalı travması, plasentanın atılımı, sistemik inflamasyon, metabolik stres, immun supresyon ve uterus mikrobiyotasındaki değişimlerle baş etmek durumundadır. Bu zorluklardan bir veya daha fazlasıyla başa çıkamamak, doğum sonrası süt ineklerinin %50'sine kadarını etkileyen farklı tipte reproduktif inflamatuvar hastalıklarının gelişmesine neden olabilmektedir (LeBlanc 2014). Uterus fonksiyonu genellikle postpartum dönemde uterus lümeninin bakteriyel kontaminasyonu nedeniyle tehlikeye girmekte, patojenik bakteriler varlığını sürdürmekte ve infertilitenin temel nedenlerinden biri olan uterus enfeksiyonuna neden olduğu bildirilmektedir (Sheldon ve Dobson 2004; Şenünver ve Nak, 2019). Birçok inek postpartum dönem ilk 5 hafta içinde uterustaki bakteri eliminasyonunu gerçekleştirebilse de, hayvanların %10-17'sinde bakteriyel enfeksiyonun devam etmesi, fiziksel muayene ile tespit edilebilen uterus enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Leblanc vd., 2002). Postpartum dönemde gerçekleşen her uterus kontaminasyonu uterus enfeksiyonuna yol açmamakta ve uterus kontaminasyonu ile uterus enfeksiyonu arasında ayrımın yapılmasının önemli olduğu belirtilmektedir (Janeway vd., 2001). Uterus enfeksiyonu, patojenik organizmaların mukozaya yapışması, epitele kolonizasyonu, penetrasyonu veya uterus hastalığının yerleşmesine yol açan bakteriyel toksinlerin salınması ile oluşmaktadır. Uterus hastalığının gelişiminin, ineğin bağışıklık tepkisinin yanı sıra bakteri türüne ve sayısına bağlı olduğu bildirilmektedir.

Postpartum dönemde uterusun bakteriyel büyümei destekleyebilen sıvı ve doku artıklarıyla temas halinde olan bozulmuş bir yüzey epiteline sahip olduğu bilinmektedir. Uterus enfeksiyonunun klinik belirtileri, etken organizmaların virölansına ve hastalığa yatkınlık oluşturan faktörlerin varlığına göre değişmekte, uterusu patojenik bakterilerin varlığı enfeksiyona, endometriyumun histolojik lezyonlarına neden olmakta, uterus involüsyonunu geciktirmekte ve embriyonun hayatta kalmasını zorlaştırmaktadır (Sheldon vd., 2002; Sheldon vd., 2006; Azawi 2008). Uterus enfeksiyonları hipofiz bezinden salgılanan lüteinleştirici hormon (LH) salgısını baskılamakta, postpartum dönem ovaryumun foliküler büyümesini ve işlevini bozarak ovulasyonu olumsuz yönde etkilemektedir (Harris vd., 2000; Opsomer vd., 2000) Bu nedenle uterus enfeksiyonlarının gebe kalma oranlarında düşüşe, buzağılamadan ilk servis periyoduna veya gebe kalmaya kadar geçen sürenin uzamasına ve infertiliteye yol açarak sürüdeki ineklerde ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (Borsberry ve Dobson 1989; Sheldon vd., 2006). Literatürlerdeki uterus enfeksiyonlarının tanımları 2006 yılına kadar önemli ölçüde değişmektedir. 2006 yılında, yaklaşık 20 uluslararası uzman ve hakemin fikir birliğiyle bir dizi tanım formüle edildiği bildirilmiştir (Sheldon vd., 2006). İlk tanımlar artık yaygın olarak kullanılmakta, uterus enfeksiyonları olarak bilinen iki ana klinik durum metritis ve endometritis olarak tanımlanmaktadır (Sheldon vd., 2006; Sheldon ve Owens 2017).

1.1.4. Metritis

Metritis, süt ineklerinde postpartum dönemde ilk 21 gün içinde ortaya çıkan, sıklıkla sistemik hastalıklarla birlikte görülen, uterus inflamasyonu ile karakterize önemli bir doğum sonrası uterus rahatsızlığı olarak bilinmektedir. Bu durum dünya çapında süt üretim sistemleri üzerinde önemli olumsuz etkilere neden olmakta, süt verimini, reproduktif verimi ve inek refahını bozmakta ve erken sürüden çıkarma riskini arttırmaktadır (Gayathri vd., 2025). Süt çiftliklerinde metritis görülme sıklığının yaklaşık %20 olduğu, ancak bazı sürülerde %8 ile %50'nin üzerinde bir aralıkta olduğu bildirilmiştir. Bu oranlar arasındaki

geniş aralığın çalışmalardaki tanı yöntemlerinin, uterus enfeksiyonlarının sınıflandırılmasının, enfeksiyonun tespit edildiği doğum sonrası dönemin, ineklerin doğum sayısının, ineklerin genel özelliklerinin veya sürü yönetim uygulamaları ve sürü farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Pérez-Báez vd., 2021). Metritis histolojik olarak, tüm uterus katmanlarının (endometriyum, miyometriyum ve perimetriyum) iltihaplanmasını kapsar ve klinik olarak, genellikle genişlemiş ve gevşek bir uterusla birlikte, kırmızımsı kahverengi renkte, sulu veya pürülan ya da viskoz olabilen pis kokulu vajinal akıntı ile karakterizedir (Sheldon vd., 2019). Puerperal metritis ile gecikmiş uterus involüsyonu arasında ayrım yapan metritis sınıflandırması, vajinal akıntı skorlaması, sitolojisi ve rektal sıcaklık değerlendirmesi gibi tanı yaklaşımlarıyla birlikte tartışılmaktadır. Metritis insidansı geniş bir aralığı kapsamaktadır ve olumsuz etkisini en aza indirmek için doğum sonrası kontrollerde erken tanı koymak önem taşımaktadır (Gayathri vd., 2025). Süt ineklerinde puerperal metritis postpartum dönem 10 gün içinde sistemik hastalık belirtileri ile kendini gösteren reproduktif problemlerdendir. Hacmi genişlemiş uterus, $\geq 39,5$ °C vücut ısısı, pis kokan kırmızı-kahverengi vajinal akıntı ile karakterize edilen metritistir. Klinik metritis ise genişlemiş uterus hacmi, doğum sonrası 21 gün içinde vajinada tespit edilebilen pürülan vajinal akıntı ve sistemik hastalık belirtisi olmaması ile karakterize olduğu bildirilmektedir (Paiano vd., 2020). Metritisin ekonomik yükü ağırdır ve etkilenen ineklerde düşük süt verimi, reproduktif performansta düşüş, uzamış buzağılama aralıkları ile artan kesim oranları görülmektedir. Kızılötesi termografi gibi invaziv olmayan tanı teknikleri, erken teşhis için umut verici araçlar olarak öne çıkmaktadır. Rektal sıcaklık ile sistemik sağlığın izlenmesinde stressiz ve pratik bir yaklaşım sunduğu belirtilmektedir. Moleküler araştırmalardaki son gelişmeler, hastalık duyarlılığı ve ilerlemesiyle ilişkili olan kolesterol metabolizması ile PI3k-Akt sinyal yolu gibi genetik varyantları, düzenleyici yolları ortaya çıkardığı bildirilmektedir (Gayathri vd., 2025). Metritisin zayıf hayvan refahı sonuçlarıyla yakından bağlantılı olduğu, erken tanı ve etkili sürü yönetim stratejilerine olan ihtiyacın önemi bildirilmiştir (Neave vd., 2018).

1.1.5. Endometritis

Uterus perimetrium, miyometriyum ve endometriyum olmak üzere dıştan içe doğru üç katmana ayrılmaktadır. Perimetrium, abdominal peritonun uterusu doğru devamı olup, miyometriyum önemli ölçüde hipertrofiye uğrayabilen kas katmanlarını oluşturmakta, endometriyum ise uterusun iç epitelyal katmanı olarak bilinmektedir. Ruminantlarda endometriyum karunküler ve interkarunküler olmak üzere iki ayrı bölgeden oluşmaktadır. Karunküller, endometriyumun damarlanmış, mukozal bölgeleri olarak bilinmektedir (Nabors ve Linford 2014). Uterusun en iç katmanı olan endometriyum endometriyal bezler açısından zengin olan, miyometriyuma bağlanan stratum spongiosum/basalis ve uterus boşluğunu kaplayan, yüzeysel katman olan stratum compactum/fonksiyonelis olmak üzere iki katmandan oluşmaktadır. Histolojik olarak endometritis, lüminal epitel hasarı, vasküler konjesyon, ödem, özellikle makrofajlar ve polimorfonükleer nötrofiller (PMN) gibi inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile birlikte stratum spongiosumdan daha derin olmayan katmandaki inflamasyonu ifade etmektedir (Bondurant 1999). Endometritis postpartum dönem doku onarımının gerçekleşmesi ve disbiyozdan kaçınmak için gerekli olan fizyolojik sürecin bir aşamasıdır. Bu durum postpartum 21 günden fazla devam ettiğinde patolojik olarak kabul edilmekte ve pürülan akıntı ile veya akıntısız olarak ortaya çıkabilmektedir. Klinik endometritis, postpartum dönemde endometrial inflamasyona eşlik eden makroskobik pürülan veya mukopürülan vajinal akıntı ile karakterizedir. Tanısı klinik muayeneye gerçekleştirilmektedir. Subklinik endometritis görünür bir akıntı şekillenmeksizin şekillenen intrauterin inflamasyonu ifade etmekte, teşhisi postpartum günlere göre değişkenlik gösteren postpartum 21-33. günlerde $> \%8-10$, ≥ 34 . günlerde $> \%5$ olacak şekilde endometrial sitolojik PMN eşik değerlerine dayanmaktadır (Baranski vd., 2013; Prunner vd., 2014; Pascottini vd., 2023). Postpartum dönem ineklerin $\%90$ 'ı çeşitli bakteriyel ve fungal organizmaların neden olduğu uterus enfeksiyonuna maruz kalmakta, bakteriyel enfeksiyon ineklerin $\%15$ - $\%20$ 'sinde klinik endometritise neden olabilmektedir. Klinik endometritis iyileşse bile bu durum infertilite problemlerine, reproduktif verimin ve süt veriminin düşmesine yol açabilmektedir. Buna sebebiyet veren en önemli patolojik ajanlar *Trueperella pyogenes*, *Corynebacterium*

psuedotuberculosis, *Leptospira*, *Brucella abortus*, *Camphylobacter fetus*, *Trichomonas fetus*, *E.coli*, *Bacterioides spp.*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Clostridium spp.* olarak bildirilmektedir (Sheldon vd., 2006; Umer vd., 2022).

1.1.6. Endometritis Patogenezi

Bakteriyel kontaminasyon, bireysel immün yanıt ve hormonal dengesizliklerin kompleks etkileşimi endometritisin patogenezi oluşturur. Uterusta yaşanan problemlerin; fertilizasyon oluşumu, zigotun morula evresine kadar hayatta kalması, blastosist evresi ve fetüsün gebeliğin sonuna kadar hayatta kalması gibi gebelik başarısı için gerekli aşamaları olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Lima vd., 2013). Postpartum dönemde genellikle oluşan negatif enerji dengesi ve buna bağlı immün supresyon nedeniyle patojenler uterusu rahatça ulaşabilmekte; uterustaki nekrotik doku kalıntıları, sıvı ile dolu olması ve ısı nedeniyle besiyeri ortamı oluşturarak patojenik mikroorganizmaların çoğalmasını kolaylaştırmaktadır (Adnane vd., 2017; Jeon vd., 2017, Umer vd., 2022). Uterus postpartum 21 gün içerisinde nötrofil infiltrasyonu yoluyla bu patojenlerden kurtulmaya çalışmakta bu da inflamasyon oluşumuna yol açmaktadır. Postpartum dönemde uterusta oluşan bakteriyel enfeksiyon, süt sığırlarında fizyolojik olayları olumsuz etkileyerek uterus hastalıklarının gelişmesine de yol açmaktadır (Turk vd., 2011). En sık görülen intrauterin patojenler *Escherichia coli*, *T. pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Prevotella* türleri olarak bildirilmektedir. Bu patojenlerin uterusta inflamasyona sebep olmalarında uterustaki proinflamatuvar sitokin konsantrasyonunun ve bakterilerin virulan faktörlerinin etkin olduğu belirtilmektedir (Sheldon vd., 2006). Bağışıklık sistemi, patojenle ilişkili moleküler paternler (PAMP'ler) aracılığıyla mikroorganizmaları tanıyarak ortadan kaldırmaktadır. Endometriyal hücreler ve granüloza hücreleri, PAMP'leri tanıyabilen patojen tanıma reseptörü (PRR) ve Toll like reseptör (TLR4) adı verilen bir dizi reseptörle donatılmıştır. Bu hücreler reseptör donanımları sayesinde PAMP'lere bağlanmakta ve İnterlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), CXCL1, CCL20 ve İnterlökin-8 (IL-8) üretimini tetikleyerek etkili bir bağışıklık tepkisi

oluşturmaktadır (Beutler 2004; LeBlanc, 2012). Tümör nekrozis faktör alfa endometritisli hastalarda uterusun epitel ve stromal hücrelerinde proinflamatuvar yanıtı tetikleyerek mononükleer hücre infiltrasyonu oluşturmaktadır. IL-1 β da endometritisli hastalarda akut inflamasyon başlangıcında salınan ana sitokinlerdendir. TNF- α ile birlikte hareket ederek IL-6 gibi diğer proinflamatuvar sitokinleri de tetikledikleri bildirilmektedir (Yan vd., 2025). İnflamatuvar yanıtların metabolik stresi şiddetlendirdiği ve metabolizmada PAMP'lerle karşılaşıldığında daha çok miktarda glikoz kullanıldığı belirtilmektedir. Özellikle yüksek verimli süt ineklerinde periparturient dönemde oluşan hipokalsemi, hiperketonemi veya endometritis gibi inflamasyona neden olan bazı metabolik problemlerden kaynaklanan metabolik stresin de patojenlere karşı oluşan inflamatuvar yanıtı engellediğini ve hücreler için önde gelen enerji kaynaklarından ikisi olan glikoz ve glutamini azalttığı bildirilmektedir. Glikolizi veya AMP-aktive protein kinaz aktivitesini bozmanın endometriyumda IL-1 β , IL-6 ve IL-8'i azalttığı da belirtilmektedir (Sheldon vd., 2018). Mikroorganizmaların parçalanması ile serbest kalan lipopolisakkaritlerin (LPS) ekzojen olarak intrauterin uygulanmasının hipotalamus tarafından salgılanan GnRH miktarını azalttığı, buna bağlı azalan LH pulsasyonunun, hipotalamik-hipofiz endokrin düzenini de olumsuz etkilediği belirtilmektedir (Ignatiuk ve Izvolskaia, 2019). Lipopolisakkaritlerin oositin gelişimsel yeterliliğini tehlikeye attığı, germinal vezikül parçalanma başarısızlığını artırdığı ve anormal iğ oluşumuna neden olduğu, aynı zamanda ovulasyon için gerekli olan kümülüs-oosit komplekslerinin olgunlaşmasının da LPS varlığında bozulduğunu, kümülüs genişlemesine neden olduğunu göstermektedir (Sheldon ve Bromfield, 2011).

Zonula Occludens-1 (ZO-1) uterus endometriyumunda epitel hücreler arasındaki bariyer fonksiyonunun sürdürülebilirliğini sağlayan, paraselüler geçirgenliği oluşturan tight junction bütünlüğünü sağlayan protein olarak bildirilmektedir (Turner 2009). Endometritiste artan TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinler ile epitel hücre bariyeri arasında yakın ilişki olduğu, sitokinlerin bariyer yapısını tight junction proteinlerinin ekspresyonunu baskılayarak ZO-1 düzeyini azalttığı bildirilmektedir (Li vd., 2022). Bu durum bariyer yapısı bozulduğundan bakteriyel geçişi kolaylaştırarak enfeksiyonun devamına yol açmaktadır (Sheldon vd., 2009).

Biyofilmler, bakterilerin kendi ürettikleri koruyucu bir matriks içerisinde gömülü halde oluşturdukları agregatlar olarak bilinmektedir. Bağışıklık sistemi, antimikrobiyaller ve diğer tedavi yaklaşımları gibi dış tehditlere karşı dayanıklılık sağlamaktadır. Bu nedenle biyofilmlerin çok sayıda bakteriyel enfeksiyonda varlığı bildirilmektedir (Nesse vd., 2023). Biyofilm içerisinde bakteriler, çevresel anoksi ve besin kısıtlılığına uyum sağlamak amacıyla metabolizma, gen ekspresyonu ve protein üretiminde değişiklikler göstermekte, bu da daha düşük metabolik hız ve azalmış hücre bölünme oranı ile sonuçlanmaktadır (Donlan ve Costerton, 2002; Stoodley vd., 2009). Bu adaptasyonlar, antimikrobiyal hedef yapıların inaktive edilmesi veya antimikrobiyallerin etki ettiği hücresel fonksiyonlara olan ihtiyacın azaltılması yoluyla bakterilerin antimikrobiyal tedaviye karşı daha dirençli hale gelmesine neden olmaktadır. Biyofilm enfeksiyonu sırasında hem doğal hem de kazanılmış konak immun yanıtı eş zamanlı olarak aktive olabilmekte, ancak bu yanıtların hiçbirisi biyofilm etkenini tamamen elimine edememekte, aksine sekonder doku hasarını artırabilmektedir (Moser vd., 2017). Sonuç olarak biyofilm ilişkili hastalıklar genellikle yavaş gelişen, kronikleşme eğiliminde olan, immun sistem tarafından nadiren tamamen ortadan kaldırılabilen ve antimikrobiyal tedavilere değişken yanıt veren persiste enfeksiyonlar olarak karakterizedir (Vestby vd., 2020). Endometriyumun biyölüminesans görüntülemesinde, bakterilerin “biyofilm-benzeri” bir matriks ile çevrili fokal alanlar oluşturduğu gösterilmiştir (Ferris vd., 2016). Ayrıca bu alanlarda biyofilm matriks bileşeni olan Pel ve biyofilm düzenleyici molekül siklik diguanosin monofosfat (di-GMP) varlığı da tespit edilmiştir (Ferris vd., 2017). Bu gözlemler, uterus içerisinde klinik suşlar tarafından biyofilm oluşumu hipotezini desteklemektedir. Önceki yıllarda yapılan bir çalışmada lokal immun yanıt açısından da dikkat çekici bulgular elde edilmiştir. Bakteri bulunan ve bulunmayan bölgelerde inflamatuvar hücreler gözlenmesine rağmen, biyofilm içeren alanlarda nötrofil sayısının azaldığı ve immunomodülatör sitokin olan interlökin-10 (IL-10) gen ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir. Bu immun yanıt modülasyonunun biyofilm bakterileri tarafından aktif olarak mı oluşturulduğu yoksa konak immun sisteminin biyofilm yapısına verdiği bir yanıt mı olduğu ise henüz netlik kazanmamıştır (Ferris vd., 2017; Vestby vd., 2020).

1.1.4. Endometritis Tanısı

Endometritis, klinik ve subklinik formlarda görülebilmektedir. Klinik endometritis, sırasıyla postpartum 21 veya 26 gün sonra ortaya çıkan irinli veya mukopürülant uterus akıntısı ile karakterize, subklinik endometritis ise postpartum 21-33. günlerde alınan uterus sitoloji örneklerinde %18'den fazla polimorfik çekirdekli (PMN) hücrenin veya 34-47. günlerde alınan örneklerde %10'dan fazla PMN'nin varlığı ile karakterize olarak bildirilmektedir. Subklinik endometritisli ineklerde uterus akıntısı görülmemektedir, ancak hastalığın şiddetinin reproduktif performansı bozmaya yeterli olduğu belirtilmektedir (Sheldon vd., 2006). Endometritis tanı yöntemlerinden bilinen en pratik ve kullanımı yaygın yöntem vajinal içeriğin kokusunu ve karakterini değerlendirmek olarak bildirilmektedir. İçerik şeffaf, kokusuz ve berrak görünümlü ise skor 0, berrak içeriğin içinde beyaz irinler ve pütürlü bir görünümü varsa skor 1, yarısından daha azında irinli puslu bir görünüm varsa skor 2, yarısından fazlasında yoğun, kanlı ve kötü kokulu irin varsa ise skor 3 olarak değerlendirilmektedir. Uterus içeriğinin karakteri ve koku skorlarının toplamı "Endometritis Klinik Skoru" olarak tanımlanmaktadır (Sheldon ve Dobson 2004). Transrektal uterus palpasyonu, vajinoskopik muayene, uterus sıvılarının kültürü, endometriyal biyopsi ve endometriyal sitoloji olmak üzere farklı tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Anormal uterus akıntısını belirlemede kullanılan vajinoskopik muayenenin, transrektal palpasyona kıyasla klinik endometritis tanısında daha yüksek hassasiyete sahip olduğu belirtilmektedir. Vajinal akıntısı olmayan ve fertilité düşüklüğü açısından gizli risk grubunu oluşturan subklinik endometritisli ineklerin teşhisinde vajinoskopik muayenenin yetersiz kaldığı belirtilmektedir. Reprodüktif anlamda problemli olabilecek bütün hayvanların tespiti tedavi programlaması açısından ve ekonomik karlılık açısından önem taşımaktadır (Kasimanickam vd., 2004). Vajinal muayene esnasında vajinoskop kullanımı veya "Metricheck" denilen bir cihazın tanıya destek amaçlı kullanıldığı bildirilmektedir. Metricheck cihazı ucunda yarım küre şeklinde kauçuktan yapılmış yapısı sayesinde vajinal sıvıyı toplayarak tanıyı kolaylaştırmakta, asepsi antisepsi koşullarına dikkat edilerek uygulandığı takdirde uterus kontaminasyonu veya immün yanıtı

sebebiyet vermemektedir. Cihazın düşük maliyetli olması saha şartlarında yaygın olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Sheldon vd., 2006). Ultrasonografi ile muayenede uterustaki sıvı birikimleri çap değişimleri ve ekojenite farkları göz önüne alınarak tanı konulabilmektedir (Azawi, 2008). Ultrasonografiyle ölçülen intrauterin sıvı hacminin, uterus kültüründeki bakteri üremesiyle paralel seyrettiği ve mevcut enfeksiyonun uterus involüsyonunu olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir. Kornu uterilerin çapı postpartum 6. haftada normal anatomik boyutuna ulaşsa da şiddetli uterus enfeksiyonu olan ineklerde intrauterin sıvı hacminin hafif enfekte ineklere göre daha yüksek kaldığı vurgulanmıştır (Mateus vd., 2002). Kısıraklarda ise postkoital intrauterin sıvının yorumlanması için ultrason ile muayene önem taşımakta, inatçı çiftleşme sonrası endometritis tanısı için uterus lümen çapının 2 cm'den büyük olması yeterli görülmektedir.

Transrektal ultrasonografi, uterus lümeninde irinin ve sıvının varlığını tespit etmek için güvenilir bir teknik olarak bilinmektedir. Tanı doğruluğunun ineğin büyüklüğü ve pozisyonu, probun kornu uteri üzerindeki konumu, östrus siklusunun evresi, operatörün deneyimi ve becerilerinden etkilenebileceği belirtilmektedir. Doğru tanı oranını arttırmak için ultrason, vajinal mukus skorlaması ve endometrial sitolojinin birlikte değerlendirilmesi tek başına kullanılan yöntemlere göre daha yüksek bir başarı oranına sahip olacağı belirtilmektedir (Pascottini vd., 2023).

İntrauterin bakteriyel artış ve uterus involusyonunda gecikmenin intrauterin sıvı birikimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Polimorfonükleer hücreler, intrauterin sıvı birikimlerinde bulunan baskın inflamatuvar hücre tipi olarak bilinmekte ve intrauterin PMN'lerin oranının belirlenmesinin postpartum dönem ineklerde reproduktif performans tahminleri ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bunun tespiti için endometriyal sitoloji tekniği ve uterus lavaj tekniği kullanılmaktadır. Endometriyal sitoloji tekniğinin uterus lavajından daha tutarlı ve güvenilir bir inflamatuvar hücre toplama yöntemi olduğu belirtilmektedir. Uterus lavajının daha fazla zaman kaybına sebep olduğu, lavaj yaparken verilen sıvının geri alınmasının başarısızlıkla sonuçlanabileceği veya işlem esnasında mevcut hücrelerde oluşan hasar miktarının arttığı bildirilmektedir (Hauwieser vd., 2000; Barlund vd., 2008; Kasimanickam vd., 2016). İneklerde endometriyal sitoloji ile tanı koymak için yapılan farklı çalışmalarda

polimorfnükleer hücrelerin yüzdesi ile sağılan gün sayısı arasında ilişki olduğu bildirilmektedir (Gürler ve Baki Acar, 2016). Galvao vd. (2009) 49. günde PMN oranının > %4, Barlund vd. (2008) 28-41. günde > %8, Gilbert vd. (2005) 40-60. gün aralığında > %5, Kasimanickam vd. (2004) 20-33. gün aralığında > %18 ve 34-47. gün aralığında > %10, Lee vd. (2018) 28. gün verilerinde > %14, Pothmann vd. (2015) 271. günde > %5, Salasel vd. (2010) 190. günde > %3 tespit edildiğinde subklinik endometritis tanısının konulacağını belirtmektedir. Lökosit esteraz testi de verdiği renk değişimi ile nötrofillerin varlığına dair kullanılabilen test şeklidir ve endometriyal sitolojiye alternatif tanı yöntemi olarak bildirilmektedir (Pascottini vd., 2023).

Endometriyal biyopsi ve histopatolojik muayene de endometritisin tanısında kullanılabilen yöntemlerdendir. Endometriyal bezlerdeki hasarı ve hücre infiltrasyonunu ortaya koyan kesin tanı yöntemi olarak bilinmektedir. Kesin tanı yöntemi olması ve endometritis derecesinin belirlenmesi adına kısırlıklarda yaygın kullanılmakla birlikte ineklerde ekonomik olmaması nedeniyle yaygın olarak kullanılmamaktadır (Sheldon vd., 2006). Deneysel çalışmalarda rat modeli olarak oluşturulan endometritislerde ise histopatolojik muayenede hücre infiltrasyonu, endometriyal bezlerin atrofisi, myometriyumun hacminde artış gözlenerek tanı konulmaktadır (Xu vd., 2015). Polimeraz zincir reaksiyonu testi (PCR) de bir tanı yöntemidir. Endometritis modeli oluşturulan rat modellerinde uterus dokusunda tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), interlökin-1 alfa (IL-1 α), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), sitokinle uyarılan nötrofil çekici faktör (CINC-1) ve tümör nekroz faktörü beta (TNF- β) gibi bazı sitokin seviyelerinin arttığı bildirilmektedir. Aynı zamanda asimetrik dimetilarjinin (ADMA) enzim seviyesi artarken ona karşı çalışan dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH₂) enziminin ise azaldığı, miyeloperoksidaz (MPO), reaktif oksijen türleri (ROS), ve 8-izoprostam seviyelerinde artış olduğu bildirilmektedir (Xu vd., 2015; Makav ve Kuru 2021; Xiao vd., 2018). Genetik analiz ile tanıda *E. coli* 'nin neden olduğu uterus enfeksiyonlarında demir alımında rol oynayan *fyuA* geni ve biyofilm oluşumu ile ilişkili *Agn43* geni araştırılırken, *T. pyogenes* kaynaklı uterus enfeksiyonlarında ise antibiyotik direnci ile ilişkili olduğu düşünülen integron tip-1 geni ile *aadA5*, *aadA24-ORF1* gen kasetleri varlığı tespit edilmiştir (Kasimanickam vd., 2016).

1.1.5. Endometritiste Koruyucu Hekimlik

İmmünomodülatör ve ekbolik tedaviler, özellikle inek ve atlarda endometritis insidansını azaltmak için uygulanabilse de, tüm evcil hayvan türlerinde hastalığın önlenmesinde en önemli faktörün yönetim olduğu belirtilmektedir (Singh ve Sethi 2022). Endometritisten korunma stratejilerinin benimsenmesinin büyük ölçüde işletmedeki risk faktörlerinin anlaşılmasına bağlı olduğu bilinmektedir. Koruyucu tedavinin düzgün işlemesi için genel yönetim stratejilerinin benimsenmesi ve uygulanması önem taşımaktadır. Buna yönelik, yeni doğum yapmış ineklerin konforu için yeterli alanı olan hijyenik ayrı bölmelere alınarak, taze ve dengeli rasyona yeterli miktarda erişiminin sağlanması, sosyal stresin en aza indirilmesi, sıcaklık stresinin önüne geçilmesi gerekmektedir (LeBlanc vd., 2011; Pascottini vd., 2017). Periparturient dönemde rasyon dengesizliği sonucunda kan dolaşımında artan β -hidroksibutirik asit (BHBA) ve esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) ile oluşan negatif enerji dengesi (NED)'nin oluşmaması adına sürekli kontrol edilerek kayıt altına alınması sağlanmalı ve buna bağlı oluşabilecek ketozis, güç doğum, retensiyon sekundinarum, endometritis, metritis gibi metabolik ve devamında reproduktif problemlerin önüne geçilmelidir (Dubuc vd., 2010; Pascottini ve LeBlanc, 2020). Negatif enerji dengesi sonucu oluşan metabolik ve reproduktif problemlerin erken tanısı amacıyla inspeksiyon yoluyla ideal vücut kondisyon skoru (VKS) aralığında olup olmadığı kontrol edilir. VKS'lerinin hangi aralıkta değiştiği takip edilerek postpartum dönemde bir puan ve üstü VKS kaybı olan ineklere hızla müdahale edilmesi sağlanır. İmmün sistemin güçlü olmasının, reproduktif sağlığın ve verimliliğin korunmasında etkisi olduğu bilinmektedir. Periparturient dönemdeki immunsupresyonu hafifletmek amacıyla yapılan bazı araştırmalarda prepartum ve postpartum dönemde granülosit koloni uyarıcı faktör uygulaması, intrauterin rekombinant IL-8 uygulaması ve anyonik tuz takviyesiyle kalsiyum metabolizmasının düzenlenmesi olarak bildirilmektedir (Pascottini ve LeBlanc 2020). Süt ineklerinin genital sisteminde laktogenik bakterilerin baskınlığı olmamasına rağmen, probiyotiklerin immün sistemi olumlu yönde etkilediği bildirilmektedir. Uterus

hastalıklarının insidansını düşürmek için prebiyotik, probiyotik ve postbiyotiklerin koruyucu tedavide olumlu etki yaratabileceği belirtilmektedir. Probiyotikler, uygun miktarlarda konağa verildiğinde koruyucu bir etki oluşturan canlı mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Prebiyotikler faydalı mikroorganizmaların büyümesini teşvik etmekte; postbiyotikler ise probiyotiklerin immün sistemi desteklemek için ürettiği metabolitler olarak bilinmektedir (Singh ve Sethi 2022). Sığır endometriyum epitel hücreleriyle yapılan in vitro çalışmalar, laktik asit bakterilerinin proinflamatuvar sitokin üretimini azaltarak *E. coli* enfeksiyonunun neden olduğu iltihabı hafiflettiği bildirilmektedir (Pascottini vd., 2023).

1.1.6. Endometritiste Güncel ve Alternatif Tedaviler

Kısırlıklarda endometritis tedavisinin uterus savunma mekanizmalarındaki problemlerin düzeltilmesi, patojenlerin nötralize edilmesi ve post-koital inflamasyonun kontrol altına alınması olmak üzere üç temel amacı bulunmaktadır. Kısırlıklarda enfeksiyöz nedenlere bağlı infertilite problemlerinin yönetiminde intrauterin antibiyotik uygulamaları tercih edilen bir yöntemdir. Klinik uygulamada sistemik tedavi yerine intrauterin tedavi önerilmektedir (LeBlanc ve Causey, 2009).

Post-koital inflamasyon genellikle uterus sıvısının fiziksel olarak uzaklaştırılması amacıyla lavaj uygulanması ve bunu takiben hemen oksitosin (10–25 IU i.v. veya i.m.) ya da kloprostenol (250 µg i.m.) verilmesi ile tedavi edilmektedir (García Rubio 2023). Kısırlıklarda post-koital tek doz intrauterin antibiyotik infüzyonunun yaygın uygulandığı bildirilmekte ve bununla bağlantılı olarak antimikrobiyallerin irrasyonel kullanımı, antimikrobiyal direncin hızla gelişmesine yol açmaktadır. Bu nedenle, endometritisin başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesi ve antimikrobiyal direncin önlenmesi için, etken mikroorganizma(lar)ın doğru tanımlanması ve antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Kültür sonucunda patojen olduğu bilinen bir bakteri cinsi saptandığında uygun tedaviye başlanması gerekmektedir (LeBlanc ve Causey, 2009; García Rubio 2023). Kısırlıklarda endometritis tedavisinde en yaygın kullanılan antimikrobiyaller β-laktamlar ve aminoglikozidlerdir (Dascanio, 2011).

Endometritisli kısıraklardan en sık izole edilen iki bakteri olan *Streptococcus zooepidemicus* ve *Escherichia coli*'nin yaygın kullanılan antimikrobiyallere karşı yüksek direnç gösterdiğinin bildirilmektedir (Benko vd., 2015). Fungal enfeksiyonların tedavisi güçtür ve büyük ölçüde antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımına bağlı olarak gelişmektedir. Fungal endometritisli kısıraklarda prognoz genellikle olumsuzdur ve bu enfeksiyonlar tekrarlama eğilimindedir. Tedavi başarısızlığının başlıca nedenleri, uterusu kolonize olan formların intrauterin tedaviye dirençli olması ve kaudal üreme kanalında bulunan rezervuarlardan yeniden kontaminasyonun gerçekleşmesi olarak bildirilmektedir (Liu ve Troedsson 2008; García Rubio 2023). Yapılan bir çalışmada *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *Strep. zooepidemicus* gibi bakterilerin, at endometrial epitel hücrelerine tutunmasının mannoz ve N-asetil-D-galaktozamin varlığında anlamlı şekilde azalabildiği gösterilmiştir. Bakteriyel yüzeydeki lektinlerin dışarıdan verilen şekerlerle (özellikle mannoz ve N-asetil-D-galaktozamin) doyurulması durumunda bakterilerin epitel hücrelerine bağlanmasının engellenebileceğini göstermektedir. Bu etkinin, ilgili bakterilerin lektinlerinin şeker bağlanma özgülüğü ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (King vd., 2000).

Sığırlarda da tedavi protokolünü oluştururken endometritise sebep olan bakterilere ve reproduktif performans devamlılığına, verimliliğine odaklanılması gerekmektedir. Endometritis tedavisinde klinik ve bakteriyolojik iyileşmenin tedavinin kilit noktası olduğu bildirilmektedir. Ancak son yirmi yıldır küresel halk sağlığı problemi olan bakteriyel direnç oluşumu, antibakteriyellere dirençli bakteri suşlarındaki artış ile insan ve hayvanlardaki enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde ciddi sorunlar oluşmaktadır. Bu nedenle tedavinin temel amacının patojenik mikroorganizmaların yükünü azaltmak, uterusun onarımı esnasında lokal savunmasını da uyarak uterus enfeksiyonunun kaynağı infertilite problemini ortadan kaldırmak ve hızlı iyileşmeyi sağlamak olduğu bildirilmektedir (LeBlanc vd., 2002; Umer vd., 2022). Uterus enfeksiyonlarının tedavisinde başarının, uterusu biriken sıvının boşaltılmasına, enfeksiyon etkenlerinin kullanılan ilaca duyarlılığına, ilacın konsantrasyonuna, kullanım sıklığına ve tüm endometriyumun ilaca maruz kalmasına bağlı olduğu belirtilmektedir. Uterus içeriğinin

boşaltılmasının, antibiyotik tedavisinin başarısına katkıda bulunduğu bildirilmekte ve bu işlemin veteriner hekim tarafından uterusu tekrarlanan palpasyonlarla veya hormon kullanımıyla yapılabildiği belirtilmektedir (Lewis, 1997; Azawi 2008). Uterus enfeksiyonlarının tedavi sürecinde hormon kullanımı da endikedir ancak hem reproduktif endokrinolojiye hem de mevcut hormonal preparatların terapötik özelliklerine hakim olmayı gerektirmektedir. Postpartum dönemde luteoliz ve folikülogenezis ile ilişkili progesteron konsantrasyonundaki azalma ve östrojen konsantrasyonundaki artış, uterusun bakteriyel enfeksiyona karşı maksimum direncini sağlamaktadır (Azawi, 2008). Postpartum dönemde PGF2 α uygulanmasının, ineklerde loşyanın atılımını sağladığı ve doğum sonrası ilk kızgınlığa kadar geçen süreyi azalttığı bildirilmektedir. Prostaglandin F2 alfa kullanımının, endometritisli ineklerde tercih edilen tedavi yöntemi olduğu belirtilmektedir (Drillich vd., 2005; Kasimanickam vd., 2005; Azawi 2008).

İntrauterin infüzyonlar endometritis tedavisinde antimikrobiyal tedavilere destek olarak başarı şansını artırabilmektedir. İntrauterin uygulamaların faydalı etkileri endometriyumun kontrollü düzeyde tahriş edilmesi mekanizmasından kaynaklanmaktadır. Ovaryum faaliyetleri başlayan ineklerde, endometriyumun kontrollü hasarı ile prostaglandin salınımı uyarılabilir. Ovaryumda korpus luteum (CL) varsa, luteolize olur ve progesteronun uterus savunma mekanizması üzerindeki inhibitör etkileri ortadan kaldırılır (Paisley vd., 1986). Bu mekanizma, tahriş edici intrauterin ürünlerin kullanımını doğrulamak için bir gerekçe olarak görülebilmekte ancak endometriyal bezlerde geri dönüşümsüz hasar riski nedeniyle önerilmemektedir (Noakes vd, 2001). İntrauterin yolla verilen zayıf veya seyreltilmiş iyot içeren lugol çözeltisinin endometritis tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir (Parmar 2021). Lugol çözeltisi infüzyonu uygulanan sıçanlarda, histolojik olarak nekrotizan endometritis tablosunun ortadan kalkmasına rağmen fertilitte yeteneğinin uzun süre baskılandığı, tahriş edici ajanların intrauterin infüzyonlarında oviduktlarının da zarar gördüğü bildirilmektedir (Noakes vd., 2001; Azawi 2008). İntrauterin olarak ısıtılmış serum fizyolojinin yavaşça verilmesi ve ardından sifonlama, uterus içeriğinin bir kısmının uzaklaştırılmasına yardımcı olabildiği, ancak bu yöntemin kapsamlı bir şekilde doğrulanmadığı bildirilmektedir (Sheldon vd., 2003; Parmar 2021). Son zamanlarda uterus enfeksiyonlarında Dimetil sülfoksit (DMSO) kullanımı

önerilmektedir (Küplülü vd., 2011). Dimetil sülfoksitin antiinflamatuvar, analjezik, diüretik ve bakteriyostatik etkilere sahiptir. Kollajenler için iyi bir çözücüdür ve bu yönüyle intrauterin uygulamalarda diğer farmakolojik ajanların da etkisini arttırabileceği bildirilmektedir. Postpartum dönemde rutin olarak kullanıldığında fertiliteye olumlu etkisinin olduğu belirtilmektedir (Erçetin ve Çetin 2020).

Sistemik veya intrauterin yolla kullanılacak antibiyotiğin, *Trueperella pyogenes*, *Prevotella spp.*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Escherichia coli* gibi başlıca uterus patojenlerine karşı etkili olması ve uterus ortamında aktivitesini koruması gerekmektedir. Postpartum dönemde uterustan anaerobik bakterilerin izole edilmesi, bu bölgenin anaerobik bir ortam olarak kabul edilmesine yol açmıştır (Sheldon ve Dobson, 2004). Bu nedenle, aminoglikozitler ve sülfonamidleri gibi anaerobik koşullar altında etkisiz olan antibiyotikler ve bazı bakterilerin penisilinaz üretme olasılığı nedeniyle penisilin postpartum dönemde tedavisinde önerilmemektedir (Azawi, 2008). Klinik metrit/endometritis tedavisinde sıklıkla farklı tetrasiklin türleri ve sefalosporinler çoğunlukla uterus içi infüzyon veya parenteral enjeksiyon yoluyla uygulanmaktadır. Enrofloksasin, amikasin, linkomisin-spektinomisin veya ampisilin ile neomisin ise nadiren tercih edilmektedir (Drillich vd., 2001; Malinowski vd., 2011). Malinowski vd. (2011)'de yaptıkları çalışmada klinik metritis ve endometritisli ineklerin svaplarından *T. pyogenes* ve *E. coli* suşu izole etmiş ve antibiyotik duyarlılıklarını test etmiştir. *Trueperella pyogenes* patojeni için en çok seftiofur, amoksisilin-klavulanik asit ve basitrasine karşı duyarlılık tespit ederken penisilin, ampisilin, rifaksimisin ve sefapirine karşı ise daha az duyarlılık saptamıştır. *Escherichia coli* için ise en çok marboflaksasin ve norfloksasine karşı (%100) duyarlı olduğunu, gentamisin, seftiofur, amoksisilin-klavulanik asit, neomisin, sefoperazon, oksitetrasiklin ve rifaksimisine karşı ise daha az duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. Yapılan farklı bir çalışmada uterus enfeksiyonlarında sahada intrauterin yolla sıklıkla kullanılan rifaksimisin ile sefkuinom sülfat, deksametazon sodyum fosfat ve %30'luk dekstroz tedavi protokolü karşılaştırılmış ve uygulanan tedavi protokolünün sonuçlarının rifaksimisine oranla daha olumlu olduğu bildirilmiştir (Ak ve Baki Acar 2022). Burch ve Grüssel (1998) perasetik asitin antiseptik özelliğini ve kısa sürede mikroorganizmalara etki edebileceğini vurgulayarak endometritis tedavisinde

kullanılabileceğini bildirmiştir. Klinik endometritis bulunan ineklerde intrauterin %50'lik dekstroz (DEX) solüsyonu infüzyonu veya subkutan sefovur kristalin serbest asit (CCFA) uygulamasının tedavi yanıtlarını (klinik iyileşme ve tedaviden 14 gün sonra hayvanların sağkalımı) değerlendirerek ve klinik endometritis bulunan ve bulunmayan ineklerde suni tohumlama başına gebelik oranlarını karşılaştırılmış; tedavi sonrası CCFA ve DEX uygulanan gruplarda, kontrol grubuna kıyasla daha fazla sayıda inekte berrak vajinal akıntı (skor 0) görülmüş, bu durum klinik iyileşme olarak değerlendirilmiştir. Gebelik oranı açısından DEX grubu kontrol ve CCFA gruplarına göre artış eğilimi göstermiş, ayrıca klinik endometritis bulunmayan sağlıklı ineklerle benzer gebelik oranlarına ulaşmıştır (Brick vd., 2012).

Endometritis tedavisinde N-asetilsistein (NAC) kullanımının, aşırı mukus ve biyofilmin uzaklaştırılması, mukus viskozitesinin değiştirilmesi ve aşırı viskoz muköz sekresyonların varlığında sperm transportunun iyileştirilmesi yoluyla tedavi başarısını ve gebelik oranlarını artırdığı ifade edilmektedir. NAC'ın fokal apse oluşumu ve oksidatif stres üzerindeki önleyici, antiinflamatuvar ve immunomodülatör potansiyelinin de artan gebelik oranlarına katkıda bulunduğu bildirilmektedir (LeBlanc 2010, LeBlanc 2012).

Biyofilm içerisinde yerleşen bakteriler, serbest yaşayan bakterilerle karşılaştırıldığında antibiyotik tedavisine karşı bin kata kadar daha dirençli olabilmekte, insan ve veteriner hekimliğinde biyofilm varlığından şüphelenilen kronik bakteriyel enfeksiyonların eliminasyonunda yalnızca antibiyotik uygulanmasının yeterli olmadığı belirtilmektedir (Ferris 2022). Geleneksel tedavide antibiyotikler endometritis tedavisine katkı sağlamış olsa da, antibiyotiklerin aşırı ve yanlış kullanımı ile oluşan bakterilerde direnç gelişimi ve hayvansal ürünlerde ilaç kalıntısı sorununa yol açtığı bildirilmektedir (Awosile 2019). Tüm bunlar göz önüne alınarak son zamanlarda hayvan refahı ve ürün kalitesini artırmak amacıyla organik hayvancılık desteklenmekte, antibiyotik kullanımının sınırlandırılmasına yönelik alternatif tedavi yöntemlerinin benimsenmesi hedeflenmektedir (Kul ve Erdoğan 2019). Uterus enfeksiyonları için ideal bir tedavi yaklaşımı, bakterilerin uterustan elimine edilmesini sağlarken uterusun normal savunma mekanizmalarını baskılamamalı, süt ve et

gibi hayvansal ürünlerde insan tüketimi açısından kontaminasyon riskini de azaltmalıdır. Uterusta doğal savunma mekanizmalarını aktive edebilecek organik maddelerin kullanımıyla alternatif tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine yönelik ihtiyaç giderek artmaktadır. Özellikle uterus savunma mekanizmaları ve immunmodülatörlerin endometritis ve metritis tedavisindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda sığır ve mandalarda yoğunlaşmıştır. Endometritis tedavisinde kullanılan immunmodülatörler arasında; endotoksinler (*E. coli* lipopolisakkaritleri), serum, plazma veya hiperimmun serum, kolostrumdan elde edilen peynir altı suyu, PMN ekstraktları ve bileşenleri, bakterisiz filtratlar, istiridye glikojeni, lökotrien B4, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktörü, *Tinospora cordifolia* ve neem yağı gibi bitkisel ekstraktlar yer almaktadır. Postpartum erken dönemde belirli immunmodülatörlerin kullanımı, standart tanı protokollerinin uygulanması ve sürü hijyeninin yönetimine yönelik iyi uygulama paketleri ile birlikte değerlendirildiğinde, endometritis problemlerinin azaltılmasının mümkün olabildiği bildirilmektedir (Sarkar vd., 2016; Yan vd., 2025).

Trombositten zengin plazma (PRP) uygulamaları, osteoartrit, ovaryum disfonksiyonu ve endometriyal hastalıklar dâhil olmak üzere çeşitli klinik durumlarda umut verici bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadır. Periferik kandan santrifüj yoluyla elde edilen PRP, yüksek trombosit konsantrasyonu oluşturularak hazırlanmakta, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikleri ile bilinmektedir (Karadbhaje vd., 2024). Trombositten zengin plazma reproduktif tıpta endometriyal reseptiviteyi anlamlı düzeyde artırabilen uygulanabilir bir tedavi yaklaşımı olarak öne çıkmaktadır. İçeriğindeki büyüme faktörleri ve sitokinlerin dengeli etkileşimi ile hücre proliferasyonu, anjiyogenez ve doku rejenerasyonunu artırarak endometriyumun yeniden yapılanmasına katkı sağladığı belirtilmektedir (Kumar 2022). Trombositten zengin plazma tedavisinin, endometriyal reseptiviteyi artırmak amacıyla immunomodülatör etkisinin olduğu, gebelik sonuçlarını iyileştirmede etkili bir tedavi seçeneği olduğu bildirilmektedir (Chen vd., 2025). Yapılan bir çalışmada kronik dejeneratif endometritisli kısıraklarda inflamatuvar yanıtı modüle etmek amacıyla intrauterin PRP tedavisi uygulanmıştır. Kronik dejeneratif endometritisin artan yaş ile doğrudan ilişkili olduğu, yardımcı üreme programlarında kullanılan damızlık

kısırakların önemli bir kısmını da etkilediği bildirilmekte, PRP uygulamasının kronik dejeneratif endometritis tanılı kısıraklarda post-koital inflamatuvar yanıtı modüle ettiği, uterus lümenindeki PMN infiltrasyonunu azalttığı, intrauterin sıvı birikimini önlediği bildirilmektedir. Bu nedenle söz konusu protokolün geriatrik kronik dejeneratif endometritis tanısı bulunan kısıraklar için tamamlayıcı bir tedavi seçeneği olarak değerlendirilebileceği bildirilmektedir (Reghini vd., 2016).

Ozon (O₃), üç yeni oluşmuş oksijen atomundan meydana gelen gaz halinde bir moleküldür. Güçlü bir oksidan olup instabildir ve hızla oksijene dönüşmektedir (Di Paolo vd., 2004). Peroksidaz aktivitesi sırasında gerçekleşen oksidatif süreçler, bakteriyel kapsül ve hücre membranlarını tahrip edebilmekte ve DNA replikasyonunu bloke edebilmektedir (Bocci, 1996). Ozonun germisidal, fungisidal ve virüsidal etkilerinin yanı sıra, immunomodülatör ve antiinflamatuvar özelliklere de sahip olduğu bildirilmiştir. Lenfosit ve monositlerden sitokin salınımını uyarak doku rejenerasyonu ve granülasyon sürecini hızlandırdığı gösterilmiştir. Bu özellikleri nedeniyle ozonun, enfeksiyonların tedavisinde çeşitli formlarda kullanılabilecek potansiyele sahip bir ajan olduğu belirtilmiştir (Bocci, 1996; Mali vd., 2020). Metritis olgularında ozon, uterusu kateter aracılığıyla 8–10 saniye süreyle köpük sprey şeklinde uygulanmaktadır. Endometritis tedavisinde de benzer yöntem kullanılmakta, ancak uygulama sırasında uterusun foliküler (proliferatif) fazda olması gerekmektedir. Prostaglandin ile östrus indüksiyonunu takiben serviksın açılması, ozon spreyn kateterle uygulanmasını kolaylaştırmaktadır. Üç hafta sonraki vajinal bulgulara göre bir sonraki östrusta uygulamanın tek başına mı yoksa seftiofur ile kombinasyon halinde mi tekrarlanacağına karar verilmektedir. *Trueperella pyogenes* kaynaklı endometritisli ineklerde ilk ve ikinci intrauterin ozon uygulamalarından sonra sırasıyla %40 ve %80'in üzerinde iyileşme oranları bildirilmiştir (Scrollavezza vd., 1997). Metritis ve endometritis olgularında intrauterin ozon uygulamasının ineklerde ilk tohumlamaya kadar geçen süreyi ve gebeliğe kadar geçen açık gün sayısını kısaltarak genel fertilité parametreleri üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Đurić vd., 2014; Mali vd., 2020). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada subklinik endometritis bulunan repeat breeder ineklerde intrauterin ozon uygulamasının, hem bakteriyolojik hem

de reprodüktif bulgular temelinde fertilitiyi iyileştirmede etkili olduğu ortaya konulmaktadır. Küresel ölçekte artan antimikrobiyal direnç endişesi göz önüne alındığında, ozon terapisinin birçok bakteri türünü inhibe edebilme kapasitesi sayesinde, endometritis tedavisinde geçerli, güvenli ve etkili bir alternatif olarak öne çıktığı bildirilmektedir. Klinik etkilerinin ötesinde, ozon terapisinin uygulanmasının gıda güvenliği açısından da potansiyel önem taşıdığı, antimikrobiyal ilaç kullanmadan bakteri üremesini elimine edebilmesi, süt ve ette antimikrobiyal kalıntıların azaltılması ve antimikrobiyal direnç sorununun önlenmesine katkı sağlayabilecek stratejileri destekleyebildiği vurgulanmaktadır (Carbonari vd., 2026). Yapılan başka bir çalışmada daha önce terapötik amaçla kullanılmamış olan ozonla zenginleştirilmiş distile suyun, deneysel olarak oluşturulmuş endometritisli sıçanlarda tedavi etkinliğini, ozon tedavisinin endometriumda inflamasyona olan etkisi, iyileşme sürecini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Ozonla zenginleştirilmiş bidistile suyun deneysel olarak oluşturulmuş endometritisli sıçanlarda tedavi amacıyla kullanılabileceği ve hem mikrobiyolojik hem de histopatolojik açıdan anlamlı iyileşme sağlayabildiği gözlemlenmiştir (Kocamüftüoğlu vd., 2023). Oliveira vd. 2023 yılında yaptıkları çalışmada oksijen-ozon (O_2-O_3) kombinasyonunun antimikrobiyal ve immunostimülatör etkileri ile düşük maliyeti göz önünde bulundurularak, ozonlanmış ayçiçek yağının kısıraklarda endometritis tedavisinde alternatif bir seçenek olarak etkinliğini değerlendirmiş, ozonize ayçiçek yağının hem fungal hem de bakteriyel endometritis olgularında tedavi potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Resveratrol, üzüm, yer fıstığı ve çeşitli meyvelerde bulunan polifenolik bir bileşiktir. Antioksidan, antikarsinogenik, antiviral, antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Zhang vd., 2021). Resveratrolün reprodüktif sistem üzerindeki etkileri farklı türlerde değerlendirilmiş, over fonksiyonlarını iyileştirdiği, uterustaki inflamasyonu azalttığı ve genel olarak fertilité sonuçlarını geliştirdiği gösterilmiştir (Bertaldo vd., 2024; Costa vd., 2025; Denison vd., 2026). Yapılan bir çalışmada siklus senkronizasyonundan sonra sıçanların kornu uterilerine *E. coli* inokulasyonu yapılarak endometritis modeli oluşturulmuş, resveratrolün tedavi edici etkisi antimikrobiyal ile karşılaştırılmıştır.

Resveratrolün antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri sayesinde endometritisin iyileşmesinde etkili bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (Demirel vd., 2019). Denison vd., 2026 yılında aşım sonrasında oral resveratrol takviyesinin post-koital endometritise duyarlı kısırlıklarda erken immun yanıtı modüle ettiğini belirtmiştir. Bu etkinin nötrofil azalması, IL-1 β ve IL-8 üretiminde düşüş ve erken dönemde IL-6 sinyalizasyonunda artış ile karakterize olduğunu, uterus inflamasyonunun özgül parametreleri üzerinde düzenleyici etki gösterdiğini bildirmiştir.

Selenyum (Se), hayvanlarda normal fizyolojik fonksiyonların sürdürülmesi için gerekli esansiyel bir iz elementtir. Selenyum düzeylerinin plasenta retensiyonu, mastitis ve endometritis insidansı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Spears vd., 2008; Eulogio vd., 2012). Li vd. (2024) selenyumun, in vitro koşullarda LPS ile indüklenen sığır endometriyal epitel hücrelerindeki hasarı hafiflettiğini, büyüme faktörü gen ekspresyonunu artırarak hücre proliferasyonu ve migrasyonunu desteklediğini bildirmiştir. Bu bulgular ile selenyumun endometritisli sığırlarda endometriyal onarım sürecini destekleyebilecek potansiyel bir ajan olabileceğini vurgulamaktadır. Araştırmalar, selenometiyonin ve metilselenat takviyesinin proinflamatuvar sitokin üretimini azaltabildiğini ve sıçanlarda *S. aureus* kaynaklı endometritise karşı belirgin koruyucu etkiler sağladığını göstermektedir (Liu vd., 2016; Wu vd., 2025). Sığırlarda yeterli düzeyde Se alımının, artmış antioksidan kapasitesi, artan glutatyon peroksidaz aktivitesi, malondialdehit gibi oksidatif stres belirteçlerinde azalma ve sütte daha düşük somatik hücre sayısı bulunması ile doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Sun vd., 2017; Adeniran vd., 2026). Selenyum takviyesinin immun fonksiyonu desteklediği, buzağı mortalitesini azalttığı, mastitis, retensiyon sekundinarum gibi reproduktif bozuklukların insidansını düşürdüğü belirtilmiştir. Eksikliğinde ise zayıf reproduktif performans ve verim düşüklüğü ile sonuçlandığı vurgulanmaktadır (Adeniran vd., 2026).

Oral vd. (2014) yaptıkları çalışmada kronik endometritisli yetmiş yedi inekte rastgele dört grup oluşturarak intrauterin yolla sırasıyla PGF2 α , perasetik asit, % 0,9'luk NaCl ve kekik esansiyel yağı vererek tedavi bulgularını karşılaştırmışlar. Çalışma sonucunda endometritis tedavisinde alternatif olarak kekik esansiyel yağının kullanımının başarılı

olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada klinik endometritis tespit edilen 90 inekte kekik esansiyel yağı DMSO ile birlikte bir gruba uygulanırken, tek başına DMSO ve kekik esansiyel yağı da diğer iki gruba intrauterin yolla verilerek tedavi etkinlikleri karşılaştırıldığında her grupta iyileşme kaydedilmiş ancak DMSO ile birlikte verilen kekik esansiyel yağının tedavide daha başarılı etki oluşturduğu bildirilmiştir (Kaya vd., 2021).

Sarkar vd. (2006), ineklerde endometritis tedavisinde sarımsak ekstraktı ile PGF2 α 'nın etkinliğini değerlendirmiştir. Tedavi sonrasında bakteriyel yükte anlamlı bir azalma gözlenirken, kontrol grubunda bakteriyel yükün arttığı bildirilmiştir. Sarımsak ekstraktı uygulanan hayvanların %70'inde östrus evresinde servikovajinal mukusun berrak hale geldiği belirtilmiştir. Tedavi gruplarında genel gebelik oranı %50 olarak saptanmış, kontrol grubunda ise gebelik elde edilmemiştir. Yıldız 2016 yılında yaptığı çalışmada subklinik endometritis tanısı konulan toplam 42 ineği rastgele iki eşit gruba ayırmış, tedavi grubundaki ineklere tek doz sarımsak ekstraktı ile serum fizyolojik karışımını intrauterin yolla uygulamıştır. Kontrol grubundaki ineklere ise herhangi bir intrauterin tedavi yapmamıştır. Tedavi grubundaki bakteriyel yükün, hem tedavi öncesine göre hem de kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunduğunu belirtmiştir. Rahi vd. (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, sarımsak ve ashwagandha ekstraktlarından hazırlanan bir fitokompleks karışımın, endometritis tedavisinde etkili uygulama olduğu rapor edilmiştir.

1.2. *Cannabis sativa* L.

Cannabis sativa L.; kenevir ya da hint keneviri olarak da bilinen, dioik, tek yıllık, yeşil, yapraklı, otsu bir bitkidir. Düşük sıcaklıklarda iyi gelişim gösterdiği için Cannabis, ılıman iklimlere iyi uyum sağlamıştır. Gıda ve ilaç sektöründe kullanılan en önemli Cannabis sativa ürünleri kenevir tohumu, kenevir tohumu yağı, marijuana ve haşış'tir (Adams ve Martin, 1996; Amar, 2001; Carvalho vd., 2021). *Cannabis sativa* L. binlerce yıldır insan kültürünün bir parçasını temsil eden, çok yönlü kullanımları nedeniyle değerli

bitkilerdendir. Uyuşturucu bitki şeklindeki genel yaklaşıma rağmen yüzyıllar boyunca lif, gıda, yağ ve ilaç kaynağı olarak ayrıca rekreasyonel ve dini amaçlarla kullanılmıştır (Piluzza vd., 2013). Dünya nüfusunun yaklaşık %2,5'inin her yıl cannabis kullandığı, kokain veya opiat tüketen birey oranının ise %0,2 olduğu bildirilmiştir (World and Health Organization 2023). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre cannabis terminolojisi ile ilişkili olarak çeşitli tanımlamalar bulunmaktadır. Cannabis, Cannabis sativa bitkisinin çeşitli psikoaktif preparatlarını ifade eden genel bir terimdir. "Marijuana" ise çoğunlukla bitkinin yapraklarını veya diğer ham bitkisel materyali tanımlamak için kullanılan Meksika kökenli bir terimdir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre cannabis ve marijuana terimleri arasında küçük farklılıklar bulunmakta, genel kullanımda bu iki terim çoğunlukla aynı anlamda kullanılmakta ve birbirinin yerine geçmektedir. Ayrıca döllenmemiş dişi bitkiler "haşış" olarak adlandırılırken, cannabis yağı reçinenin veya ham bitkisel materyalin çözücü ekstraksiyonu yoluyla elde edilen kanabinoid konsantresini ifade etmektedir (World and Health Organization 2021). Bu bitkinin dikkat çekici özelliklerinden biri, son yıllarda antibiyotik direncine ilişkin artan endişeler ve yeni antimikrobiyal ajan kaynaklarına duyulan gereksinim nedeniyle önem kazanan potansiyel antimikrobiyal özellikleridir. *Cannabis sativa*, birçoğu potansiyel antimikrobiyal etkilerine katkıda bulunan karmaşık bir sekonder bitki metabolitleri bileşimi içermektedir. Kenevirde bulunan başlıca bileşik sınıfları kanabinoidler, terpenler ve flavonoidlerdir (Zandkarimi vd., 2023). Delta (Δ)-9 tetrahidrokannabinol (THC), kenevir içerisindeki temel psikoaktif bileşiktir ve THC ile yapısal olarak benzer bileşikler "kanabinoidler" olarak sınıflandırılmaktadır. Kanabinoidler, kenevir bitkisinde bulunan ve insanlarda ve diğer hayvanlarda endokannabinoid sistem ile etkileşime giren özgün kimyasal bileşiklerdir (Guerra vd., 2023). Kenevirin immunomodülatör özellikleri temel olarak kanabinoid reseptörleri ile etkileşimine bağlıdır ve bilimsel araştırmalarda dikkat çekmektedir. Kanabinoidler, hücresel proliferasyonu ve sitokin üretimini modüle ederek antiinflamatuvar ve immunomodülatör etkiler göstermektedir. Kannabidiol, immun hücre aktivasyonunu baskılayarak, apoptozu indükleyerek ve düzenleyici hücreleri artırarak immunsupresif özellikler göstermektedir. Bu düzenleyici hücreler ise diğer immun hücre hedefleri üzerinde kontrol sağlamaktadır. Delta (Δ)-9 tetrahidrokannabinol ise T hücre fonksiyonu, hücre proliferasyonu, yardımcı

hücre fonksiyonu ve sitokin üretimi üzerinde etkili olarak immunomodülatör etki göstermektedir (Stasiłowicz Krzemien vd., 2024). Endokannabinoid sistem, kanabinoid reseptör tip 1 (CB1) ve kanabinoid reseptör tip 2 (CB2) olmak üzere iki farklı kanabinoid reseptör tipine sahiptir. Merkezi sinir sisteminde CB1 reseptörleri yoğun olarak bulunmaktadır. CB2 reseptörleri ise immün fonksiyonla ilişkili hücrelerde yer almaktadır ve immünomodülatör rolü olduğu belirtilmektedir (Lalsare 2022). Endokannabinoid sistem reseptörlerinin her ikisi de G proteinine bağlı reseptörlerdir. Delta (Δ)-9 tetrahidrokannabinol, CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinde parsiyel agonizm G proteinine bağlı reseptör 55 (GPR55) ve G proteinine bağlı reseptör 18 (GPR18) üzerinde agonizm yoluyla analjezik, antikonvülzan, antiepileptik, uyku düzenleyici, iştah artırıcı ve antiemetik etkiler göstermektedir. Ayrıca 5-hidroksitriptamin (5-HT_{3A}) reseptörleri üzerinde antagonizm yoluyla antinosiseptif ve antiemetik etkiler sergilemektedir (Stasiłowicz Krzemien vd., 2024). Diğer önemli kanabinoid ise kannabidioldür ve THC gibi psikotropik etki oluşturmaksızın antiinflamatuvar, anksiyolitik ve antiepileptik özellikler dahil çeşitli terapötik etkilere sahiptir (Castillo Arellano vd., 2023). Kannabidiol, CB1 ve CB2 reseptörlerini modüle ederek anksiyolitik, antidepresan, vazorelaksan, antikonvülzan, antiinflamatuvar, antikanser ve nöroprotektif etkiler oluşturmaktadır. Uyku indüksiyonu, stres azalması, analjezi, antiemetik etki ve kardiyovasküler faydalar sağlamaktadır. Kanabinoidler nöropatik ağrı, multipl sklerozda spastisite, bulantı, kusma, kanser ağrısı ve demansta görülen bazı davranışsal semptomların tedavisinde kullanılabilmektedir. Kenevir kullanımının inflamatuvar bağırsak hastalıkları, anksiyete bozuklukları ve uyku bozukluklarında faydalı olabileceği bildirilmektedir (Stasiłowicz Krzemien vd., 2024). Kenevirde bulunan flavonoidler flavonlar (örneğin apigenin ve luteolin), flavonoller (örneğin kuersetin ve kaempferol), flavanoller (örneğin kateşin) ve daha az oranda flavanonlar ile antosiyaninler gibi çeşitli sınıfları kapsamaktadır. Kenevir flavonoidleri, endokannabinoid sinyalleşmeyi dolaylı olarak artırabilmekte, endokannabinoid sistem ile etkileşime girebilmekte ve antiinflamatuvar, antioksidan özellikler göstermektedir (Thors vd., 2008). Kenevir bitkisi ayrıca prostaglandin salınımını inhibe ettiği gösterilen kannflavin A ve kannflavin B gibi kenevire özgü flavonoidler üretmektedir (Erridge vd., 2020; Stasiłowicz Krzemien vd., 2024).

Hızla büyüyen kenevir endüstrisi, vajinal lubrikanlar ve cilt bakım ürünlerinde de kullanılmaya başlanmıştır. Kenevir ekstraktının hidrofobik özellikleri ve düşük molekül ağırlıkları sayesinde epidermis yüzeyinde oklüzif bir tabaka oluşturabildiği, epidermisin alt katmanlarına penetre olarak suyun tutulmasını sağlayabildiği, böylece uzun süreli nemlendirici etki gösterebildikleri, hidrojel formunda cilt hücreleri üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Cilt yaşlanmasını önleyici ürünlere olan artan ilgi doğrultusunda, kenevir ekstraktlarının cilt hidrasyonu üzerindeki etkileri ile kollajen ve elastin liflerinin bozulmasını engelleme potansiyeli nedeniyle kozmetik alanında kullanımı yaygınlaşmaktadır (Zagórska-Dziok vd., 2021). *Cannabis sativa* L.'nin, tıp alanında giderek artan bir sorun olan bakteriyel antibiyotik direncinin ele alınmasında umut verici olduğu bildirilmekte ve bitkinin antimikrobiyal potansiyelini inceleyen çalışmalar yapılmaktadır. Bu kapsamda CBD'nin antimikrobiyal potansiyeli incelenmiş ve bazı bakterilere karşı olan minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri belirlenmiştir. *Escherichia coli* için bu değer 750µM'dır (Luiz-Veiga vd., 2023). Kenevir bileşenlerinin, metisiline dirençli *S. aureus* gibi yaygın antibiyotiklere direnç geliştirmiş bakteri suşlarına karşı da antimikrobiyal etki gösterebildiği belirtilmiştir (Sarmadyan vd., 2014). *Cannabis sativa* uçucu yağının ise bakteriyel biyofilmi ortadan kaldırabildiği, yaradan gebe bir kadının vajinal sürüntüsünden ve idrar örneğinden izole edildiren *S. aureus* suşlarına karşı minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonunun 16–24 mg/mL arasında değiştiği bildirilmiştir (Zengin vd., 2018). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada CBD'nin *E. coli* O157:H7 üzerindeki etkileri; bakteriyel proliferasyon, biyofilm oluşumu ve quorum sensing (QS) aktivitesi açısından değerlendirilmiştir. Kannabidiol için belirlenen MIC ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerlerinin 5 mg/mL ile 20 mg/mL arasında olduğunu belirlenmiş, bu değerlerin siprofloksasine kıyasla sınırlı bir antimikrobiyal etkinliği olduğu bildirilmiştir. Kannabidiolün *E. coli* O157:H7'ye karşı antibiyofilm ve antiQS ajan olarak potansiyel taşıdığı ortaya konulmuştur (Yavaş vd., 2025).

Sunulan tez çalışmasında evcil hayvanlarda sıklıkla karşılaşılan ve infertiliteye yol açarak ekonomik zararlara sebep olan endometritis olgularının tedavisine alternatif geliştirmek amacıyla, yapılan literatür taramasında daha önce uterus enfeksiyonunda denenmemiş

olduğu tespit edilen *Cannabis sativa* L.'nin etkinliği araştırıldı. Bu amaçla sıçanlarda *E.coli* inokulasyonu ile endometritis modeli oluşturularak *Cannabis sativa* L. 'nin hem biyofilm üzerine etkisi hem de tedavi edici etkinliği değeriendirildi.



2. MATERİYAL ve METOT

Yapılan bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu' nun 2024-38 sayılı iznine göre gerçekleştirildi. Çalışma Eskişehir ilinde bulunan Anadolu Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Birimi'nde, 42 adet olgun, 12 haftalık, 200-250 gr ağırlığındaki dişi Sprague Dawley sıçanlarla yapıldı. Sıçanlar çalışmaya alınmadan önce bir hafta süreyle laboratuvar koşullarına adaptasyon amacıyla bekletildi. Tez çalışması süresince sıçanların genel durumları düzenli olarak izlendi. Hayvanların bakım, izlem ve deneysel uygulamaları hayvan deneyleri etik kurulu ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi.

2.1. *Cannabis sativa* L. Yağının Hazırlanması ve İçeriğinin Analizi

Cannabis sativa L. yağının hazırlanması ve gerekli analizler Yozgat Bozok Üniversitesi Kenevir Araştırma Enstitüsü, Tarım ve Gıda A.D. fizyoloji laboratuvarında gerçekleştirildi. Hempium Firması tarafından temin edilen kenevir tohum yağı materyal olarak kullanıldı. Kotiledon şekli dar, yaprağındaki yeşil renk yoğunluğu orta, merkezi yaprakçık uzunluğu kısa, erkek çiçeklerde antosiyanin yoğunluğu orta olan, THC içeriği yok veya çok düşük olarak gözlenen Narlı çeşidine ait tohum yağı kullanıldı. Bin adet tohum ağırlığı 17,6 gramdır. Narlı çeşidinin CBD düzeyi 0,05, kannabikromen (CBC) düzeyi 0,01 düzeyinde olup, Δ -9 THC, CBG, CBDv, THCV, CBN ve CBL düzeyleri analiz tespit limitinin altındadır ($<0,003$). Ayrıca toplam Δ -9 THC oranı da $<0,003$ 'tür (Çizelge 2.1.).

Çizelge 2.1. Narlı çeşidine ait kannabinoid kompozisyonu

Örnek Adı	Örnek n*	CBD	Δ-9 THC	CBC	CBG	Δ-9 THC wt%	CBDv	THCv	CBN	CBL
Narlı-19	210903,05	0,05	<0,003	0,01	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003

n: örnek numarası, CBD: Kannabidiol, Δ-9 THC: Delta-9-tetrahidrokannabinol, CBC: Kannabikromen, CBG:Kannabigerol, Δ-9 THC wt%: Delta-9-tetrahidrokannabinol ağırlık yüzdesi, CBDv: Kannabidivarin, ,THCv: Tetrahidrokannabivarin, CBN: Kannabinol, CBL: Kannabisiklol.

Yağ oranı (%) çok ince olarak öğütülmüş 2 gr tohum örnekleri tartılıp 75-80 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat süreyle bekletildikten sonra tekrar tartılıp kuru maddesi hesaplanarak ve aynı zamanda 3-5 gr öğütülmüş tohum örneği soxhelet cihazında hekzanla yaklaşık 5 saat süreyle çözünerek analiz edildi. Yağ oranı, analize tabi örnek miktarından çözünen yağın ağırlık kaybı esas alınarak, hesaplama yoluyla belirlendi ve kuru madde esasına göre düzenlenip % olarak ifade edildi. Bu işlemde sonra elde edilen *C. sativa* L. tohum yağı, deney çalışmaları başlayana kadar +4°C’ de muhafaza edildi. Narlı kenevir tohumu yağının yağ asidi kompozisyonu analizi, Yozgat Bozok Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (BİLTEM) Laboratuvarında Shimadzu GC/MS-QP2010 gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde Rtx-2330 kapiler kolon kullanılmış, numuneler hekzan içerisinde çözündürülerek metanolik KOH ile metil esterleştirilmiş, ultrasonik ekstraksiyon ve santrifüj işlemlerinin ardından üst faz GC-MS cihazına enjekte edilmiştir. Yağ asitlerinin tanımlanması, elde edilen kütle spektrumlarının FFNSC12 ve W9N11 kütüphaneleri ile karşılaştırılması sonucunda gerçekleştirilmiştir.

2.2. *E. coli* İzolasyonu ve Moleküler Yöntemle Tanımlanması

Metritis tanısı konulan bir inekten steriil şartlarda intravajinal mikrobiyolojik svap örneği alınarak identifikasyonun yapılacağı laboratuvara uygun koşullarda ulaşımı sağlandı. Enfekte olmuş dokudan alınan numune *E. coli* izolasyonu için seçici besiyeri olan violet red

bile agar ve eosin metilen blue agar hazırlanarak ekim yapıldı. 24-48 saat süreyle 37 °C’de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası violet red bile agarda pembe ve etrafı saydamlaşmış koloniler seçildi. Eosin metilen blue agarda ise metalik yeşil koloniler seçildi.

İzolasyon sonrası saflığı kontrol edilen ve *E.coli* için spesifik koloni morfolojisine sahip izolatın DNA izolasyonu kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonu yapıldı. Genomik DNA’ların kontrolü elektroforez yöntemi ile yapıldı. Örneklerin 1 µl’si %1 agaroz jelle yüklenerek 80V’da 30 dk süresince yürütüldü. Yürümesi tamamlanan jel, Jel Dokümantasyon ve Görüntüleme Cihazı ile görüntülendi. Genomik DNA’lar kalıp olarak kullanılarak 27F ve 1492R primerleri ile 16S rRNA gen bölgesi amplifiye edildi. Reaksiyon koşulları 95 °C’de 5 dakika ön denatürasyon ile başlayarak 95 °C’de 30 saniye denatürasyon, 55 °C’de 1 dakika bağlanma, 72 °C’de 1 dakika 30 saniye uzama aşamalarından oluşan 30 döngü ile 72 °C’de 10 dakika son uzama ve 4°C’de inkübasyon aşamalarından oluşturuldu. Elde edilen PCR ürünleri %1 agaroz jelde kontrol edildi. Jel 80 V’da 30 dk süresince yürütüldü. Jel Dokümantasyon ve Görüntüleme Cihazı ile görüntülendi. Elde edilen PCR ürünleri dizi analizine yollandı. Dizi analizi sonrası gen dizileri NCBI “National Center for Biotechnology Information (www.ncbi.nlm.nih.gov)” veri tabanındaki BLAST programı ile gerçekleştirildi.

2.3. *E. coli* Süspansiyonun Oluşturulması

Süspansiyon Biogenesis Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. (Eskişehir, Türkiye) laboratuvarlarında oluşturuldu. Bu çalışmada, moleküler yöntemle tanımlanmış *E. coli* bakterileri kullanıldı. McFarland Standartları, yaklaşık bakteri sayısını standardize etmek için kullanılmaktadır. Bulanıklık ölçümünün alternatif tipinin “McFarland Standartları” (McFarland 1907) olduğu bilinmektedir. Bakteriyel süspansiyonlar, bakteri popülasyonunun yoğunluğunu tahmin etmek için görsel olarak McFarland Standartları ile karşılaştırılmaktadır. 4.0 McFarland standardı, *E. coli* için $1,2 \times 10^9$ CFU/mL’ye eşdeğer

kabul edilmektedir (Forbes vd. 2007). Çalışmada McFarland tüpüne referansla 10^9 CFU/50 µl'lik bakteri yoğunluğunu elde etmek için, bakteri süspansiyonu steril tuzlu su ile seyreltildi. Bu teknik, mikrobiyoloji alanında yaygın olarak kullanılmaktadır ve çalışmada da solüsyon hazırlık aşaması bu tekniğe uygun şekilde gerçekleştirildi (Khare vd. 2004).

2.4. *Cannabis sativa* L. Yağının Biyofilm Oluşumunda İn Vitro Etkinlik Düzeyinin Analizi

İn vitro analiz Biogenesis Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. (Eskişehir, Türkiye) laboratuvarlarında gerçekleşti. 96 kuyucuklu plate içinde *Cannabis* grubu için her bir kuyucuğa 100 µl Muller Hilton besiyeri dağıtıldıktan sonra *Cannabis sativa* L. yağının belirlenen konsantrasyonlarda (12,5-400 mg/mL) plate içinde seri seyreltme uygulandı. Ardından her bir kuyucuğa 0,5 McFarland'a göre ayarlanmış *E.coli* kültüründen 100 µl eklendi. Aynı şekilde Antibiyotik grubu da besiyeri içinde belirlenen konsantrasyon aralığında (3,12-100 mg/mL) seri seyreltme uygulandı ve üzerine her bir kuyucuğa 4.0 McFarland'a göre ayarlanarak *E.coli* kültüründen 100 µl eklendi. Negatif kontrol kuyuları (bakteri ve besiyeri içeren etken madde olmayan) ise 100 µl besiyeri ve 100 µl 4.0 McFarland a uygun ayarlanan *E.coli* kültürü içerecek şekilde ayarlandı. Sonrasında plate 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonunda kristal viyole yöntemi ile biyofilm düzeylerinin ölçümleri gerçekleştirildi. Bu amaçla tüm kuyucuklar boşaltılıp PBS (pH 7.4) ile 3 kez yıkandı. Yıkama sonrası her kuyucuğa 150 µl metanol eklendi ve 15 dk fikse edildi. Fiksasyon sonrası kuyucuklar boşaltılarak saf su ile yıkandı, kuyucukların kurumasının ardından %1'lik kristal viyole boyasından 150 µl eklendi, boya ile 20 dk oda sıcaklığında inkübasyon sağlandı. Boyama sonrası kuyucuklar saf su ile yıkandı, 150 µl etanol eklendi ve 30 dk bekleme sonrası 570 nm'de absorbans okuması gerçekleştirildi.

2.5. Endometritis Modelinin Oluşturulması

Endometritis modelini oluşturmak için başlangıçta sıçanlara 5 gün boyunca 16 mg/kg progesteron (Progestan® 50 mg/mL, Koçak Farma, İştanbul, Türkiye) enjeksiyonu subkutan yolla yapıldı (Demirel vd., 2019). Böylece sıçanların seksüel siklusun progestatif fazında olması sağlandı ve bu durum vajinal sitoloji ile doğrulandı. Sıçanlar son progesteron enjeksiyonundan 24 saat sonra ksilazin hidroklorür (Rompun® 10 mg/kg, Bayer, Leverkusen, Almanya) ve ketamin hidroklorürün (Ketasol® 50 mg/kg, İnterhas, Ankara, Türkiye) intraperitoneal olarak uygulanmasıyla genel anestezi altına alındı. Cerrahi işlemiden önce sıçanlar ventrodorsal pozisyona getirildi, abdominal bölgeleri traş edildi ve bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Bistri ile orta hatta 2 cm'lik dikey kesi yapıldı. Subkutan ve kas tabakaları ayrılarak, karın boşluğu açıldı. Sağ kornu uygun manipülasyonlarla çıkarılarak, steril koşullar altında, $1,2 \times 10^9$ CFU/sıçan *E. coli* içeren 50 l bakteri süspansiyonu uterusu inokule edildi (Mikamo vd., 1998; Demirel vd., 2019; Kocamüftüoğlu vd., 2023). Ardından uterus dikkatlice karın boşluğuna geri yerleştirildi. Abdominal kas katmanları ve deri USP 4/0 poliglaktin 910 (Vicryl®, Ethicon, Johnson & Johnson, Somerville, NJ, ABD) ile kapatıldı. Sham ve Sham Cannabis gruplarına endometritis modeli uygulanmadı. Sadece operatif olarak kornu uterilerin yeri değiştirilerek anatomik konumuna geri getirilerek mekanik cerrahi gerçekleştirildi.

2.6. Vajinal Sitoloji

Cerrahi uygulamadan önce ve sonrasında östrus döngüsünü araştırmak için vajinal smear örnekleri toplandı. Nemlendirilmiş bir pamuklu svap vajinaya sokularak vajinal lümen ve duvarlarından hücreler nazikçe alındı ve bir lama aktarıldı. Örnekler %70'lik etil alkol ile tespit edildikten sonra havada kurumaya bırakılarak Giemsa boya ile boyandı. Yaklaşık 40 dakika bekledikten sonra durulandı ve kuruması beklendi. Ardından ışık mikroskobu altında değerlendirilerek tüm sıçanların östrus evresi belirlendi. DeneySEL sürecin 5., 10. ve

14. günlerinde tüm hayvanlardan tekrar vajinal yayma örnekleri alındı ve değerlendirilmesi yapıldı. Östrus döngüsünün fazları proöstrus (oval çekirdekli epitel hücreleri), östrus (düzensiz şekilli keratinize skuamöz epitel hücreleri), metöstrus (parçalanmış, keratinize epitel hücreleri ve daha küçük, koyu boyalı lökositler) ve diöstrus (çekirdekli epitel, baskın lökositler) olarak sınıflandırıldı (Cora vd., 2015). Tedavi etkinliği seksüel siklus hücreleri ve nötrofil hücrelerinin yoğunluğu ile vajinal akıntı karakterine göre değerlendirildi.

2.7. Deney Grupları ve Tedavi Uygulamaları

Çalışmamızda Sham grubu, Sham Cannabis grubu, Antibiyotik grubu, Cannabis grubu, Kombine grup ve Taşıyıcı grup olmak üzere rastgele seçilmiş yedişer sıçandan oluşan altı grup belirlendi. Sham ve Sham Cannabis Grubu hariç tüm gruplara 5 gün boyunca ekzojen progesteron verilerek seksüel siklus senkronizasyonu sağlandı. Ardından vajinal sitolojiyle sıçanların luteal fazda olduğu doğrulandı. Endometritis modeli oluşturulacak deney gruplarındaki sıçanların sağ kornu uterilerine *E.coli* inokulasyonu uygulandı. İnokulasyondan 16 saat sonra deneysel süreç başladı. Sham ve Taşıyıcı gruba zeytinyağı, Sham Cannabis grubuna *Cannabis sativa* L. yağı gavaj yoluyla verilirken, Antibiyotik grubuna deri altı antibiyotik enjeksiyonu, Kombine grubuna *Cannabis sativa* L. yağı gavajı ile birlikte antibiyotik enjeksiyonu yapıldı. *E. coli* inokulasyonu sonrasında 14 gün boyunca günde bir kez olacak şekilde tedavi süreci devam etti ve deney süreci 21 günde tamamlanmış oldu.

Sham Grubu (n:7): Oral olarak gavaj ile 1 mL zeytinyağı 14 gün boyunca verildi (Dziwenka vd., 2020).

Sham Cannabis Grubu (n:7): 400 mg/kg *Cannabis sativa* L. yağı gavaj ile 14 gün boyunca verildi.

Cannabis Grubu (n:7): 400 mg/kg *Cannabis sativa* L. yağı gavaj ile 14 gün süreyle verildi (Carvalho vd., 2021).

Antibiyotik Grubu (n:7): Marbofloksasin (5 mg/kg/s.c., Marboflex® %10 (marbofloksasin, 100 mg/mL, Teknovet İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) ile 14 gün tedavi edildi (Demirel vd., 2019).

Kombine Grubu (n:7): Marbofloksasin (5 mg/kg/s.c.) ve 400 mg/kg *Cannabis sativa* L. yağı gavaj ile oral yolla 14 gün boyunca uygulandı.

Taşıyıcı Grup (n:7): Oral olarak gavaj ile 1 mL zeytinyağı 14 gün boyunca verildi (Dziwenka vd., 2020).

2.8. Deneyin Sonlandırılması

Deney süresinin sonunda sıçanlar genel anestezi altında kalpten kan alınarak sakrifiye edildi. Sakrifikasyonun ardından kornu uteriler dışarı alınarak, uterus dokusunun bir kısmı steril şartlar altında biyofilm analizleri ve mikrobiyolojik analizler için uygun şartlar altında steril godelere hızla alınarak soğuk zincirde laboratuvara iletili. Histopatolojik değerlendirme için alınan uterus örnekleri ise %10'luk formaldehit çözeltisi içine konularak analizin yapılacağı güne kadar uygun şartlarda saklandı ve laboratuvara iletili.

2.9. Uterus İçeriğinin Mikrobiyolojik İncelenmesi

Mikrobiyolojik analiz Biogenesis Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. (Eskişehir, Türkiye) laboratuvarlarında gerçekleşti. Deney sonunda uterus dokularından alınan örnekler direkt olarak mikrobiyal yük sayımı için, Luria-Bertani (LB) agar besiyerine tüm yüzeyi temas edecek şekilde ekimi yapıldı. 24-48 saatte koloni sayımları gerçekleştirildi. Bu amaçla örnekler uygun besi yerine ekilerek 37°C'de 24 saat inkübe edilerek bakteri sayımı yapıldı.

2.10. Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi

Biyofilm analizi Biogenesis Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. (Eskişehir, Türkiye) laboratuvarlarında gerçekleşti. Doku yapısından kaynaklı olarak, dokudan direkt olarak kolorimetrik bir biyofilm absorbans ölçümü yapılamadığından uterus dokuları kesilip polisin kaplı 2 cam (2 cm x 2 cm) arasında 1 saat preslendikten sonra camlara kristal viyole ile boyama yöntemi uygulanmıştır (O'Toole,2011). Dokuda bulunan biyofilmin cam yüzeyine aktarılmış olduğu SEM ile belirlenmiştir ve SEM görüntüsü sonuçlarda sunulmuştur. Camın her iki yüzeyi de değerlendirmeye alınıp üzerindeki doku uzaklaştırıldıktan sonra metanol ile 15 dk fiksasyon yapılmıştır. Ardından %1'lik krital viyole ile cam yüzeyler 15 dk boyanmıştır. Distile su ile 3 kez yıkama sonrası cam yüzeyler plate (24 well plate) içerisine alınıp tamamı %96'lık etanolde kalacak şekilde muamele edilmiştir. 30 dk sonunda camlar plate içerisinden alınıp 570 nm'de absorbans ölçülmüştür.

2.11. Dokulardan Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi

Taramalı elektron mikroskop analizi Biogenesis Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. (Eskişehir, Türkiye) laboratuvarlarında gerçekleşti. Alınan uterus doku örneklerindeki biyofilm oluşumu SEM analizi ile görüntülendi. Bu amaçla 3 mL Gluteraldehit 20 mL PBS karıştırıldı. Hazırlanan solüsyon +4 °C'de saklandı. Her bir dokuya hazırlanan solüsyon eklendi. Dokular +4 °C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı. 1 gece sonra kuyucuklardan sıvı pipet ile çekilerek kuyucuklarda bulunan doku üzerine PBS eklendi. 15 dk, +4 °C'de inkübe edildikten sonra sıvı pipetle çekilerek tekrar PBS ile aynı işlem uygulandı ve yıkama işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra etanolden %30-%70-%90 ve %100 solüsyonlar hazırlandı. Dokular %30'luk etanolde 15 dk. inkübe edildikten sonra doku alınarak %70'lik etanolde 15 dk, %90'lık etanolde 30 dk, %100'lük etanolde ise 30 dk bekletildi. Dokular görüntüleme amacıyla hazırlandı. JEOL JSM 5600 marka taramalı elektron mikroskopunda görüntüleme işlemi yapıldı.

2.12. Dokulardan TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 Analizi

Dokulardan alınan örneklerde TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 düzeylerinin belirlenmesinde kompetitif ELISA yöntemi kullanıldı. Analizler Baran Medikal Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. (Ankara, Türkiye) laboratuvarında gerçekleştirildi. Analiz öncesi doku örneklerinin hazırlanması amacıyla uterus dokuları PBS (50 mM, pH: 7,4) içinde homojenize edildi ve 3000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edildi. Alınan doku örneklerinden TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 ölçümleri Elabscience® (TNF- α /Cat. No: E-EL-R0019; Texas, A.B.D.), BT-LAB® (IL-1 β /Cat. No:E0119Ra; ZO-1/Cat. No:E2282Ra, Shanghai, Çin), marka ELISA kitleri ile değerlendirme yapıldı. ELISA okumaları ise Bio-Tek® (A.B.D.) marka ELx-800 ve ELx50 ELISA reader cihazlarında yapıldı (Resim 2.1.). Süpernatant ayrılarak TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 analizleri için kullanıldı. Analizde kullanılan mikro ELISA plakları, üretici firma tarafından önceden sıçan TNF- α , sıçan IL-1 β ve sıçan ZO-1 ile kaplanmış olarak temin edildi. Çalışma reaksiyonu sırasında örneklerde veya standartlarda bulunan sıçan TNF- α , sıçan IL-1 β , sıçan ZO-1 biyotin ile işaretlenmiş ve ayrı ayrı sıçan TNF- α , sıçan IL-1 β , sıçan ZO-1'e özgü Detection Ab üzerindeki bağlanma bölgeleri için katı faz üzerinde bulunan sabit miktardaki sıçan TNF- α , sıçan IL-1 β , sıçan ZO-1 ile rekabet ettirildi. İnkübasyon sonrasında bağlanmayan örnekler ve fazla konjugatlar yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Uzaklaştırma işleminden sonra her kuyucuğa Horseradish Peroxidase (HRP) ile konjuge avidin eklenerek inkübasyona bırakıldı. Ardından kuyucuklara TMB substrat çözeltisi ilave edildi ve enzim-substrat reaksiyonunun gerçekleşmesi sağlandı. Reaksiyon, stop çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırıldı. Oluşan renk değişimi 450 $\pm$ 2 nm dalga boyunda mikropłaka okuyucu kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Örnekler e ait sıçan TNF- α , sıçan IL-1 β , sıçan ZO-1 konsantrasyonları, elde edilen optik yoğunluk (OD) değerlerinin standart eğri ile karşılaştırılması yoluyla hesaplandı.



Resim 2.1.ELISA Reader Cihazları

2.13. Histopatolojik Analizler ve Uterus Ağırlık Ölçümü

%10'luk formaldehitte fikse edilen doku örnekleri rutin histopatolojik takip süreçlerine alındı. Parafin bloklardan elde edilen 4 µm kalınlığındaki kesitler, deparafinizasyon işlemi sonrasında rehidratasyon işlemi için azalan etil alkol serilerinde 10'ar dakika bekletildi. Yıkama işleminin ardından 10 dakika Harris hematoksilin boya solüsyonu ile boyanan kesitler daha sonra tekrar yıkanarak, glasiyel asetik asit ve alkol karışımı olan solüsyona alındı. Yıkama sonrası 10 dakika Eosin boya solüsyonunda bekletilerek tekrar akan su ile yıkandı. Dehidratasyon işlemi için ksilolde bekletilen lamalar kapama mediumu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlardan bilgisayar destekli ışık mikroskobunda elde edilen görüntüler değerlendirildi. Histolojik kesitlerde inflamasyon şiddetinin yoğunluk ve yaygınlığının yanı sıra inflamatuvar hücre tipleri göz önünde bulunduruldu. Uterus dokularında histopatolojik değerlendirme amacıyla uterus hiperemi (UH), uterus dejenerasyon (UD), uterus mononükleer hücre infiltrasyonu (UMNHI) ve uterus endometriyal bez hiperplazisi (UEBH) parametreleri incelendi. Bu parametreler, dokuda inflamasyonun derecesi, doku hasarı ve epitel bütünlüğündeki değişimlerin belirlenmesi amacıyla yarı kantitatif skorlama sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Her bir histopatolojik bulgu, lezyon şiddetine göre 0–3 arasında skorlanmıştır (0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli). Değerlendirmeler ışık

mikroskopunda, körleme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. İnflamasyonun şiddeti, birim alan başına düşen inflamatuvar hücre sayısına ve inflamasyonun tüm dokuya oranla yüzdesine göre semikantitatif olarak değerlendirildi [Değerlendirme kriterleri 400x büyütmede 0-5 inflamatuvar hücre: hafif (skor 1), 6-20 hücre: orta (skor 2) ve 20'nin üzerinde: hücre belirgin (skor 3) olarak sınıflandırıldı. İnflamasyon alanı tüm dokunun %5'inden az ise negatif (skor 0), %5-25 ise fokal (skor 1) %26-50 ise orta (skor 2) ve %50'nin üzerinde ise yaygın (skor 3) olarak değerlendirildi].

Sakrifikasyon sonrasında steril şartlarda uterus dokuları dikkatlice disseke edilerek çevresi yağ ve bağ dokularından arındırıldı. Uterus hassas analitik terazi kullanılarak tartıldı. Ölçümler gram (g) cinsinden kaydedildi. Uterus ağırlıkları, inflamasyon, ödem ve doku hasarına bağlı meydana gelen makroskobik değişikliklerin değerlendirilmesinde ek parametre olarak kullanıldı.

2.12. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler Windows SPSS Paket Programı (Statistical Package for the Social Sciences Inc., Chicago, IL, USA) ile analiz edildi. Verilerin tanımlayıcı istatistiksel analizleri yapıldı. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal- Wallis analizi ile yapıldı. İlgili değişkenler arasındaki ilişkiler ise Spearman Korelasyon analizi ile değerlendirildi. Çalışmadan elde edilen verilerin birbiri ile ilişkilerinin analizinde Karar Ağacı Analiz Yöntemi kullanıldı. Analizlerde anlamlılık düzeyi $P<0,05$ olarak alındı.

3. BULGULAR

3.1. *Cannabis sativa* L. Yağ Asit Bileşenleri

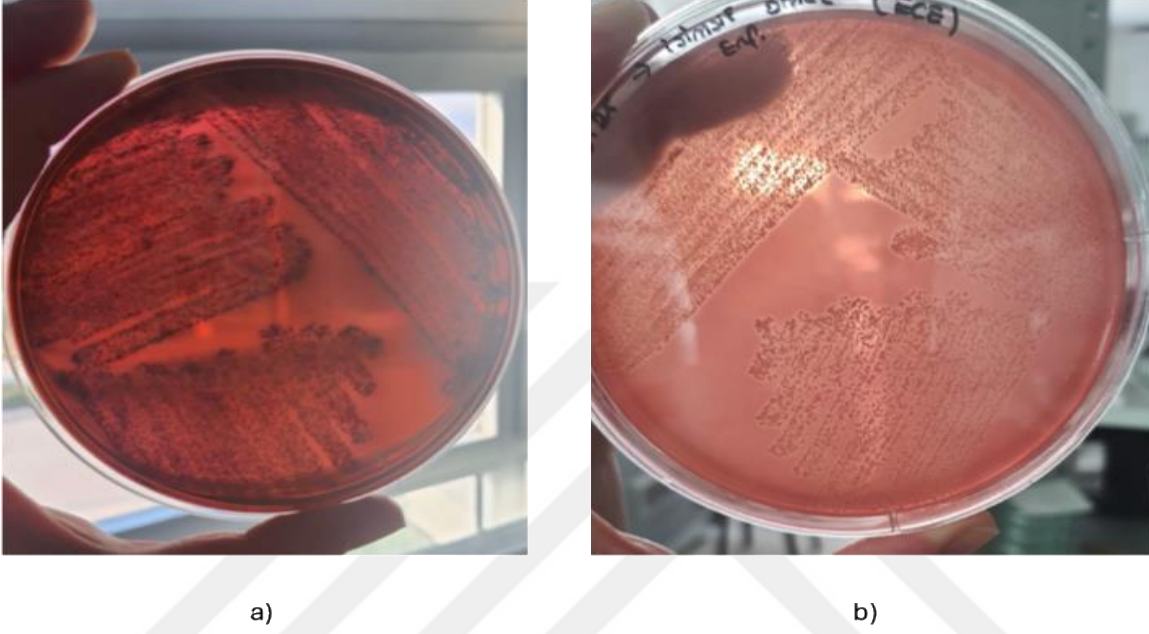
Çalışmada kullanılan Narlı çeşidinin yağ asidi kompozisyonu gaz kromatografisi analizi ile değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda yağ asidi profilinin büyük oranda doymamış yağ asitlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Toplam yağ asidi dağılımı incelendiğinde doymuş yağ asitlerinin (SFA) %10,13, tekli doymamış yağ asitlerinin (MUFA) %14,75 ve çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) %75,10 oranında olduğu tespit edilmiştir. Diğer yağ asitleri incelendiğinde en baskın bileşenin %55,41 oranla linoleik asit (C18:2) olduğu, alfa-linolenik asit (C18:3) oranının %18,63 ve elaidik asit oranının %13,85 (C18:1) olduğu belirlenmiştir. Palmitik asit (C16:0) %7,32 ve stearik asit (C18:0) %2,57 oranında saptanmıştır. Gamma-linolenik asit %0,80, oleik asit %0,58, gondoik asit %0,32, eikosatetraenoik asit %0,26 ve behenik asit %0,24 olarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, *Cannabis sativa* L. tohum yağının yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitleri içerdiğini ve özellikle linoleik asit ve alfa-linolenik asit bakımından zengin bir profil sergilediğini göstermektedir (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. *Cannabis sativa* L. Yağ Asidi Kompozisyonu

RT	YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU (%)	Kenevir tohum yağı
12,637	Palmitik asit, metil ester (CAS) C16:0	7,32
16,312	Stearik asit, metil ester (CAS) C18:0	2,57
17,043	Elaidik asit, metil ester (CAS) C18:1	13,85
17,147	Oleik asit, metil ester (CAS) C18:1	0,58
18,372	Linoleik asit, metil ester (CAS) C18:2	55,41
19,133	gamma-Linolenik asit, metil ester (CAS) C18:3	0,80
19,801	alpha-Linolenik asit, metil ester (CAS) C18:3	18,63
20,468	Gondoik asit, metil ester (CAS) C20:1	0,32
20,647	Eicosatetraenoik asit, metil ester (CAS) C20:4	0,26
23,125	Behenik asit, metil ester (CAS) C22:0	0,24
Saturated fatty acids (Doymuş yağ asitleri)		10,13
Monounsaturated fatty acids (Tekli doymamış yağ asitleri)		14,75
Polyunsaturated fatty acids (Çoklu doymamış yağ asitleri)		75,10
Toplam		99,98

%, Yüzde, RT: Retansiyon süresi, CAS: Chemical Abstracts Service (Kimyasal madde kayıt sistemi), C16:0: 16 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyen doymuş yağ asidi; C18:0: 18 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyen doymuş yağ asidi; C18:1: 18 karbon atomu içeren ve 1 çift bağ bulunduran tekli doymamış yağ asidi; C18:2: 18 karbon atomu içeren ve 2 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi; C18:3: 18 karbon atomu içeren ve 3 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi; C20:1: 20 karbon atomu içeren ve 1 çift bağ bulunduran tekli doymamış yağ asidi; C20:4: 20 karbon atomu içeren ve 4 çift bağ bulunduran çoklu doymamış yağ asidi; C22:0: 22 karbon atomu içeren ve çift bağ bulundurmeyen doymuş yağ asidi; SFA: Saturated Fatty Acids (Doymuş yağ asitleri); MUFA: Monounsaturated Fatty Acids (Tekli doymamış yağ asitleri); PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids (Çoklu doymamış yağ asitleri).

3.2. *E.coli* İzolasyonu ve Moleküler Tanı Bulguları



Resim 3.1. Enfeksiyonlu dokudan izole edilen *E.coli*’nin petri görüntüsü. a) Esosin metilen blue agarda *E.coli*. b) Violet red bile agarda *E.coli*.

İzolat 1’in consensus dizisi ve NCBI üzerindeki en yakın tür

İzolat 1: PP593561.1 *Escherichia coli* strain R78

BenzerlikOranı: %99,25

```
GCGCGGCCTAACCATGCAAGTCGAACGGTAACAGGAAGCAGCTTGCTGCTTCG
CTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCCTGATGGAGGGG
GATAACTACTGGAAACGGTAGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAG
GGGGACCTTCGGGCCTCTTGCCATCGGATGTGCCCAGATGGGATTAGCTAGTA
GGTGGGGTAACGGCTCACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGA
CCAGCCACACTGGAAGTGAAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTG
GGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAA
GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGGAGTAAAGTTA
```

ATACCTTTGCTCATTGACGTTACCCGCAGAAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTA
AAGCGCACGCAGGCGGTTTGTAAAGTCAGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCT
GGGAACTGCATCTGATACTGGCAAGCTTGAGTCTCGTAGAGGGGGGTAGAATT
CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAA
CAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTGACTTGGAGGTT
GTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGG
AGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGAC
ATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGG
TGCTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACTCAAAGGA
GACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGC
CCTTACGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAGCGAC
CTCGCGAGAGCAAGCGGACCTCATAAAGTGCGTCTGATGCCGATTGGAGTCT
GCAACTCGACTCCATGAAGTCGGAATCGCTTAGTTAATTCGGGATCAAGGAAN
TGCCACATTNGGCC

Metritisli bir inekten steril svap kullanılarak alınan vajinal smeardan gerçekleştirilen bakteriyolojik ekim sonucunda, *Escherichia coli* ile uyumlu koloni gelişimi gözlenmiştir. İzolatların selektif ve diferansiyel besiyerlerinde karakteristik morfolojik özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Eosin Methylene Blue agarda üreyen kolonilerin tipik metalik yeşil parlaklık gösterdiği gözlenmiştir. VRBA besiyerinde ise laktoz fermentasyonuna bağlı karakteristik koloni morfolojisinin olduğu gözlenmiştir. Elde edilen kültür bulguları izolatın *E. coli* ile uyumlu olduğunu desteklemiştir (Resim 3.1).

İzolatın moleküler identifikasyonu amacıyla gerçekleştirilen analizlerde elde edilen sekans verileri National Center for Biotechnology Information (NCBI) veri tabanında BLAST analizi ile karşılaştırılmıştır. Yapılan analiz sonucunda izolatın, NCBI veri tabanında kayıtlı

olan *Escherichia coli* strain R78 (PP593561.1) ile %99,25 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen yüksek benzerlik oranı, izolatin moleküler düzeyde *E. coli* olarak doğrulandığını ortaya koymuştur. Sekans analizinde elde edilen nükleotid dizisinin, *Escherichia coli* türüne ait korunmuş bölgeler ile yüksek düzeyde homolog olduğu belirlenmiştir. Metritisli inekten izole edilen bakteriyel etkenin hem kültürel hem de moleküler yöntemlerle *E. coli* olarak tanımlandığı doğrulanmıştır.

3.3. İn Vitro Ortamda *Cannabis sativa* L. Yağının Biyofilm Oluşumunda Etkinlik Analizi Bulguları

İn vitro antibiyofilm deneyine ait absorbans sonuçlarına göre *Cannabis sativa* L. ve antibiyotik uygulamasının *E. coli* nedenli biyofilm oluşumu üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Kristal viyole yöntemi ile 570 nm’de ölçülen optik dansite (OD) değerleri esas alınarak biyofilm inhibisyon yüzdeleri hesaplanmıştır.

Cannabis sativa L. yağına ait absorbans sonuçları incelendiğinde, uygulanan konsantrasyon arttıkça OD değerlerinde belirgin azalma meydana geldiği gözlenmiştir. En yüksek konsantrasyon olan 400 mg/mL grubunda ortalama absorbans değeri 0,705 olarak belirlenmiştir. 400 mg/mL’de biyofilm inhibisyon oranı %77,6 olarak hesaplanmıştır. 200 mg/mL konsantrasyonda ortalama OD değeri 0,948’dir. Biyofilm inhibisyonu ise %69,9 olarak bulunmuştur. Konsantrasyonun azalmasıyla birlikte inhibitör etkinin kademeli olarak düştüğü görülmüştür. 100 mg/mL konsantrasyonda biyofilm inhibisyonu %46,9, 50 mg/mL’de %29,4, 25 mg/mL’de %13,0 ve 12,5 mg/mL’de %7,6 olarak hesaplanmıştır. Negatif kontrol grubunda ise ortalama OD değerinin yaklaşık 3,148 olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, *Cannabis sativa* L. ’nin biyofilm oluşumu üzerine belirgin düzeyde doza bağımlı inhibitör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle 200–400 mg/mL konsantrasyon aralığının antibiyofilm etkinliğinde en güçlü seviyeye ulaştığı gözlenmiştir (Çizelge 3.2.).

Antibiyotik grubuna ait sonuçlar değerlendirildiğinde, tüm konsantrasyonlarda oldukça düşük OD değerleri elde edildiği görülmüştür. Antibiyotik grubunda en düşük doz olan 3,12 mg/mL’de bile etki gözlenmiştir. 100 mg/mL konsantrasyonda ortalama absorbans değeri 0,215 olarak belirlenmiştir. Biyofilm inhibisyon oranı %92,8 olarak hesaplanmıştır. 50 mg/mL konsantrasyonda inhibisyon oranı %92,2, 25 mg/mL’de %91,0, 12,5 mg/mL’de %91,5, 6,25 mg/mL’de %90,4 ve 3,12 mg/mL’de %90,2 olarak belirlenmiştir. Antibiyotik grubunda konsantrasyon azalmasına rağmen inhibitör etkinin yüksek düzeyde korunmuş olması, antibiyotiğin güçlü antibiyofilm aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Düşük konsantrasyonlarda dahi biyofilm oluşumunun belirgin şekilde baskılanması, antibiyotik uygulamasının biyofilm inhibisyonunda yüksek etkinlik gösterdiğini desteklemektedir (Çizelge 3.3., Çizelge 3.4.).

Genel olarak değerlendirildiğinde, in vitro ortamda her iki uygulamanın da *E. coli* kaynaklı biyofilm oluşumunu inhibe ettiği belirlenmiştir. Antibiyotik grubunda inhibisyon oranlarının tüm konsantrasyonlarda %90’ın üzerinde seyretmesi nedeniyle antibiyofilm etkinliğin *Cannabis sativa* L. tohum yağına kıyasla daha güçlü olduğu gözlenmiştir. *Cannabis sativa* ekstraktının özellikle yüksek konsantrasyonlarda anlamlı düzeyde biyofilm inhibisyonu oluşturduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Etken maddelere ait in vitro antibiyofilm deneyi absorbans sonuçları (A570 nm)

Gruplar	Konsantrasyonlar						Negatif kontrol	
	400 mg/mL	200 mg/mL	100 mg/mL	50 mg/mL	25 mg/mL	12,5 mg/mL	(Bakteri biyofilm üremesi)	
Cannabis	0,645	0,915	1,585	2,210	2,465	2,890	3,490	2,934
	0,703	0,948	1,675	2,140	2,840	2,840	3,452	2,850
	0,767	0,982	1,750	2,320	2,915	2,995	3,385	2,789
Antibiyotik	Konsantrasyonlar						Negatif kontrol	
	100 mg/mL	50 mg/mL	25 mg/mL	12,5 mg/mL	6,25 mg/mL	3,12 mg/mL	(Bakteri biyofilm üremesi)	
Antibiyotik	0,215	0,234	0,272	0,256	0,284	0,295	3,310	2,712
	0,221	0,228	0,268	0,249	0,291	0,299	3,245	2,645
	0,209	0,241	0,275	0,263	0,288	0,293	3,120	3,015

mg/mL: miligram/mililitre; Negatif kontrol grubu, antimikrobiyal ajan uygulanmaksızın bakteriyel biyofilm gelişimini temsil etmektedir. Ölçümler üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Ortalama değerler alınıp, biyofilm inhibisyon yüzdesi hesaplanmıştır. % İnhibisyon= $1 - [(Uygulama\ Grubu\ Ortalaması)/(Kontrol\ Grubu\ Ortalaması)] \times 100$

Çizelge 3.3. Cannabis sativa L. yağına ait in vitro antibiyofilm deneyi % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/mL)	Ortalama Absorbans (OD)	% Biyofilm İnhibisyonu
400	0,705	% 77,6
200	0,948	% 69,9
100	1,670	% 46,9
50	2,223	% 29,4
25	2,740	% 13,0
12,5	2,908	% 7,6

mg/mL: miligram/mililitre; Cannabis grubunda net bir "doza bağlı etki" görülmektedir. Doz arttıkça inhibisyon etkisi artmaktadır. 200-400 mg/mL aralığı en etkili aralık olarak belirlendi (OD kontrol ortalaması: 3,148 alınmıştır).

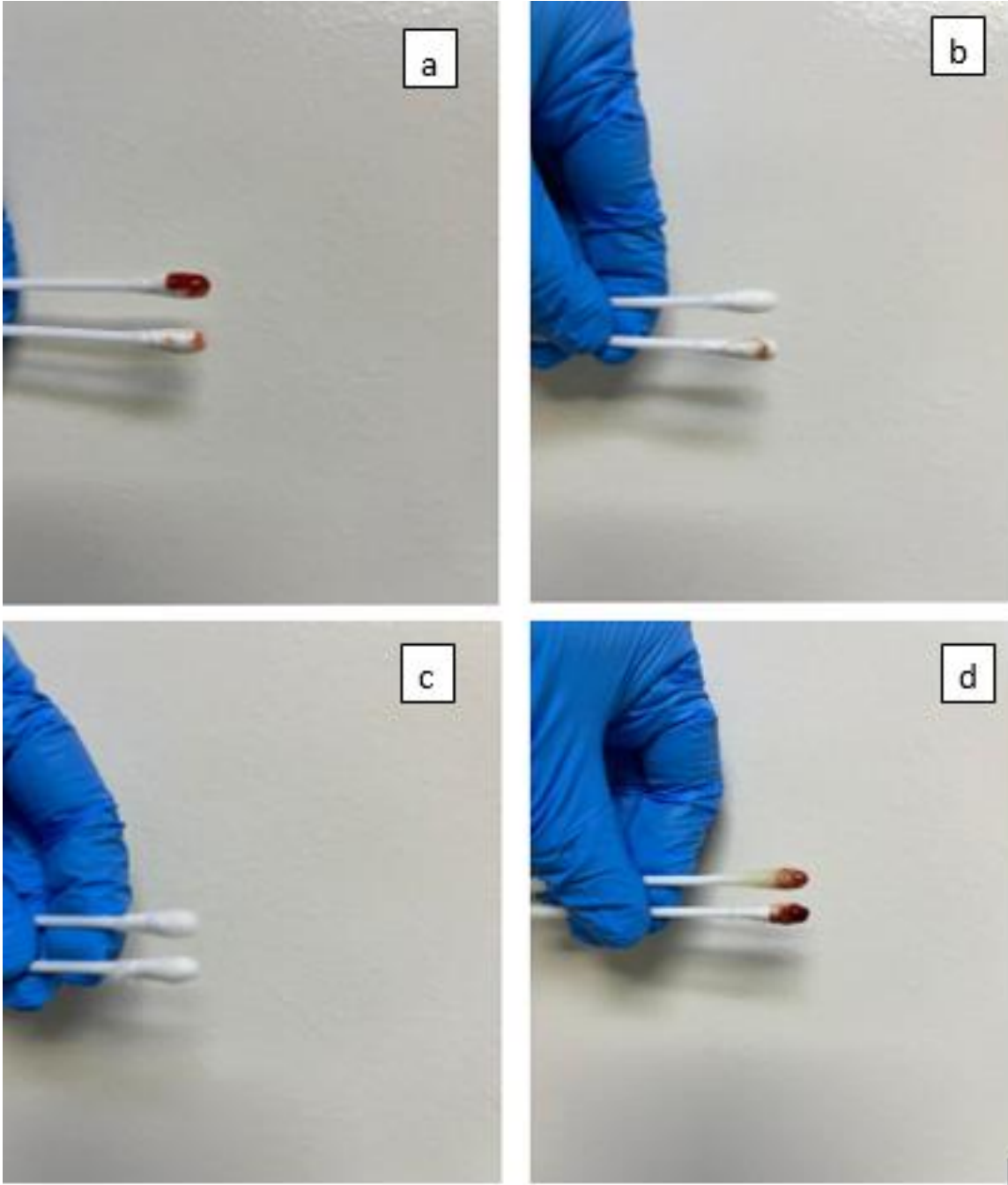
Çizelge 3.4. Antibiyotik in vitro antibiyofilm deneyi % inhibisyon değerleri

Konsantrasyon (mg/mL)	Ortalama Absorbans (OD)	% Biyofilm İnhibisyonu
100	0,215	% 92,8
50	0,234	% 92,2
25	0,272	% 91,0
12,5	0,256	% 91,5
6,25	0,288	% 90,4
3,12	0,296	% 90,2

%, yüzde, mg/mL: miligram/mililitre

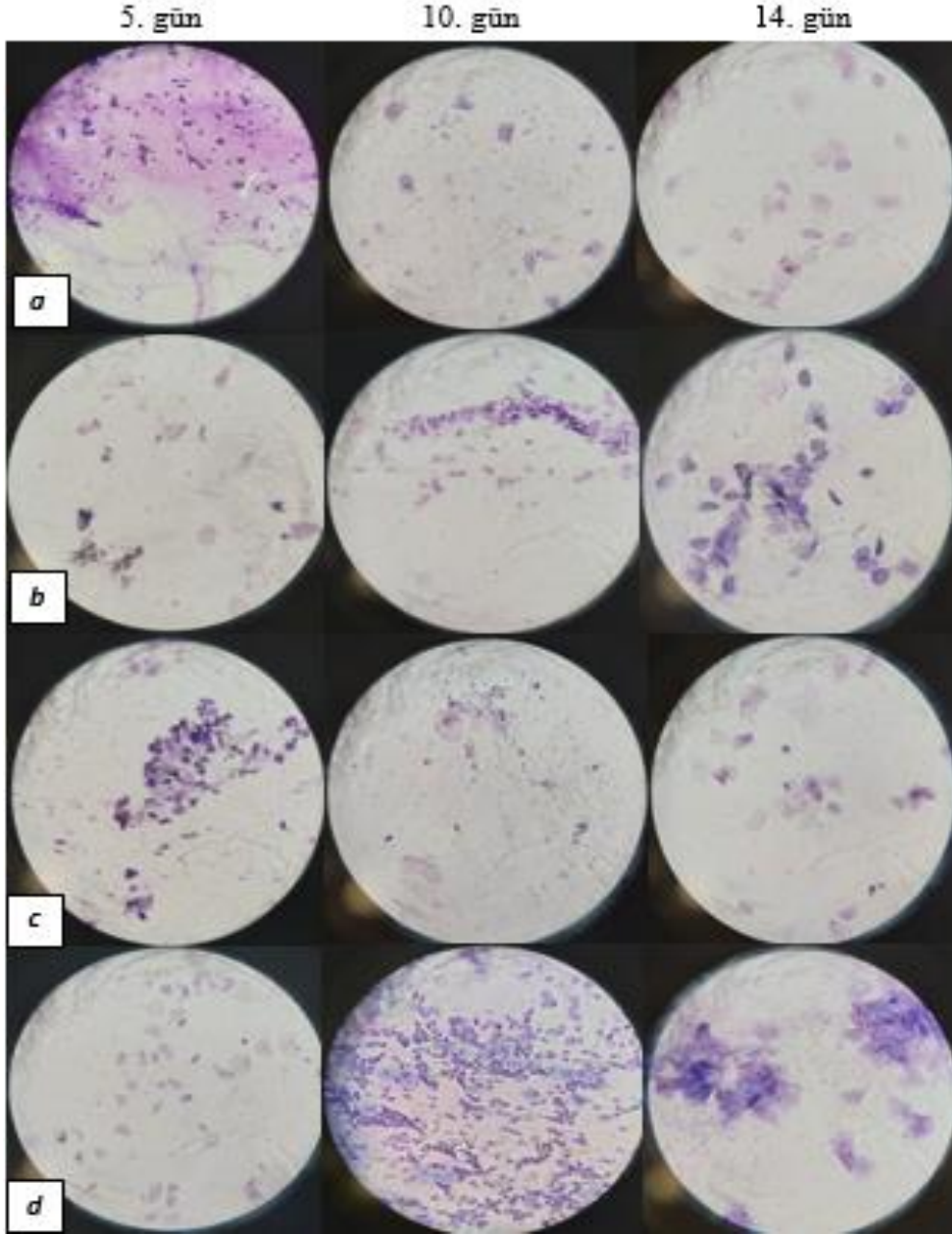
3.4.Vajinal Sitoloji Bulguları

Resim 3.2. Deneysel sürecin 10. gününe ait *E. coli* inokulasyonu yapılan grupların vajinal svap görüntüleri



a)Antibiyotik Grup b) Cannabis Grubu c) Kombine Grubu d) Taşıyıcı Grup

Resim 3.3. Deneysel sürecin 5., 10. ve 14. gününe ait *E. coli* inokulasyonu yapılan grupların vajinal sitoloji görüntüleri



a)Antibiyotik Grup b) Cannabis Grubu c) Kombine Grubu d) Taşıyıcı Grup

Deney başlangıcından önce yapılan vajinal sitoloji incelemelerinde sıçanların büyük çoğunluğunun östrusta olduğu belirlendi. Takiben endometritis modeli uygulanacak tüm hayvanlara 5 gün boyunca ekzojen progesteron uygulaması yapıldıktan sonra 5. günde yeniden yapılan vajinal sitoloji ile luteal faz doğrulandı, diöstrus ile uyumlu sitoloji görünümü saptandı (Resim 3.3).

Luteal faz doğrulandıktan sonra uterusu *E.coli* inokulasyonu işleminin sonrasını kapsayan deneyin 10. gününde elde edilen vajinal svap örneklerinin makroskopik değerlendirmesinde gruplar arasındaki belirgin farklar dikkat çekti. Taşıyıcı grupta yoğun miktarda taze kan içeren (Resim 3.2) seröz vajinal akıntı gözlemlendi. Taşıyıcı gruba ait sitolojik bakıda oldukça yoğun nötrofil infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 3.3).

Antibiyotik grubunda makroskopik olarak taze kan içeren akıntı gözlemlendi ancak akıntının yoğunluğunun Taşıyıcı gruba kıyasla daha az olduğu değerlendirildi (Resim 3.2). Sitolojik bakısında nötrofil varlığının olduğu ancak taşıyıcı gruba kıyasla infiltrasyon şiddetinin yoğun olmadığı görüldü (Resim 3.3).

Cannabis grubunda az miktarda, kahverengi, yoğun olmayan seröz kıvamlı akıntı gözlemlendi (Resim 3.2). Sitoloji preparatının mikroskopik değerlendirmesinde nötrofil infiltrasyonunun mevcut olduğu ancak şiddetli olmadığı belirlendi (Resim 3.3).

Kombine tedavi grubunda makroskopik olarak kan içermeyen seröz karakterli akıntı gözlemlendi (Resim 3.2). Mikroskoptaki sitolojik incelemelerde ise hücre infiltrasyonunun yoğun olmadığı ancak az da olsa mevcut olduğu görüldü (Resim 3.3).

Deneyin 14. gününde gerçekleştirilen son vajinal sitoloji değerlendirmelerinde makroskopik olarak yalnızca Taşıyıcı grupta taze kanlı akıntının devam ettiği görüldü (Resim 3.2). Antibiyotik, Cannabis, Sham, Sham Cannabis, Kombine gruplarının svap örneklerinde herhangi bir akıntı gözlenmedi (Resim 3.2).

Sham ve Sham Cannabis gruplarında deney süreci boyunca vajinal akıntı gözlenmedi. Sitoloji preparatlarında fizyolojik sıklık değişimlere uygun hücresel dağılım izlendi ve belirgin nötrofil infiltrasyonu veya inflamatuvar eksudat belirlenmedi.

3.5. Uterus İçeriğinin Mikrobiyolojik Bulguları

Çalışma gruplarının doku örneklerindeki mikrobiyolojik yükü yansıtan koloni sayısı ve biyofilm oluşumuna ait bulgular izelge 3.5'te sunulmuştur. Her iki parametrede de uygulanan prosedürlerin gruplar üzerinde ileri düzeyde anlamlı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür ($P = 0,000$). Taşıyıcı grupta ölçülen ortalama koloni sayısı ($83,14 \pm 33,50$), kontrol grupları olan Sham ($0,00 \pm 0,00$) ve Sham Cannabis ($0,00 \pm 0,00$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. Antibiyotik ($10,29 \pm 13,71$), Cannabis ($5,57 \pm 6,21$) ve Kombine ($17,71 \pm 22,58$) gruplarının koloni sayılarında ise istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Biyofilm oluşumunun Taşıyıcı grubunda ($3,31 \pm 0,14$) pik yaptığı ve Sham ($0,11 \pm 0,00$) ile Sham Cannabis ($0,11 \pm 0,01$) gruplarına kıyasla anlamlı düzeyde farklılaştığı belirlenmiştir (izelge 3.5).

Çizelge 3.5. Çalışma gruplarının doku örneklerindeki koloni sayısı ve biyofilm (A570 nm) değerleri ($\bar{x}$ + SD)

	Sham	Sham Cannabis	Taşıyıcı	Antibiyotik	Cannabis	Kombine	P Değeri
Koloni Sayısı	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	83,14±33,50 ^b	10,29±13,71 ^{ab}	5,57±6,21 ^{ab}	17,71±22,58 ^{ab}	0.000
Biyofilm	0,11±0,00 ^a	0,11±0,01 ^{ab}	3,31±0,14 ^c	0,34±0,18 ^{abc}	0,61±0,44 ^{bc}	0,63±0,45 ^{abc}	0,000

SD: Standart sapma, $\bar{X}$: Aritmetik ortalama *P<0,05: İstatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir. **P<0,01: Yüksek düzeyde istatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir.

Aynı satırda farklı harfler taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark anlamlıdır (P < 0,05).

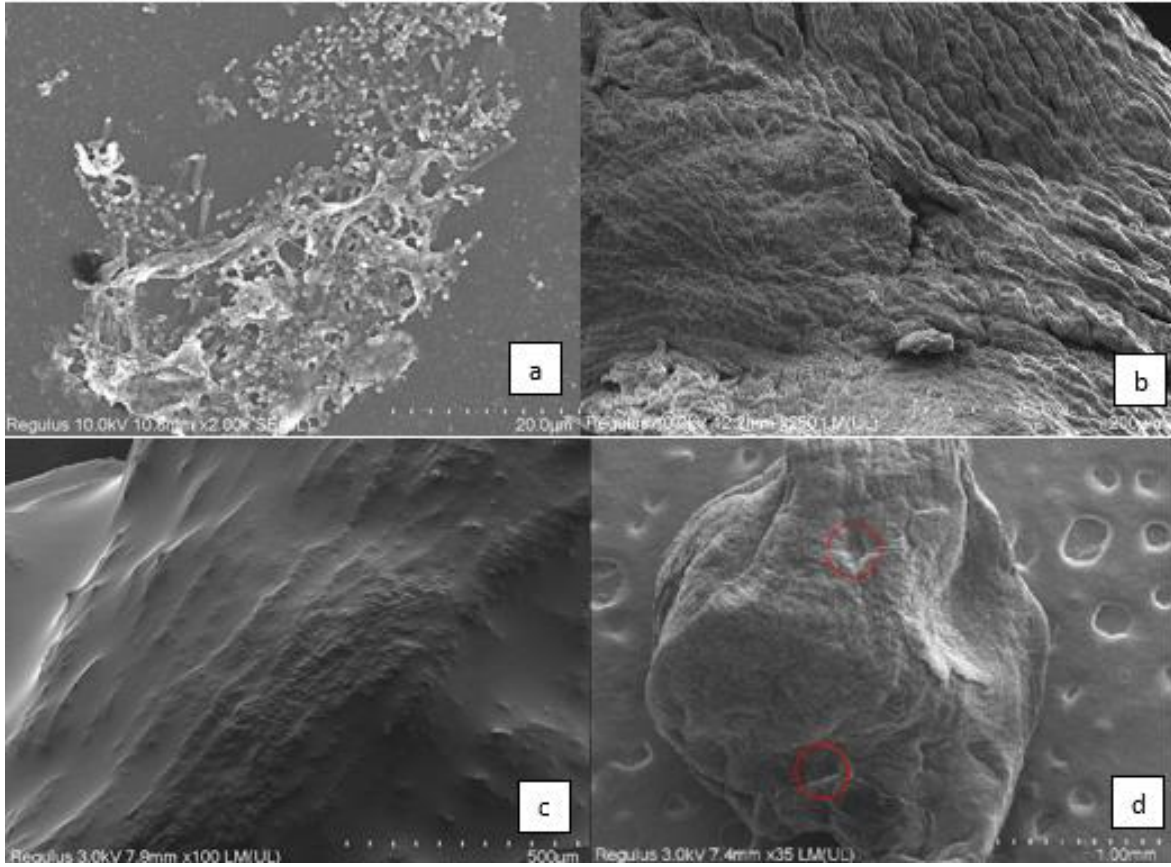
3.5. Biyofilm ve SEM Bulguları

Deney gruplarına ait SEM görüntülerinin ultrastrüktürel değerlendirilmesinde gruplar arasında biyofilm oluşumu ve yüzey morfolojisi açısından belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Resim 3.4a'da dokuda oluşan biyofilmin cam yüzeye aktarılmış SEM görüntüsü yer almaktadır. Görüntüde düzensiz ağısı oluşum gösteren yoğun ekstraselüler polimerik matriks (EPS) yapıları dikkati çekmektedir. Matriks içerisinde kümelenmiş bakteriyel mikrokoloniler ve yüzeye tutunmuş biyofilm benzeri yapılar izlenmiştir. Özellikle fibriler uzantılar ve düzensiz matriks yapıları biyofilmin olgunlaşma sürecine ait karakteristik ultrastrüktürel özellikler göstermektedir. Yüzey boyunca heterojen dağılım gösteren bu yapılar, bakterilerin EPS içerisine gömülerek organize koloni yapıları oluşturduğunu desteklemektedir. Sham grubuna ait SEM görüntüsü (Resim 3.4b) değerlendirildiğinde, yüzey topografisinin büyük ölçüde korunmuş olduğu görülmüştür. Doku yüzeyi nispeten düzgün, homojen ve doğal kıvrımlı yapısını korumaktadır. Bakteriyel kümeleşme, mikrokoloni oluşumu veya EPS birikimi gözlenmemiştir. Yüzey boyunca yalnızca fizyolojik doku kıvrımları ve hafif düzensizlikler izlenmiş, biyofilm oluşumunu düşündürecek düzensiz matriks yapıları gözlenmemiştir. Taşıyıcı gruba ait SEM görüntüsünde (Resim 3.4c) ise sham grubuna kıyasla belirgin yüzey düzensizliği ve doku bütünlüğünde bozulma dikkati çekmektedir. Yüzey boyunca granüler ve kabarık morfolojik alanların yaygın şekilde bulunduğu gözlenmiştir. Özellikle görüntünün orta-alt bölgelerinde yoğunlaşan düzensiz kümeleşme alanları biyofilm ile uyumlu görünüm sergilemektedir. Yüzeye tutunmuş mikrokoloni benzeri yapılar, düzensiz EPS birikimi, çevre dokudan farklı yoğunlukta matriks alanları, kümesel organizasyon gösteren mikroyapılar izlenmiştir. Biyofilm benzeri yapıların yüzey boyunca diffüz şekilde dağılım gösterdiği dikkati çekmektedir. Özellikle üst yüzeydeki tabakalanmalar ve doku içerisine gömülmüş olarak görülen yoğun alanlar olgunlaşmış biyofilm benzeri yapılar ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Kombine gruba ait SEM görüntüsünde (Resim 3.4d) ise biyofilm oluşumunun taşıyıcı gruba göre daha sınırlı olduğu gözlenmiştir. Kırmızı ile işaretlenmiş alanlarda EPS içerisine gömülü küçük mikrokoloni odakları gözlenmekte, biyofilm

yoğunluğu ve matriks organizasyonu taşıyıcı gruptaki kadar belirgin değildir. Bu nedenle kırmızı işaretlenmiş alanlarda EPS içerisine gömülü küçük mikrokoloni benzeri yapıların varlığı düşünülebilir. Yüzey morfolojisinin kısmen korunduğu, geniş alanlarda Sham grubuna benzer daha düzgün yapıların devam ettiği izlenmiştir. İşaretlenen alanlarda lokalize biyofilm kalıntıları veya bakteri kümeleşmesine benzer yapılar bulunmasına rağmen, yaygın ve yoğun biyofilm tabakalanması gözlenmemiştir. Bu durum kombine tedavi uygulamasının bakteriyel kolonizasyonu ve EPS oluşumunu baskılayıcı etki oluşturduğunu düşündürmektedir.

Genel olarak SEM bulguları değerlendirildiğinde Taşıyıcı grupta belirgin biyofilm oluşumu ve yüzey bütünlüğünde yüksek oranda bozulma gözlenirken, Antibiyotik, Sham, Sham Cannabis ve Cannabis grubunda biyofilm benzeri yapılara rastlanmamıştır. Kombine grupta ise biyofilm oluşumunun belirgin ölçüde azaldığı ve yüzey morfolojisinin kısmen korunduğu belirlenmiştir.

Resim 3.4. Uterus Dokularına ait SEM görüntüleri



a)Dokuda oluşan biyofilmin cam yüzeye aktarılması sonrası SEM görüntüleri b)Sham grubu SEM görüntüsü. Biyofilm benzeri yapıya rastlanmamıştır. c)Taşıyıcı grup SEM görüntüsü. EPS içerisine gömülmüş biyofilm benzeri yapılar gözlemlenmiştir. d)Kombine grup SEM görüntüsü. Kırmızı ile işaretlenmiş alanlarda EPS içerisine gömülmüş biyofilm benzeri yapılar gözlemlenmiştir.

3.6. TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 Bulguları

Çalışma gruplarından elde edilen TNF- α , IL-1 β sitokin ve ZO-1 proteini ölçümleri Çizelge 3.6'da sunulmuştur. Grupların TNF- α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($P = 0,028$). En yüksek TNF- α seviyesi kontrol grubu olan Sham grubunda ($1565,99 \pm 907,22$) ölçülürken, Kombine tedavi grubunda ($488,26 \pm 78,13$) bu değerin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düştüğü belirlenmiştir. Sham Cannabis, Taşıyıcı, Antibiyotik ve Cannabis gruplarının TNF- α değerleri ise bu iki değer arasında yer almıştır. Aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. IL-1 β ($P = 0,723$) ve ZO-1 ($P = 0,976$) parametreleri açısından ise çalışma grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Çizelge 3.6).

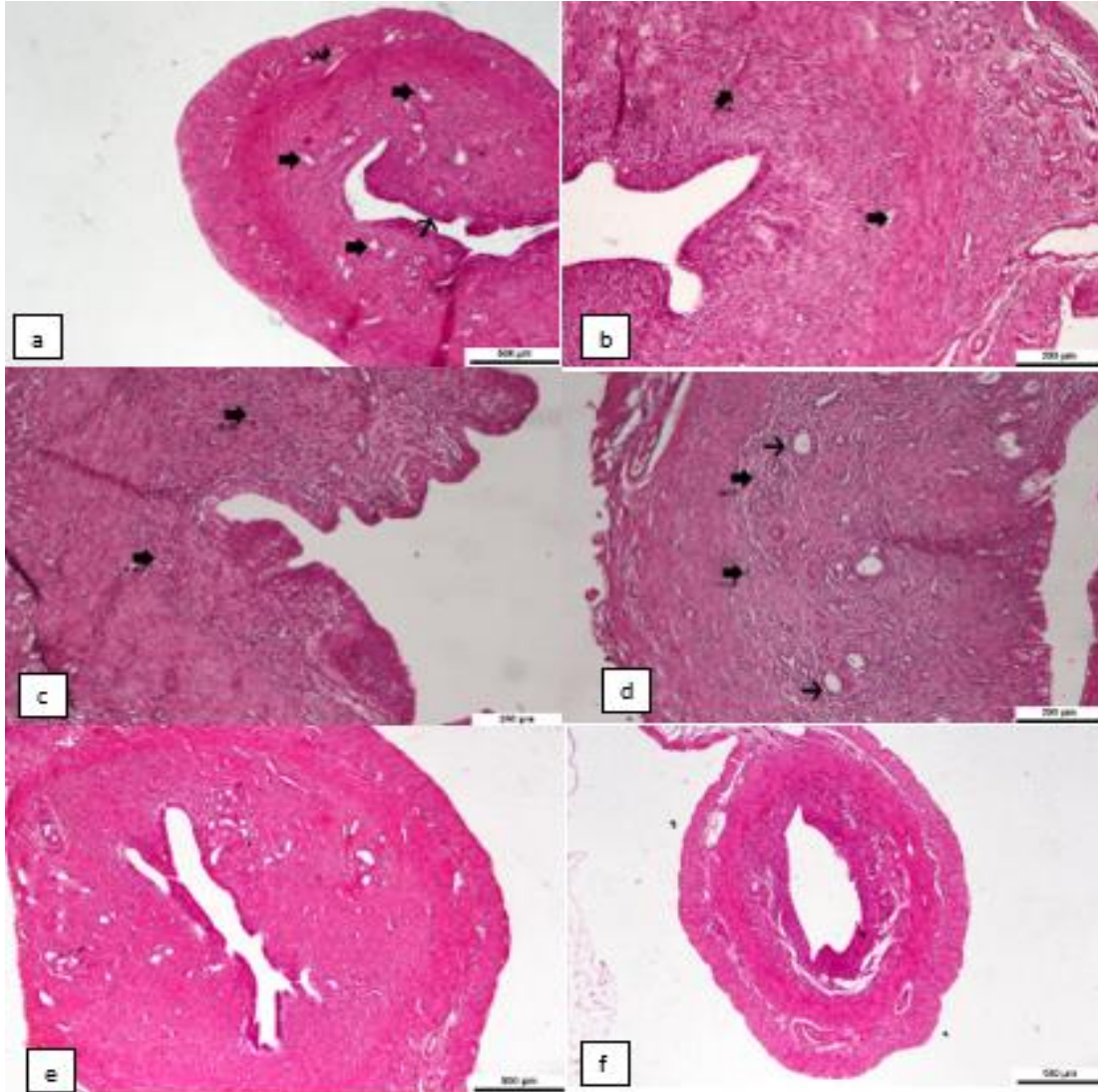
Çizelge 3.6. TNF- α (pg/mL), IL-1 β (ng/mL) sitokin ve ZO-1(ng/L) proteini ölçümleri ($\bar{x}$ + SD)

	Sham	Sham Cannabis	Taşıyıcı	Antibiyotik	Cannabis	Kombine	P Değeri
TNF- α	1565,99 $\pm$ 907,22 ^a	879,18 $\pm$ 503,94 ^{ab}	876,30 $\pm$ 302,89 ^{ab}	1161,74 $\pm$ 915,30 ^{ab}	675,12 $\pm$ 355,99 ^{ab}	488,26 $\pm$ 78,13 ^b	0,028
IL-1 β	32,42 $\pm$ 4,24	31,50 $\pm$ 6,69	28,58 $\pm$ 6,74	31,42 $\pm$ 6,50	28,70 $\pm$ 5,94	28,78 $\pm$ 8,81	0,723
ZO-1	709,97 $\pm$ 174,43	658,73 $\pm$ 181,20	703,79 $\pm$ 139,32	792,44 $\pm$ 285,87	676,74 $\pm$ 148,97	709,65 $\pm$ 163,53	0,976

SD: Standart sapma, $\bar{X}$: Aritmetik ortalama *P<0,05: İstatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir. **P<0,01: Yüksek düzeyde istatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir. Aynı satırda farklı harfler taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark anlamlıdır (P < 0,05).

3.7. Uterusun Makroskopik ve Histopatolojik Analiz Bulguları

Resim 3.5. Uterus dokusundaki gruplar arası farklılıkları yansıtan histopatoloji görüntüleri



a) Taşıyıcı Grup Kalın Ok: Endometriyal bezlerde hiperplazi İnce Ok: Uterusta dejeneratif alan Kıvrımlı Ok: Damarlarda hiperemi b) Antibiyotik Grubu Kalın ok: hemoraji c) Cannabis Grubu Kalın ok: mononükleer hücre d)Kombine Grup Kalın ok: mononükleer hücre İnce ok: Endometriyal bezlerde hiperplazi e)Sham Grubu f) Sham Cannabis Grubu

Resim 3.6. Sakrifikasyon sonrası uterusun makroskopik görüntüleri



a) Taşıyıcı Grup b) Antibiyotik Grubu c) Cannabis Grubu d)Kombine Grup e)Sham Grubu f) Sham Cannabis Grubu

Histopatolojik skorlar (UH, UD, UMNHI, UEBH) ve grupların uterus ağırlıklarının ölçümleri Çizelge 3.7’de verilmiştir. Tüm gruplara ait uterusun makroskobik görüntüleri Resim 3.6’de ve histopatoloji görüntüleri Resim 3.5’da verilmiştir. İncelenen tüm histopatolojik parametrelerde gruplar arasında istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($P = 0,000$). Taşıyıcı ve Antibiyotik gruplarının tüm histopatolojik skorları, sağlıklı dokuyu temsil eden Sham ve Sham Cannabis gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır. Cannabis ve Kombine tedavi gruplarının histopatolojik skorları ise, istatistiksel açıdan belirgin bir farklılık yaratmayarak diğer gruplarla benzerlik göstermiştir (Çizelge 3.7.).

Grupların uterus ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($P = 0,002$). En düşük ağırlık ortalaması Sham Cannabis grubunda $0,80 \pm 0,19$ olarak gözlenmiştir. Bu değerin Antibiyotik ($1,34 \pm 0,23$) ve Kombine ($1,48 \pm 0,33$) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Histopatolojik skorlar (UH, UD, UMNHI, UEBH) ve grupların uterus ağırlıklarının (gr) ölçümleri ($\bar{x}$ + SD)

	Sham	Sham Cannabis	Taşıyıcı	Antibiyotik	Cannabis	Kombine	P Değeri
UH	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	2,86±0,38 ^b	1,71±0,49 ^b	1,43±0,53 ^{ab}	1,00±0,00 ^{ab}	0,000
UD	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	3,00±0,00 ^b	1,71±0,49 ^b	1,29±0,49 ^{ab}	1,00±0,00 ^{ab}	0,000
UMNHI	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	2,86±0,38 ^b	1,43±0,53 ^b	1,29±0,49 ^{ab}	1,00±0,00 ^{ab}	0,000
UEBH	0,00±0,00 ^a	0,00±0,00 ^a	3,00±0,00 ^b	1,71±0,49 ^b	1,14±0,38 ^{ab}	1,00±0,00 ^{ab}	0,000
Ağırlıklar	1,13±0,17 ^{ab}	0,80±0,19 ^a	1,21±0,34 ^{ab}	1,34±0,23 ^b	1,16±0,19 ^{ab}	1,48±0,33 ^b	0,002

SD: Standart sapma, $\bar{X}$: Aritmetik ortalama *P<0,05: İstatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir. **P<0,01: Yüksek düzeyde istatistiksel fark olduğunu ifade etmektedir. Aynı satırda farklı harfler taşıyan gruplar arasındaki istatistiksel fark anlamlıdır (P < 0,05). UH: Uterusta Hemoraji UD: Uterusta Dejenerasyon UMNHI: Uterusta Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu UEBH: Uterusta Endometriyal Bez Hiperplazisi.

Çalışmada incelenen histopatolojik skorlar ile uterus ağırlıkları, koloni sayısı, biyofilm düzeyi, TNF- α , IL-1 β ve ZO-1 arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yapılan korelasyon analizi sonuçları Çizelge 3.8’de sunulmuştur.

Histopatolojik parametrelerin kendi içinde (UH, UD, UMNHI, UEBH) tamamının birbirleriyle istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı, pozitif yönde ve güçlü düzeyde ($P = 0,000$) olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.8).

Biyofilm düzeyi ile koloni sayısı arasında pozitif yönde, güçlü ve anlamlı bir ilişki ($P = 0,000$) tespit edilmiştir. Biyofilm düzeyi ve koloni sayısındaki artışın; UH, UD, UMNHI ve UEBH skorları ile pozitif yönde ve güçlü düzeyde ($P = 0,000$) ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.8).

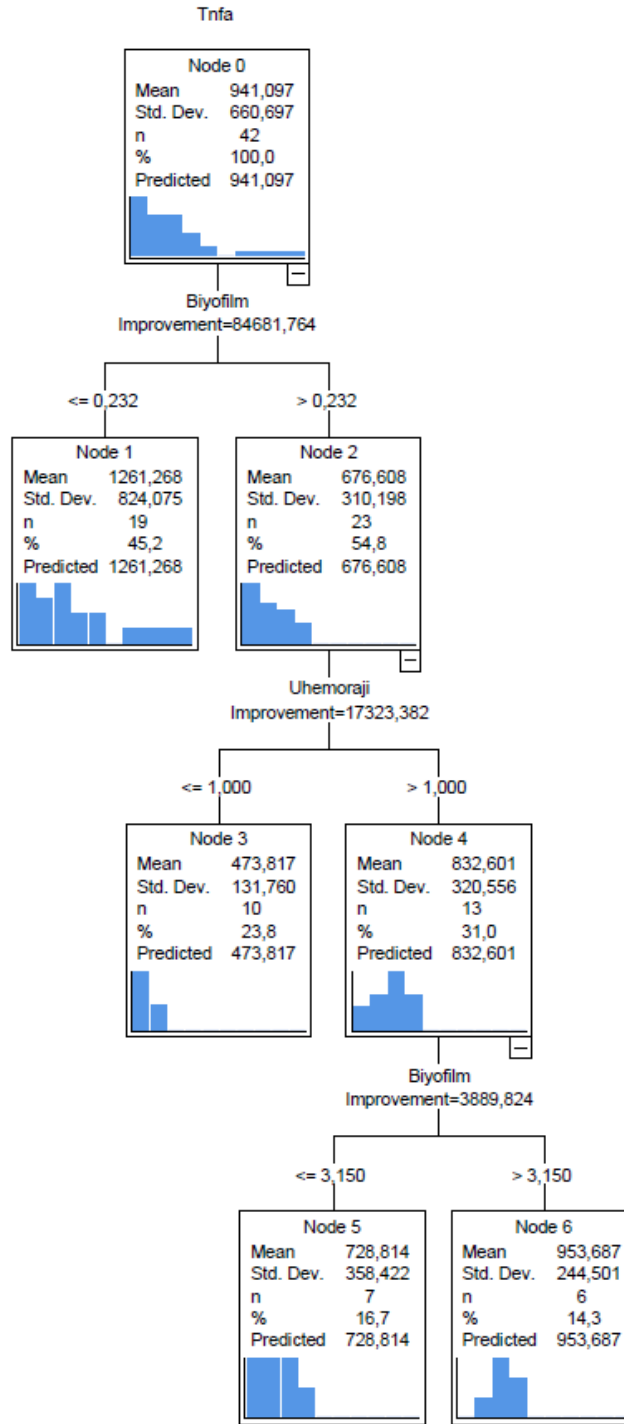
Çalışmada ölçülen TNF- α , IL-1 β , ZO-1’in hem kendi aralarında hem de histopatolojik skorlar, koloni sayısı, biyofilm düzeyi ve ağırlıklar ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır ($P > 0,05$). Uterus ağırlıklarının da diğer değişkenlerle istatistiksel olarak anlamlı ve güçlü bir korelasyon oluşturmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8. Histopatolojik skorlar, uterus ağırlıkları (gr), koloni sayısı, biyofilm(A570nm) ve TNF- α (pg/mL), IL-1 β (ng/mL) ile ZO-1(ng/L) arasındaki korelasyon analizi

		UH	UD	UMNHI	UEBH	Biyofilm	Koloni Sayısı	TNF- α	IL-1 β	ZO-1	Ağırlıklar
UH	r ^a		,965**	,943**	,956**	,845**	,796**	-0,122	-0,152	0,054	0,257
	P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,441	0,337	0,734	0,101
UD	r ^a	,965**		,938**	,952**	,858**	,810**	-0,155	-0,122	0,137	0,237
	P	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,328	0,441	0,388	0,131
UMNHI	r ^a	,943**	,938**		,967**	,877**	,819**	-0,222	-0,058	-0,009	0,301
	P	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,157	0,714	0,954	0,053
UEBH	r ^a	,956**	,952**	,967**		,879**	,861**	-0,207	-0,139	0,076	0,304
	P	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,189	0,379	0,634	0,050
Biyofilm	r ^a	,845**	,858**	,877**	,879**		,931**	-0,134	-0,135	0,000	0,139
	P	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,397	0,393	0,998	0,380
Koloni Sayısı	r ^a	,796**	,810**	,819**	,861**	,931**		-0,131	-0,043	0,008	0,134
	P	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,409	0,787	0,962	0,397
TNF- α	r ^a	-0,122	-0,155	-0,222	-0,207	-0,134	-0,131		0,004	0,226	-0,174
	P	0,441	0,328	0,157	0,189	0,397	0,409		0,979	0,151	0,270
IL-1 β	r ^a	-0,152	-0,122	-0,058	-0,139	-0,135	-0,043	0,004		0,148	0,237
	P	0,337	0,441	0,714	0,379	0,393	0,787	0,979		0,349	0,131
ZO-1	r ^a	0,054	0,137	-0,009	0,076	0,000	0,008	0,226	0,148		0,292
	P	0,734	0,388	0,954	0,634	0,998	0,962	0,151	0,349		0,061
Ağırlıklar	r ^a	0,257	0,237	0,301	0,304	0,139	0,134	-0,174	0,237	0,292	
	P	0,101	0,131	0,053	0,050	0,380	0,397	0,270	0,131	0,061	

Korelasyon Katsayısı: (r^a).**: Yüksek düzeyde korelasyon olduğunu ifade etmektedir. UH: Uterusta Hemoraji UD: Uterusta Dejenerasyon UMNHI: Uterusta Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu UEBH: Uterusta Endometrial Bez Hiperplazisi.

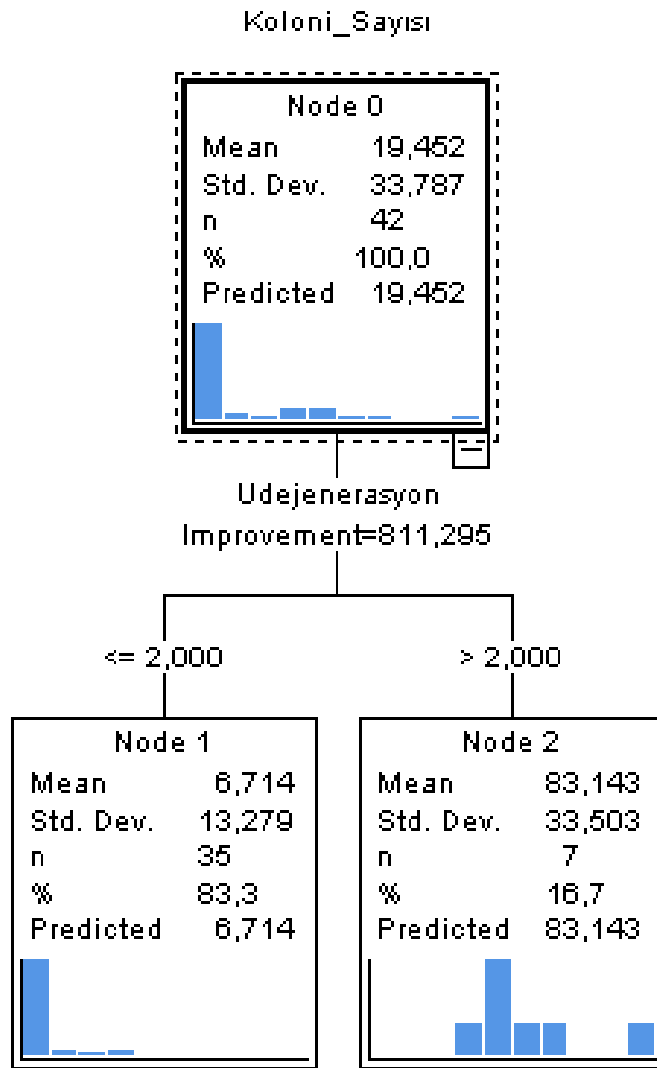
Çalışmada, dokulardaki TNF- α düzeyleri üzerinde etkili olan parametreleri belirlemek amacıyla Karar Ağacı analizi gerçekleştirilmiştir. Toplam 42 sıçandan elde edilen TNF- α ortalaması $941,097 \pm 660,697$ pg/mL olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1). TNF- α düzeyleri üzerindeki en etkili değişkenin Biyofilm seviyesi olduğu belirlenmiştir. Biyofilm düzeyi 0,232 ve altında olan 19 sıçana ait TNF- α ortalaması $1261,268 \pm 824,075$ pg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu grup, toplam örneklemin %45,2'sini oluşturmaktadır. Biyofilm düzeyi 0,232'nin üzerinde olan 23 sıçana ait TNF- α ortalaması ise $676,608 \pm 310,198$ pg/mL olarak bulunmuştur. Bu grup ise toplam örneklemin %54,8'ini oluşturmaktadır. Biyofilm düzeyi 0,232'nin üzerinde olan Node 2'de UH değişkeni etkili bulunmuştur. Node 3'de Hemoraji skoru 1,000 ve altında olan 10 sıçanda TNF- α düzeyi $473,817 \pm 131,760$ pg/mL'ye düşmüş, Node 4'de ise Hemoraji skoru 1,000'in üzerinde olan 13 sıçanda TNF- α ortalaması $832,601 \pm 320,556$ pg/mL olarak belirlenmiştir. Hemoraji skoru 1,000'in üzerinde olan Node 4'te, biyofilm düzeyinin tekrar etkili olduğu değerlendirilmiş, Node 5 biyofilm düzeyi $\leq 3,150$ olan 7 sıçana ait TNF- α düzeyi $728,814 \pm 358,422$ pg/mL olarak belirlenmiştir. Node 6'da ise biyofilm düzeyi $> 3,150$ olan ve hemorajisi bulunan 6 sıçana ait TNF- α ortalamasının $953,687 \pm 244,501$ pg/mL seviyesine yükseldiği gözlenmiştir (%14,3) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. TNF- α düzeylerinin karar ağacı analizi bulguları

Çalışmada, uterus dokusu bakteri koloni sayıları üzerinde etkili değişken uterus dejenerasyonu olarak belirlenmiştir. Toplam 42 sıçandan (Node 0) elde edilen genel koloni sayısı ortalaması $19,452 \pm 33,787$ olarak saptanmıştır (Şekil 3.2). Karar ağacı analiz verileri, uterus dejenerasyon skorunun (Node 1) 2,000 ve altında olan 35 sıçandan elde edilen koloni sayısı ortalaması $6,714 \pm 13,279$ olarak belirlenmiştir. Uterus dejenerasyon skoru 2,000'in üzerinde olan karar ağacının Node 2 bölümünde 7 sıçana ait koloni sayısı ortalaması $83,143 \pm 33,503$ değeriyle daha yüksek seviyede bulunmuştur (Şekil 3.2).





Şekil 3.2. Uterus koloni sayısının karar ağacı analizi bulguları

4. TARTIŞMA

Günümüzde endometritis olgularında *E. coli* sıklıkla izole edilen patojen olarak bilinmektedir (Sheldon ve Owens 2017). *Escherichia coli*'nin oluşturduğu biyofilm tabakası ve buna bağlı oluşan antimikrobiyal direnç ile birlikte ortaya çıkan kalıcı doku hasarı nedeniyle yaşanan infertilite problemleri olgunun tedavi sürecini zorlaştırmaktadır (Awosile 2019; Ferris 2022; Parveen vd., 2025). Sahada sıklıkla kullanılan antibiyotik tedavileri biyofilm tabakasını aşarak patojeni elemine etmede ve inflamasyon sonucunda oluşan doku hasarı onarımında yetersiz olabilmektedir (Parveen vd., 2025). Bu çalışmanın temelleri antiinflamatuvar, epitelizan ve antimikrobiyal özellikleri, fitokimyasal açıdan zengin olan *Cannabis sativa* L. yağının (Zandkarimi vd., 2023), endometritis tedavisinde alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılabilirliğini değerlendirilmek üzere oluşturulmuştur. Sıçanlarda deneysel endometritis modeli oluşturularak kurgulanan bu tez çalışmasında *Cannabis sativa* L. yağının tek başına ve antibiyotik ile birlikte kullanımının biyofilm tabakası üzerine etkilerini ve tedavi edici etkinliği mikrobiyoloji, sitoloji, histopatoloji, yangı mediyatörleri ve bariyer bütünlüğü analizleri yapılarak incelenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan *Cannabis sativa* L. tohum yağının fitokimyasal içeriğinde, ihmal edilebilir düzeyde psikoaktif Δ^9 -THC olduğu, kannabidiol (CBD) ve çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından ise zengin bir içeriği olduğu belirlenmiştir. Kenevir yağı ekstratının içeriğinde bulunan PUFA'ların doku onarımı ve epitelizasyon sürecinde olumlu etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Yousofi vd., 2011; Munteanu vd., 2023). Çalışmamızın *Cannabis sativa* L. tohum yağ asidi kompozisyonu analizleri sonucunda içeriğinin %75,10'unun PUFA'lardan oluştuğu belirlenmiştir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin ise %55'inin linoleik asit ve %18-20'sinin alfa linolenik asitten oluştuğu analizler sonucunda gözlenmiştir. Çalışmamızda kullanılan kenevir tohum yağının içerik analizi verileri Leizer vd. (2000), Grotenhermen ve Russo (2002) ile Callaway (2004)'in bildirdiği *Cannabis sativa* L. tohum yağının fitokimyasal içeriği ve yağ asitleri kompozisyonu verileri ile benzerlik taşımaktadır. *Cannabis sativa* L. tohum yağının içeriğindeki PUFA'lardan olan Omega-6/Omega-3 yağ asitleri hücre zarı lipid profilini düzenleyerek, antiinflamatuvar

görev üstlenmekte ve hasarlı dokularda olumlu etki oluşturmaktadır (Mikulcová vd., 2017; Li vd., 2024).

Kannabidiolün bu yönüyle doku hasarı onarımı veya epitelizasyonuna etkilerinin tartışmalı olduğu belirtilmektedir. Wilkinson ve Williamson (2007) ile Klein vd. (2018) tarafından yapılan çalışmalarda CBD'nin keratinosit proliferasyonunu inhibe edebileceğini ve doku hasarı iyileşmesini direkt olarak hızlandırmadığı bildirilmiştir. Ancak Styrzewska vd. (2015)'te CBD'nin fibroblast ve keratinosit morfolojisini bozmadığını, matriks metalloproteinaz aktivitesini arttırdığını ve buna bağlı olarak hücre migrasyonuna olumlu etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızdaki bulgularla karşılaştırıldığında, Kombine ve Cannabis gruplarında yüzey morfolojisinin korunduğunu ve dejenerasyonun baskılandığı görülmekte, *Cannabis sativa* L. tohum yağının içeriğindeki CBD, PUFA, terpenlerin birlikteliğine bağlı olarak Styrzewska vd. (2015)'nin belirttiği doku hasarına olumlu etkisiyle uyumlu olduğu gözlenmektedir.

Yapılan çalışmalarda, kenevir ekstraktlarında bulunan CBD, CBG ve beta-karyofillen ile limonen gibi terpenlerin bir arada bulunmasının, hücre zarını bozarak *S. aureus* ve *E. coli* gibi patojenlere karşı tek başına saflaştırılmış bileşenlerden çok daha yüksek antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Ostapczuk vd., 2021; Schofs vd., 2021; Walsh vd., 2021; Stasiłowicz-Krzemień vd., 2024). Çalışmamızda gözlenen doku onarımı ve inflamasyonun sınırlandırılması etkilerinin tek bir bileşene bağlı olarak değil, ekstraktın biyolojik bileşenlerinden kaynaklanan sinerjik etki ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Çiftlik hayvanlarında postpartum dönemde uterustan 200'den fazla bakteri türü izole edilebilmektedir. Bu bakterilerin tamamı patojen kabul edilmemekte ve klinik belirti göstermemektedir (Raheel vd., 2020). Sağlıklı ineklerin uterus ve vajinasından da *E. coli* izole edilebilmesi, her *E. coli* suşunun tek başına uterusta patojenite oluşturmadığını göstermektedir (Gonzalez Moreno vd., 2020). Endometritis oluşturabilen, uterus ortamında patojen olabilen spesifik suşlar “Endometriyal Patojenik *E. coli* (EnPEC)” olarak adlandırılmaktadır (Sheldon vd., 2010). Çalışmamızda in vivo ve in vitro endometritis modelleri oluştururken ATCC vb. standart bir laboratuvar suşu kullanmak yerine, klinik

metritisli ineğe ait hastalıklı dokudan izole edilmiş, moleküler analizi yapılarak doğrulanmış olan İzolat 1: *E.coli strain R78* saha suşu kullanılmıştır. Deneysel endometritis modelimizin oluşmasını ise sahada patojenite sebebi olan suşun kullanılmış olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yapılan in vitro çalışmalarda kommensal suşlarla EnPEC izolatları karşılaştırıldığında klinik vakalardan elde edilen EnPEC izolatlarının endometriyal hücrelere yüksek oranda adezyon gösterdiği ve invaze olduğu bildirilmiştir (Sheldon vd.,2010). Sahadaki klinik vakalardan izole edilen *E. coli* izolatlarının yapılan in vitro çalışmalarda güçlü biyofilm üretebilme kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Fiamengo vd., 2020; Gonzalez Moreno vd., 2020). Çalışmamızda kullanılan saha izolatının da adezyon yeteneğinin yüksek olduğu sadece uterusu *E.coli* inokule edilip tedavi edilmeyen taşıyıcı gruptaki koloni sayısının ve biyofilm düzeylerinin üst seviyelerde olması ile yapılan çalışmaları bu yönüyle desteklemektedir. Sheldon vd. (2010) yaptığı çalışmada farelerde sağlıklı inekten alınan kommensal suş ile oluşturulan endometritis modelinde hastalık belirtisi oluşmadığını bildirmiştir. Metritis vakasından izole edilen saha suşundan oluşturulan endometritis modelinde ise şiddetli toksemi, uterus lümeninde pürülan eksudat birikimi, yoğun hücrel infiltrasyon ve ağır bakteriyel invazyonu tetiklediğini belirtmiştir. Ferris vd. (2016) klinik endometritisi taklit edebilmek adına, kısırak modelinde sahadan elden edilen izolatları kullanmış ve endometrial kıvrımlara sıkıca tutunan in vivo biyofilm tabakaları elde ettiğini belirtmiştir. Çalışmamızda da taşıyıcı grubun vajinal svaplarında gözlenen taze kanlı, seröz yoğun akıntı, sitolojik bakısındaki nötrofil infiltrasyonu ve ultrastrüktürel analizlerde görülen doku yüzeyindeki diffüz, EPS içerisine gömülmüş olgun biyofilm mikrokolonileri saptanmıştır. Bu durum endometritis modeli oluşturmak için kullandığımız suşun EnPEC virülansında olduğunu ve hastalığın klinik patogenezi ile örtüştüğünü düşündürmektedir.

Çalışmamızda oluşturulan in vitro endometritis modelinde, patojenik *E. coli* izolatına karşı *Cannabis sativa* L. yağının farklı dozlardaki biyofilm tabakasına karşı etkinliği analiz edilmiş ve antibiyofilm etkisinin olduğu gözlenmiştir. Verilen en yüksek konsantrasyon 400 mg/mL olarak belirlenmiştir (Dziwenka vd., 2020). Bunun sonucunda %77,6 oranında inhibisyon olduğu görülmüştür. Mililitlerdeki *Cannabis sativa* L. yağı konsantrasyonu

azaldıkça inhibisyon oranının düştüğü görülmüştür. Retrospektif çalışmalarda, başta Tip 1 pilus bileşeni olan fimH olmak üzere papC ve hlyA gibi virülens faktörleri ile patojen *E. coli* suşlarının dokuya adezyonu ve biyofilm oluşturmaları ile ilişkili olduğunu vurgulamaktadır (Silva vd., 2009; Ma vd., 2018; Raheel vd., 2020). Patojenitesi yüksek bakterilerin dokuya adezyonu, orada olgunlaşması ve EPS üretiminden sorumlu genlerin varlığı biyofilm oluşumunun kriterlerini oluşturmaktadır (Schiebel vd., 2017). Sığırlarda metritis ve endometritis patogeneğinde önemli rol oynayan fimH geninin varlığı biyofilm oluşumunu desteklemektedir. Oluşan biyofilm, geleneksel antibiyotik tedavilerin etkinliğini sınırlandırmaktadır (Bicalho vd., 2012; Raheel vd., 2020). Bitkisel ekstraktların, patojen bakterilerin oluşturdıkları biyofilmlerde alt asgari inhibitör konsantrasyonlarda (sub-MIC) bile antibiyofilm etki gösterdiği bildirilmektedir. Kenevir ekstraktları ve içeriklerindeki aktif bileşenler, biyofilm oluşumunda kilit rol oynayan iki bileşenli sinyal iletim sistemlerini (TCSs) aşağı regüle ederek QS, plo ve lsrB gen ekspresyonlarını baskılamaktadır. Bu durum bakterilerin fimH adezin proteini aracılığıyla gerçekleştirdiği hücreler arası iletişimin bozulmasına yol açmaktadır (Frassinetti vd., 2020; Zhang vd., 2022). Kenevir ekstraktında bulunan fitokannabinoid ve terpenlerin bakteriyel hücre zarı potansiyelini depolarize ederek hücrelerinin dış zarını oluşturan moleküler yapı olan LPS tabakasını bozduğu belirtilmektedir. Ekstraktın bu mekanizmayla bakteriyel lizise neden olduğu bildirilmektedir (Stasilowicz-Krzemien vd., 2024). İn vitro çalışmamızda *Cannabis sativa* L. yağının dozu yükseldikçe antibiyofilm etkisinin arttığının gözlenmesi, ekstraktın patojen üzerindeki QS yollarının genetik inhibisyonu ve LPS tabakasının bozulması ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Çalışmadaki in vitro analizlerde antibiyotik grubunun tüm dozlarda %90'ın üzerinde biyofilm inhibisyonu sağladığı belirlenmiştir. Geleneksel antimikrobiyal ajanların patojen üzerindeki bu doğrudan baskılayıcı etkisi laboratuvar ortamında beklenen bir durumdur. Ancak, çalışmadaki in vivo endometritis modelindeki histopatolojik bulgularımızda doku hasarı onarımının antibiyotiğin tek başına kullandığımız grupta yetersiz kalması, endometritis tedavisinde sağlanan bakteriyel eradikasyonun yeterli olmadığını düşündürmektedir. Bu durumdan yola çıkarak bakteriyel eradikasyonun sağlanması, doku hasarının giderilmesi ve doku bütünlüğünün korunmasının fitoterapötik ajanların desteğiyle sağlanabileceği kanısına varılmaktadır.

Çalışmamızın in vivo histopatolojik incelemesinde Antibiyotik grubunun Kannabis grubu ve Kombine gruba ile kıyasla doku onarımında başarısız olduğu, sonuçlarının Taşıyıcı gruba daha yakın olduğu görülmüştür. Antibiyotik grubunun in vitro çalışmada analiz edilen güçlü bir biyofilm inhibisyonu sağlaması, ancak in vivo endometritis modeldeki histopatolojik hasar skorlarında Taşıyıcı gruba yakın, yüksek seviyelerde kalması dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalarda, uterus enfeksiyonlarının sahada rutin olarak antibiyotik ve hormonlarla tedavi edildiği bildirilmektedir. Tüm tedavilerin subklinik endometritisin önüne geçemediği, bu durumun ise uterustaki doku hasarına bağlı olarak infertiliteye sebebiyet verdiği belirtilmektedir (Parveen vd., 2025). Bizim çalışmamızda da Antibiyotik grubundaki sitolojilerde görülen nötrofil yoğunluğu ve endometriyal dejenerasyon şiddeti, inflamasyonun tam olarak baskılanamadığını işaret etmektedir. Çalışmamızın bulgularına benzer olarak, yalnızca antibiyotik uygulanan in vivo endometritis modellerinde bakteriyel yük azalsa dahi vasküler dilatasyon, konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonunun devam ettiği bildirilmektedir (Zhang vd., 2022). Antibiyotiğin tek başına kullanımının endometritisteki hormonal bozulmayı ve hücresel östrojen reseptörü ESR1/ESR2 hasar onarımında yetersiz olduğu belirtilmektedir (Han vd., 2021). *Escherichia coli* gibi patojenitesi yüksek olan bakteriler uterus ortamında planktonik formda değil biyofilm tabakası içinde yaşamaktadırlar. Biyofilm tabakası içinde yaşayan bu patojenler planktonik formdakilere kıyasla antibiyotiklere karşı 1000 kata kadar fazla direnç gösterebilmektedirler. Patojenlerin dokulardaki bu korunma ve yerleşim stratejileri geleneksel antibiyotik tedavilerinin doku hasarını önleyememesinin temelini oluşturmaktadır. Bu nedenle endometritis tedavilerinde tek başına kullanılan antibiyotikler kronik enfeksiyonların önüne geçmede yetersiz kalmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda, antimikrobiyal ajanların planktonik formdaki patojen eradikasyonunda başarılı olduğu gözlenmiştir. Biyofilm form oluşturabilen bakterilere karşı ise antibakteriyel ajanların biyofilm tabakasını aşarak ulaşamadığı ve tedavide etkisiz kaldığı bildirilmiştir (Ferris vd., 2016). Kronikleşmiş endometritis vakalarının tedavisinde antibiyogram sonucuna uygun antibiyotik kullanılmasına rağmen başarıya ulaşılamayan durumlarda biyofilm varlığından şüphelenilmelidir (Ferris, 2021). Bu durum alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımının gerekliliğini, antibiyotiklerin başarısının biyofilm tabakasının aşılmasına bağlı olduğuna,

antibiyotiklerle fitoterapötiklerin birlikte kullanımlarının bunun önüne geçebileceği bildirilmektedir (Ferris vd., 2016). Çalışmamızdaki ultrastrüktürel analizlerde, Cannabis ve Antibiyotik gruplarının endometriyal doku yüzeylerinde herhangi bir biyofilm görüntüsüne rastlanmamış olması antibakteriyal ajan ile *Cannabis sativa* L. tohum yağının in vivo ortamda patojenin biyofilm oluşumunu olumsuz etkilediğini düşündürmektedir. Kombine grubun SEM görüntülerinde şüpheli biyofilm odak kalıntılarına rastlanmasına rağmen histopatolojik tüm parametrelerdeki skorlarının 1,00 seviyelerine gerilediği görülmektedir. Tarayıcı elektron mikroskop görüntülerinde Taşıyıcı grupta diffüz EPS tabakasının olması sağlıklı doku bütünlüğü görüntüsünün olmaması dikkat çekicidir. Tek başına Cannabis ve tek başına Antibiyotik gruplarında in vivo biyofilm formasyonu izlenmezken, Kombine grupta sınırlı düzeyde de olsa biyofilm odak kalıntılarına rastlanması patojenin kimyasal strese karşı geliştirdiği savunma yanıtı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada, bakterilerin çoklu antimikrobiyal streslere maruz kaldığında hayatta kalabilmek için EPS matriks üretimini geçici olarak artırabildiği belirtilmektedir (Kaplan, 2011). Bu durumda *Cannabis sativa* L. tohum yağının antiinflamatuvar ve immünomodülatör etkileri göz önüne alındığında, enfeksiyon bölgesindeki lokal lökosit eliminasyonunu geçici olarak yavaşlatmış olabileceği de düşünülmektedir. Kombine grubun SEM görüntülerinde sınırlı odaklar halinde biyofilm odaklarının gözlenmesi antibiyotik tarafından elimine edilen patojen kalıntılarının ve parçalanmış EPS matriksinin 21 günlük deneysel süreçte lümenin tamamen uzaklaştırılamamasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Bu sınırlı biyofilm odaklarının varlığına rağmen, Kombine grupta histopatolojik skorların düşük seviyelerde olması, *Cannabis sativa* L. tohum yağının antiinflamatuvar etkisi ve doku onarım kapasitesinden kaynaklandığı kanısına varılmaktadır. Fitoterapötik ajanların antibiyotiklerle kombine kullanımlarının, antioksidan kapasiteyi artırarak tek başına antibiyotik tedavisine kıyaslandığında oksidatif stresi ve doku hasarı skorlarını düşürdüğü, uterus morfolojisini normal yapısına döndürdüğü retrospektif çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır (Demirel vd., 2019; Zhang vd., 2022). Bu durum çalışmamızın Kombine grubundaki histopatoloji skoru bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

Nötrofiller inflamatuvar yanıtta temel rol oynayan, doku hasarından sonraki ilk 48 saatte inflamasyon bölgesine göç eden ilk hücreler olarak bilinmektedir (Young ve McNaught, 2011). Kannabidiol, GPR55 reseptörünü modüle edip NF-kB transkripsiyon faktörünü inhibe ederek IL-1 β , IL-6, TNF- α ve COX-2 ekspresyonunu güçlü bir şekilde baskılamakta (Klein vd., 2018; Nahler, 2020) ve nötrofillerin kemotaksisi ile proliferasyonunu inhibe etmektedir (Napimoga vd., 2009; Burstein, 2015; Pisanti vd., 2017). İyileşmenin erken evresinde nötrofiller tarafından salınan ve vasküler permeabilite artışı ile ödemden sorumlu olan TNF- α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar sitokinlerin CBD tarafından bu şekilde modüle edilmesi aşırı inflamasyonun önüne geçerek doku onarımına olumlu yönde katkı sağlamaktadır (Brizeno vd., 2016; Wagner vd., 2016; Oliveira vd., 2016). Yapılan çalışmalarda böbrek (Pan vd., 2009), akciğer (Ribeiro vd., 2015) ve nöroinflamasyon (Esposito vd., 2009) modellerinde bildirilen bu baskılayıcı etki, çalışmamızda gözlenen Cannabis ve Kombine gruplardaki endometritis modelimizde gözlemlediğimiz azalan histopatolojik hasar skorlarını doğrudan açıklamaktadır. Kannabidiol TNF- α ve IL-1 β artışının önüne geçerek vasküler geçirgenliği azaltmakta, hemorajiye engel olmakta ve uterus dokusuna yönelik nötrofil kemotaksini engellemektedir (Wagner vd., 2016). Elde ettiğimiz bulgularda, oksidatif strese bağlı bu hücresel yıkımın kannabidiolün bu özellikleriyle engellenerek endometriyal dejenerasyonun önüne geçildiği ve özellikle *Cannabis sativa* L. yağı uygulanan gruplarda uterus dokusundaki nötrofil düzeylerindeki azalma, ekstraktın zengin CBD içeriği ve onun immünomodülatör mekanizmaları ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda ölçülen TNF- α , IL-1 β sitokinleri ve ZO-1 proteini bulguları, doku inflamasyonu ve hücresel yanıtı değerlendirmek amacıyla fitoterapötik ajanların immunomodülatör etkileri dikkate alınarak incelenmiştir. Gruplardaki TNF- α seviyeleri arasında anlamlı istatistiksel fark bulunmuş ve en düşük seviyenin Kombine grubunda olduğu belirlenmiştir. Taşıyıcı grupta TNF- α ve IL-1 β sitokinleri seviyelerinin düşük çıkmıştır. Tüm gruplar arasındaki IL-1 β sitokin seviyelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu durum 21 günlük deneysel sürecin enfeksiyonu kronik seviyeye taşımasıyla ilişkilendirilebilir. Yapılan çalışmalarda, uterusu *E. coli* varlığına bağlı LPS

salınımının endometriyal hücrelerdeki TLR4/MD-2/CD14 reseptör kompleksleri tarafından tanındığı ve hücre içi Nükleer Faktör kappa B (NF-κB) sinyal yolağını aktive ettiği bildirilmiştir. İlk 6 saatlik erken fazda TNF-α, IL-1β, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin gen transkripsiyonunu hızla başlattığı vurgulanmaktadır (Sheldon vd., 2010; Barichello vd., 2012; Huang vd., 2023). Enfeksiyonun akut sürecinde hızla pik yapan bu proinflamatuvar sitokinler, kronik fazda düşüşe geçmektedir. Nükleer Faktör kappa B yolağının aktif kalması nedeniyle makrofaj ve lenfosit infiltrasyonuna bağlı kalıcı, düşük düzeyli bir inflamasyon da devam etmektedir (Barichello vd., 2012; Huang vd., 2023). Çalışmamızda elde ettiğimiz sitokin verileri ve Taşıyıcı grupta 21. günde saptanan yüksek mononükleer hücre infiltrasyonu skorları, yapılan çalışmada açıklanan bu kronik enfeksiyon süreci ile benzerdir.

Çalışmamızdaki TNF-α düzeyleri Karar Ağacı analizi bulgularında TNF-α üzerinde etkili değişkenin biyofilm seviyesi olduğunu göstermektedir. Bu durum, sitokin yanıtının oluşan mikrobiyolojik bariyerin olgunlaşma derecesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir. Karar ağacındaki ilk Node 1 ayrımında biyofilm seviyesinin 0,232'nin altındaki dokularda TNF-α ortalamasının 1261,268±824,075 pg/mL olarak en yüksek seviyeye ulaşması, patojenin EPS oluşturarak immün sistemden tam anlamıyla kendini koruyamadığı durumlarda hücrel bağışıklık yanıtının şiddetli bir şekilde devam ettiğini yansıtmaktadır. Biyofilm seviyesinin 0,232'nin üzerinde olduğu Node 2 ayrımında ise TNF-α ortalamasının 676,608±310,198 pg/mL seviyelerine düşmesi olgunlaşmış biyofilm tabakasının bakterileri izole ederek hücrel tanınmayı zorlaştırdığına ve lokal immün yanıtı baskıladığına işaret etmektedir. Bu durum Barichello vd. (2012) ile Huang vd. (2023) tarafından açıklanan sitokin salınımının frenlenmesi ve düşük düzeyli inflamasyonla seyretmesi bulgusuyla benzerlik göstermektedir. Karar ağacının Node 3 bölümündeki biyofilm seviyesinin yüksek seyrettiği dokulardaki hasar skorlarını değerlendirmektedir. Yoğun biyofilm oluşumu altındaki dokularda uterus hemorajisi skoru $\leq 1,00$ olan dokularda TNF-α düzeyi 473,817±131,760 pg/mL olarak düşük seviyelerde ölçülmüştür. Node 4'te yine yoğun biyofilm tabakası olan ve doku hemorajisi skoru $> 1,00$ olan dokulardaki TNF-α bu ortalamasının 832,601±320,556 pg/mL seviyelerine çıkması dikkat çekmektedir. Node 6

'da ise uterus hemorajisi bulunan ve biyofilm seviyesi 3,150'nin üzerine çıkan dokulardaki TNF- α ortalamasının 953,687 $\pm$ 244,501 pg/mL'ye yükseldiği görülmüştür. Çalışmamızdaki bu bulgular Ferris (2022) ile Fiamengo vd. (2020)'nun endometriyal bezlerin derinliklerine yerleşen ve elimine edilemeyen yoğun biyofilm odaklarının, dokuda lokal bağışıklık sistemini kronik olarak uyararak sitokin salınım dalgalarını tetiklediğini ve bunun kistik endometriyal hiperplaziye zemin hazırladığını bildirmesiyle benzerlik taşımaktadır.

Sentezlenen TNF- α 'nın damar geçirgenliğini artırarak enfeksiyon bölgesine nötrofil kemotaksisi sağladığı ve bu nötrofillerin ürettiği reaktif oksijen türlerinin (ROS) doku epitelizasyonunu olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Sheldon vd., 2010; Klein vd., 2018). Kombine grupta TNF- α seviyesinin en düşük seviyede olması ve histopatolojik dejenerasyon skorlarının düşük olması, *Cannabis sativa* L. ekstraktının antiinflamatuvar kapasitesiyle ilgili olduğu düşünülmektedir. Kenevir ekstraktı ve içeriğindeki CBD, GPR55 endokannabinoid ve adenosin A2A reseptörleri üzerinden etki göstererek doğrudan NF- κ B transkripsiyon faktörünün aktivitesini baskılamaktadır (Parveen vd., 2025). Bu iletişim yolağının baskılanmasıyla TNF- α ve IL-1 β 'nin aşırı salınımı durdurulmakta, nötrofil kemotaksisini ve epitelizasyonu engelleyen ROS üretimi de engellenmektedir (Klein vd., 2018). Kenevir ekstraktının yapısında bulunan PUFA'lar, hücre zarı lipid profilini modüle ederek inflamasyonun azalmasını desteklemektedir (Ostapczuk vd., 2021).

Hücrel bütünlük belirteci olarak değerlendirilen ZO-1 proteini ölçümlerinde çalışma grupları arasında istatistiksel bir farklılık saptanamamıştır. Bu durum 21 günlük deneysel sürecin sonunda epitelizasyonun yalnızca tight junction proteinleri üzerinden gerçekleşmediğini düşündürmektedir. Çalışmamızdaki Cannabis ve Kombine gruplarının ultrastrüktürel analizinde sağlıklı yüzey morfolojisi görüntüleri ve uterus dejenerasyonu skorlarının sağlıklı seviyelerde olması, kenevir ekstraktının doku hasarı onarımını desteklediğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, CBD'nin antiinflamatuvar özelliğinin olduğu, hücrelerin göçünü ve çoğalmasını doğrudan uyaran Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) seviyesini yükselttiği, epitelizasyonu sağladığı, anjiyogenezi desteklediği vurgulanmaktadır (Klein vd., 2018; Akarsu ve Akarsu, 2024). Artan EGF aracılığıyla Kollajen-1'in (COL-1) salgılandığı, bunun da kolajen liflerinin birikerek doku iyileşmesini

olumlu yönde etkilediği belirtilmektedir (Akarsu ve Akarsu, 2024). Çalışmamızdaki gruplar arasında ZO-1 proteini ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak *Cannabis sativa* L. tohum yağı verilen gruplarda histopatolojik skorlardaki sağlıklı doku oranları ve SEM görüntülerindeki hücresel iyileşme tablosunun, çalışmalarda kenevir yağı için belirtilen hücresel proliferasyon potansiyeli ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızdaki korelasyon analizi verileri sonucuna göre biyofilm seviyesi ve koloni sayısının uterus histopatoloji bulgularına ait skorlar ile pozitif yönde korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Retrospektif çalışmalarda, uterusu invaze olan *E. coli*'nin endometriyal bezlerin derinliklerinde ve doku kıvrımları arasında odaklar halinde tutunarak EPS matriksinden oluşan bir biyofilm tabakası ürettiği belirtilmektedir (Ferris, 2021). Biyofilm tabakasının ise immun sistem sitokinlerinin bakterilere ulaşmasını engellemekte ve bölgeye göç eden nötrofillerin fagositoz yeteneğini baskılayarak bölgesel immün yanıtı inhibe ettiği bildirilmektedir (Ferris, 2022). Bu mekanizmayla biyofilm tabakası etrafındaki doku hasarı onarımının aksaması ve bağışıklık sisteminin kronik olarak uyarılması, enfeksiyonun akut sürecinde hiperemi ile hücresel hasarı tetiklemektedir (Li vd., 2015). Çalışmamızdaki korelasyon analiz sonuçları değerlendirildiğinde, biyofilm seviyesi ile uterus hemorajisi ve dejenerasyon skorları arasındaki pozitif ilişki, yapılan çalışmalardaki açıklamalarla benzerlik göstermektedir.

Uterus dokusu koloni sayısının karar ağacı analizinde en etkili değişkenin uterus dejenerasyonu olduğu bulunmuştur. Bu durum dokudaki hasarın doğrudan bakteriyel koloni varlığı ile direkt ilişkili olduğunu göstermektedir. Karar Ağacı Node 1'de uterus dejenerasyon skorunun 2,00 ve altında kaldığı dokularda koloni sayısı ortalamasının $6,714 \pm 13,279$ olduğu ve düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Bunun bölgesel immün yanıtın veya uygulanan tedavilerin bakteriyel eliminasyonda başarılı olduğunu düşündürmektedir. Dokudaki dejenerasyon skorunun 2,00'nin üzerinde olduğu Node 2'de dokudaki koloni sayısının $83,143 \pm 33,503$ gibi yüksek bir ortalama olması, Ferris (2021) ve Li vd. (2015) tarafından bildirilen patolojik mekanizmayı desteklemektedir. Endometriyal bezlerin derinliklerinde ve doku kıvrımlarında çoklu odaklar halinde kümelenerek lokal nötrofil infiltrasyonunu ve fagositoz yeteneğini felce uğratan (Ferris,

2022) yüksek düzeydeki bakteri kolonizasyonu, doku hasarı onarımına engel olmaktadır. Uterus koloni sayısı karar ağacındaki etkili değişkenin UD olması, enfeksiyonun kronikleşmesinde ve dokuda kalıcı hasarın oluşmasına yüksek koloni varlığının neden olduğunu sayısal olarak belirlemektedir.

Biyofilmin tabakasının aşılamadığı ve sonucunda kronik enfeksiyona sebep olduğu in vivo modellerde akut enfeksiyon sürecindeki nötrofillerin yerini lenfosit ve plazma hücrelerine bıraktığı belirtilmektedir. Endometriyum interstisyumundaki MNH infiltrasyonunun kalıcı hale gelmesi, endometriyal bezlerin genişlemesine yol açarak kistik endometriyal hiperplaziye (CEH) neden olmaktadır (Fiamengo vd., 2020). Çalışmamızda, Taşıyıcı grupta biyofilm seviyesinin, MNHI seviyesinin ve UEBH skorlarının gözlenmesi, kronik inflamasyonun hücresel düzeyde CEH gelişimine yol açtığını doğrulamaktadır. Endometriyal bezlerdeki biyofilm tabakası ve buradan salgılanan LPS'nin neden olduğu kronik CEH, bölgesel doku hasarını sebep olmaktadır. Bu doku hasarı, periferik plazmadaki östradiol ve progesteron konsantrasyonlarını düşürerek, endometriyal PGF2 α salınımını yetersiz kılarak ve GnRH salınımını inhibe ederek ovaryum aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Gonzalez Moreno vd., 2020).

Çalışmamızdaki histopatolojik skor verilerine göre Antibiyotik grubunda endometriyal bezlere yerleşen biyofilm tabakasını aşmada yetersiz kaldığı ve buna bağlı UEBH skorlarının 1,71 seviyesinde kaldığı belirlenmiştir. Kombine grupta ise EPS matriksinin parçalanmasına bağlı olarak MNHI ve UEBH skorlarının 1.00 düzeyine gerileyerek sağlıklı seviyeye ulaştığı gözlenmiştir. Kombine grupta uygulanan tedavinin deneysel dürecin sonunda lenfosit infiltrasyonunu durdurarak CEH gelişimini engellemesi, doku hasarının onarılması açısından önem taşımaktadır. Tüm bunlar göz önüne alındığında enfeksiyon elimine edilirken biyofilm varlığının önüne geçilerek uterus morfolojisinin korunması ve endokrin yetersizliklerin oluşmaması, ovaryum aktivitesinin olumsuz etkilenmemesi hedeflenmelidir. Bu durum bitkisel ekstrakt destekli güncel tedavi yaklaşımlarının gerekli olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda Sham Cannabis grubundan elde edilen bulgular doğrultusunda *Cannabis sativa* L. yağının uterus dokusunda herhangi bir toksik veya iritan etkisinin olmadığını

göstermektedir. Sham Cannabis grubuna ait histopatolojik skorların sağlıklı fizyolojik seviyelerde olması ve SEM analizlerinde epitel morfolojisinin sağlıklı görünmesi, mevcut literatür bilgileriyle benzerdir. Kenevir tohumu yağının sağlıklı kontrol gruplarında doku hasarına sebep olmadığı, doku dejenerasyonu, nekroz veya hemoraji oluşturmadığı (Abdulqader vd., 2022; Klein vd., 2018), uzun süreli oral uygulamalarda bile sistemik bir hasar yaratmadığı histolojik analizler doğrultusunda bildirilmiştir (Dziwenka vd., 2020). Çalışmamızda Sham Cannabis grubunda TNF- α ve IL-1 β sitokin seviyelerinde belirgin bir artış olmaması, ekstratın sağlıklı dokuda bir inflamasyon oluşturmadığının göstergesidir. Retrospektif araştırmalarda da sağlıklı dokulara uygulanan kenevir ekstraktının veya CBD'nin immün sistemi uyarmadığı, ve alerjik reaksiyonlara neden olmadığı açıklanmaktadır (Barichello vd., 2012; Parveen vd., 2025; Stasiłowicz-Krzemień vd., 2024). Yapılan çalışmalarda kenevir ekstraktlarının oral uygulamalardaki güvenli kullanılabilirliği vurgulanmaktadır. Kenevir ekstraktının histopatolojik hasara yol açmaması ve ekstraktın immün sistemi uyarmaması klinik açıdan önem taşımaktadır (Dziwenka vd., 2020; Dziwenka vd., 2021). Tüm bu veriler değerlendirildiğinde, Kombine gruptaki başarılı doku onarımının kenevir yağının güvenli ve koruyucu terapötik etkisinden kaynaklandığını desteklemektedir.

Çalışmamızda Sham grubuna ait bulgular değerlendirildiğinde TNF- α seviyelerinin en yüksek değerlerde olması beklenen bir durum olmamakla birlikte dikkat çekmektedir. *Escherichia coli* inokulasyonu yapılmadan sadece steril cerrahi yapılarak müdahale edilen Sham grubunda bu durum yapılan çalışmalarda steril inflamasyon ve östrus döngüsüne bağlı immün modülasyon mekanizmalarıyla açıklanmaktadır. Laparotomi, doku manipülasyonu veya enjeksiyon gibi cerrahi travmalar patojen enfeksiyonu olmasa dahi hasarlı hücrelerden DAMP'lerin salınmasına yol açarak doğal bağışıklık sistemini tetiklemekte ve dokuda şiddetli bir steril inflamasyon başlatmaktadır (Sun vd., 2013; Romero vd., 2011). Sham grubunda yapılan cerrahi uygulamanın literatürlerle uyumlu olarak, makrofajları aktive edip proinflamatuvar sitokinlerin uzun süreli lokal salınımına yol açtığı düşünülmektedir (Abbas vd., 2019). Uterustaki mukozal bağışıklık ovaryum steroidleri tarafından düzenlenmektedir. Gebeliğin veya kalıcı luteal fazın olmadığı normal

seyrinde olan östrus siklularında progesteron seviyelerinin azalması proinflatuvar sitokinlerin salınımını artırmaktadır (Wira vd., 2005; Lewis, 2003; Patel vd., 2015). *Escherichia coli* varlığına bağlı LPS maruziyetinin GnRH salınımını azaltarak ovaryum aktivitesini olumsuz etkilediği bildirilmektedir (Sheldon vd., 2009; Herath vd., 2009). Ancak çalışmamızdaki tüm gruplarda ovaryum aktivitesinin devam ettiği ve siklik döngünün etkilenmediği deneysel süreç boyunca incelenen vajinal sitoloji bakılarında gözlenmiştir. Dolayısıyla bu mekanizma çalışmamızla uyuşmamaktadır. Sham Cannabis grubunda ölçülen TNF- α seviyelerinin Sham grubuyla kıyaslandığında düşük olması, tezin önemli bulgularından birini oluşturmaktadır. *Cannabis sativa* L. ekstraktının yalnızca enfeksiyöz inflamasyonu değil, cerrahi stresin tetiklediği steril inflamasyonu ve hormonal dalgalanmalara bağlı fizyolojik sitokin piklerini de baskılayabildiğini kanıtlamaktadır. Sağlıklı dokularda meydana gelen bu mekanik ve endokrin kaynaklı sitokin dalgalanmalarının dahi kenevir ekstraktı tarafından etkin biçimde baskılanması, ekstratın geniş spektrumlu antiinflatuvar ve immünomodülatör kapasitesini ortaya koymaktadır.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, veteriner jinekolojide önemli bir infertilite nedeni olan ve klasik tedavilere direnç gösteren *E. coli* kaynaklı endometritis olgularına karşı, *Cannabis sativa* L. tohum yağının tek başına ve antibiyotik ile kombine kullanımının in vitro ve in vivo etkinlikleri araştırılmıştır. *Cannabis sativa* L. tohum yağının ihmal edilebilir düzeyde psikoaktif bileşen $\Delta 9$ -THC içerdiği, antiinflamatuvar ve epitelizan etkilerinden sorumlu olan CBD ve PUFA açısından oldukça zengin olduğu doğrulanmıştır. Mikrobiyolojik incelemelerde, klinik vakadan izole edilen patojenik saha suşuna karşı kenevir yağının 400 mg/mL'de %77,6 oranında antibiyofilm etki gösterdiği belirlenmiştir. Antibiyotik uygulamasının da in vitro ortamda %90'ın üzerinde etkinlik sağlamasına rağmen, in vivo modelde patojenin endometriyal bezlerin derinliklerinde oluşturduğu biyofilm tabakasını aşmada yetersiz kaldığı ve dokudaki mononükleer hücre infiltrasyonu ile dejenerasyon gibi histopatolojik hasarları tek başına önleyemediği belirlenmiştir.

Antibiyotik ve *Cannabis sativa* L. yağının birlikte kullanıldığı Kombine grupta ise hücresel infiltrasyonun oldukça azaldığı, in vivo modelin 21 günlük sürecinde kronik biyofilm yüküne bağlı olarak gelişen CEH tablosunun engellendiği ve histopatolojik hasar skorlarının 1,00 seviyesine gerileyerek epitelizasyonun yeniden sağlandığı tespit edilmiştir. Ayrıca kenevir ekstraktının, inflamatuvar sürecin yönetiminde kilit rol oynayan proinflamatuvar sitokinleri modüle ettiği ve en düşük TNF- α seviyelerinin kombine tedavi grubunda ölçüldüğü belirlenmiştir. Elde edilen tüm bu bulgular, kronik biyofilm üreten uterus patojenlerine karşı yalnızca antimikrobiyal eradikasyonun yeterli olmadığını, hücresel bütünlüğün sağlanması ve kalıcı doku hasarının önlenmesi için standart antibiyotik tedavilerinin kenevir kökenli fitoterapötik ajanlarla kombine edilmesinin klinik açıdan güçlü ve gerekli bir sinerji yarattığını ortaya koymaktadır.

Tez çalışmasından elde edilen veriler doğrultusunda reproduktif sistem enfeksiyonlarında antibiyotik direncinin ve biyofilm bariyerinin aşılabilmesi için içeriği standardize edilmiş *Cannabis sativa* L. ekstraktlarının klasik antibiyotik tedavilerine destekleyici tedavi

yöntemi olarak veteriner hekimlik pratiğine kazandırılması önerilmektedir. Çalışmamızda oral yolla uygulanan kenevir yağının güçlü antiinflamatuvar etkisi nedeniyle lokal lökosit aktivitesinin ve patojen eliminasyonunun geçici olarak yavaşlayabileceği düşünülmüştür. Gelecek çalışmalarda *Cannabis sativa* L. tohum yağının intrauterin yolla uygulanması ve dokulardaki patojen eliminasyonu sürecinin incelenmesinin faydalı olacağını düşünmekteyiz. Kenevir tohumu yağının *E. coli* kaynaklı deneysel modellerdeki başarısı göz önüne alındığında, sığır ve kısıraklarda endometritiste sıklıkla izole edilen *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* veya *Streptococcus zooepidemicus* gibi patojenlere karşı etkinliğinin de araştırılması gerekmektedir. Son olarak, fitoterapötik ajanlarla desteklenmiş kombine tedavi protokollerinin, enfeksiyon sonrası ovaryum aktivitesinin başlama süresi, gebelik oranları, fertilite parametreleri ve uzun dönem reproduktif performans üzerindeki klinik etkilerini değerlendirecek geniş çaplı çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abbas, M., Hussain, T., Arshad, M., Ansari, A.R., Irshad, A., Nisar, J., Iqbal, M. (2019). Wound healing potential of curcumin cross-linked chitosan/polyvinyl alcohol. *Int J Biol Macromol*, 140: 871-876.
- Abdulqader, G.M.R., Aljaf, K.A.H., Hamabor, S.O. (2022). Effect Of Cannabis Seeds Powder As A Dietary Supplementation On Hepatic Tissue And Functions In Male Rats. *J Pharm Negat Results*,13(10): 2611-2619.
- Adams, I.B., Martin, B.R. (1996). Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction*, 91: 1585-1614.
- Adeniran, S.O., Fagbenro, S.O., Kayode, O.T., Partyka, A., Feng, H., Zheng, P. (2026). Role of selenium in cow fertility and reproduction—A review. *Vet Res Commun*, 50(3): 175.
- Adnane, M., Kaidi, R., Hanzen, C., England, G.C. (2017). Risk factors of clinical and subclinical endometritis in cattle: a review. *Turk J Vet Anim Sci*, 41(1): 1-11.
- Ak, M.H., Acar, D.B. (2022). Repeat Breeder Gözlenen İneklerde Farklı İntrauterin Tedavi Yöntemlerinin Etkinliklerinin Karşılaştırılması. *Kocatepe Vet J*, 15(4): 476-481.
- Akarsu, G.D., Akarsu, R.H. (2024). Therapeutic potential of cannabis for surgical wound healing in rats. *Vet Med*, 69(8): 297.
- Amar, B.M. (2001). Psychodysleptic Drug: Cannabis and Hallucinogens, University of Montreal, Montreal.
- Awosile, B.B. (2019). Antimicrobial resistance in bacteria isolated from the uteri of horses with endometritis. *Vet Rec*, 185(19): 596.
- Azawi, O.I. (2008). Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci*, 105(3-4): 187-208.
- Barański, W., Łukasik, K., Skarżyński, D., Szachańska, M., Zduńczyk, S., Janowski, T. (2013). Secretion of prostaglandins and leukotriens by endometrial cells in cows with subclinical and clinical endometritis. *Theriogenology*, 80: 766-772.
- Barichello, T., Ceretta, R.A., Generoso, J.S., Moreira, A.P., Simões, L.R., Comim, C.M., Teixeira, A.L. (2012). Cannabidiol reduces host immune response and prevents cognitive impairments in Wistar rats submitted to pneumococcal meningitis. *Eur J Pharmacol*, 697(1-3): 158-164.
- Barlund, C.S., Carruthers, T.D., Waldner, C.L., Palmer, C.W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, 69(6): 714-723.
- Benko, T., Boldizar, M., Novotny, F., Hura, V., Valocky, I., Dudrikova, K., Karamanova, M., Petrovic, V. (2015). Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. *Vet Med*,60(11): 613-620.

- Bertoldo, A., Pizzol, D., Yon, D.K., Callegari, M., Gobbo, V., Cuccurese, P. (2024). Resveratrol and female fertility: a systematic review. *Int J Mol Sci*, 25: 1-16.
- Beutler, B. (2004). Innate immunity: An overview. *Mol Immunol*, 40(12): 845-859.
- Bicalho, M.L.S., Machado, V.S., Oikonomou, G., Gilbert, R.O., Bicalho, R.C. (2012). Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. *Vet Microbiol*, 157(1-2): 125-131.
- Bocci, V. (1996). Ozone as bioregulator: Pharmacology and toxicology of Ozone therapy today. *J Biol Regul Homeost Agents*, 10(2-3): 31-53.
- Bondurant, R. H. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *Journal of animal science*, 77(suppl_2), 101-110.
- Borsberry, S., Dobson, H. (1989). Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy. *Vet Rec*, 124(9): 217-219.
- Brick, T.A., Schuenemann, G.M., Bas, S., Daniels, J.B., Pinto, C.R., Rings, D.M., Rajala-Schultz, P.J. (2012). Effect of intrauterine dextrose or antibiotic therapy on reproductive performance of lactating dairy cows diagnosed with clinical endometritis. *J Dairy Sci*, 95(4): 1894-1905.
- Brizeno, L.A.C., Assreuy, A.M.S., Alves, A.P.N., Sousa, F.B., Silva, P.G.D.B., de Sousa, S.C.O.M., Mota, M.R.L. (2016). Delayed healing of oral mucosa in a diabetic rat model: Implication of TNF- α , IL-1 β and FGF-2. *Life Sci*, 155: 36-47.
- Burstein, S. (2015). Cannabidiol (CBD) and its analogs: a review of their effects on inflammation. *Bioorg Med Chem*, 23(7): 1377-1385.
- Busch, W., Grüssel, T. (1998). Untersuchungen zur anwendung von peroxiethansaure (Peressigsäure-Uterofertil) zur behandlung der endometritis beim rind. *Trakt Tierärztl*, 79: 746-753.
- Callaway, J.C. (2004). Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140: 65-72.
- Carbonari, A., Burgio, M., Frattina, L., Cicirelli, V., Iarussi, F., Tempesta, M., Greco, G. (2026). Intrauterine oxygen/ozone mixture for the treatment of subclinical endometritis in repeat breeder cows. *Res Vet Sci*, 106075.
- Carvalho, H., Gonçalves, D.E.S., Picanco, K.R.T., de Lima Teixeira dos Santos, A.V.T., Lucia, M., Hu, X., Carvalho, J.C.T. (2021). Actions of *Cannabis sativa* L. fixed oil and nano-emulsion on venom-induced inflammation of *Bothrops moojeni* snake in rats. *Inflammopharmacology*, 29(1): 123-135.
- Castillo-Arellano, J., Canseco-Alba, A., Cutler, S.J., León, F. (2023). The Polypharmacological Effects of Cannabidiol. *Molecules*, 28: 3271.
- Chen, X., Chen, M., Liu, M., Qi, L., Liu, Z., Chen, C., Lian, R. (2025). Intrauterine infusion of autologous platelet-rich plasma modulates endometrial immune status and improves pregnancy outcomes in patients with persistent chronic endometritis. *Front Immunol*, 16: 1528522.

- Cora, M.C., Kooistra, L., Travlos, G. (2015). Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicol Pathol*, 43(6): 776-793.
- Costa, F.C., Silva, B.R., Filho, F.F.C., Bezerra, V.S., Azevedo, V.A.N., Silva, A.A. (2025). Ascorbic acid and resveratrol improve the structural integrity of the extracellular matrix and enhance follicular survival in cultured bovine ovarian tissue. *Theriogenology*, 235: 231-244.
- Dascanio, J.J. (2011). How and when to treat endometritis with systemic or local antibiotics. 24-31.
- Demirel, M.A., Han, S., Tokmak, A., Ercan Gokay, N., Uludağ, M.O., Yıldırım Üstün, T., Çiçek, A.F. (2019). Therapeutic effects of resveratrol in Escherichia coli-induced rat endometritis model. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 392(12): 1577-1589.
- Denison, G., Funes, J., Razquin, P., Howard, J., Hamner, I., Foulk, L., Fedorka, C.E. (2026). Resveratrol supplementation improves uterine immune resolution in mares susceptible to persistent breeding-induced endometritis. *Front Vet Sci*, 13: 1760273.
- Di Paolo, N., Bocci, V., Gaggiotti, E. (2004). Ozone therapy. *Int J Artif Organs*, 27(3): 168-175.
- Donlan, R.M., Costerton, J.W. (2002). Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, 15: 167-193.
- Drillich, M., Beetz, O., Pfützner, A., Sabin, M., Sabin, H. J., Kutzer, P., Heuwieser, W. (2001). Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J Dairy Sci*, 84(9): 2010-2017.
- Drillich, M., Raab, D., Wittke, M., Heuwieser, W. (2005). Treatment of chronic endometritis in dairy cows with an intrauterine application of enzymes: A field trial. *Theriogenology*, 63(7): 1811-1823.
- Dubuc, J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Walton, J.S., LeBlanc, S.J. (2010). Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J Dairy Sci*, 93(11): 5225-5233.
- Duricic, D., Lipar, M., Samardzija, M. (2014). Ozone treatment of metritis and endometritis in holstein cows. *Vet Arh*, 84: 103-110.
- Dziwenka, M., Coppock, R., Alexander, M., Palumbo, E., Ramirez, C., Lermer, S. (2020). Safety assessment of a hemp extract using genotoxicity and oral repeat-dose toxicity studies in sprague-dawley rats. *Toxicol Rep*, 7: 376-385.
- Dziwenka, M., Dolan, L., Mitchell, J. (2021). Toxicological safety of VOHO Hemp Oil; a supercritical fluid extract from the aerial parts of hemp. *PLoS One*, 16(12): e0261900.
- Erçetin, E., Çetin, Y. (2020). Sütçü ineklerde postpartum rutin intrauterin tedavilerin fertiliteye etkisi. *Van Vet J*, 31(2): 60-66.
- Erridge, S., Mangal, N., Salazar, O., Pacchetti, B., Sodergren, M.H. (2020). Cannflavins—From Plant to Patient: A Scoping Review. *Fitoterapia*, 146: 104712.
- Esposito, G., Scuderi, C., Savani, C., Steardo, L., Filippis, D., Cottone, P., Steardo, L. (2009). Cannabidiol in vivo blunts β -amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1 β and iNOS expression. *Br J Pharmacol*, 151(8): 1272-1279.

- Eulogio, G.L.J., Alberto, S.O.J., Hugo, C.V., Antonio, C.N., Alejandro, C.I., Juan, M.Q. (2012). Effects of the selenium and Vitamin E in the production, Physicochemical Composition and Somatic Cell Count in Milk of Ayrshire Cows. *J Anim Vet Adv*, 11(5): 687-691.
- Ferris, R. (2022). Biofilm and latent bacteria in equine uterus. *Clin Theriogenology*, 14(3): 229-232.
- Ferris, R.A. (2021). Bacterial biofilm and endometritis. İçinde: Equine Reproductive Procedures, 137-139.
- Ferris, R.A. (2022). A tutorial on biofilm in the uterus. 27-30
- Ferris, R.A., McCue, P.M., Borlee, G.I., Glapa, K.E., Martin, K.H., Mangalea, M.R., Hennet, M.L., Wolfe, L.M., Broeckling, C.D., Borlee, B.R. (2017). Model of Chronic Equine Endometritis Involving a Pseudomonas aeruginosa Biofilm. *Infect Immun*, 85(12): 10-1128.
- Ferris, R.A., McCue, P.M., Borlee, G.I., Loncar, K.D., Hennet, M.L., Borlee, B.R. (2016). In Vitro Efficacy of Nonantibiotic Treatments on Biofilm Disruption of Gram-Negative Pathogens and an In Vivo Model of Infectious Endometritis Utilizing Isolates from the Equine Uterus. *J Clin Microbiol*, 54: 631-639.
- Fiamengo, T.E., Runcan, E.E., Premanandan, C., Blawut, B., da Silva, M.A.C. (2020). Evaluation of biofilm production by Escherichia coli isolated from clinical cases of canine pyometra. *Top Companion Anim Med*, 39: 100429.
- Forbes, B.A., Sahm, D.F., Weissfeld, A.S. (2007). Diagnostic microbiology (pp. 288-302). St Louis: Mosby.
- Frassinetti, S., Gabriele, M., Moccia, E., Longo, V., Di Gioia, D. (2020). Antimicrobial and antibiofilm activity of Cannabis sativa L. seeds extract against Staphylococcus aureus and growth effects on probiotic Lactobacillus spp. *LWT*, 124: 109149.
- Galvão, K.N., Frajblat, M., Brittin, S.B., Butler, W.R., Guard, C.L., Gilbert, R.O. (2009). Effect of prostaglandin F2 α on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci*, 92(10): 4906-4913.
- García Rubio, V. (2023). Endometritis as a cause of infertility in mares (Bachelor's thesis).
- Gayathri, S.L., Bhakat, M., Mohanty, T.K. (2025). Metritis in Dairy Cattle: Diagnostic Challenges, Economic Impacts, and Emerging Insights. *Curr J Appl Sci Technol*, 44(1): 87-101.
- Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64(9): 1879-1888.
- Gonzalez Moreno, C., Torres Luque, A., Oliszewski, R., Rosa, R.J., Otero, M.C. (2020). Characterization of native Escherichia coli populations from bovine vagina of healthy heifers and cows with postpartum uterine disease. *PLoS One*, 15(6): e0228294.
- Grotenhermen, F., Russo, E. (2002). Cannabis and Cannabinoids: Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Potential, 1st ed, Integrative Healing Press, New York.
- Guerra, R.O., do Carmo Neto, J.R., da Silva, P.E.F., Borges, Y.L.L., Franco, P.I.R., Machado, J.R., da Silva, M.V. (2023). Cannabis sativa: A look at protozoa, helminths, insect vectors, and pests. *Fitoterapia*, 166: 105467.

- Gürler, H., Acar, D.B. (2016). Postpartum Uterine Infections in Dairy Cows. *Kocatepe Vet J*, 9(4): 348-352.
- Han, S., Çiçek, A. F., Tokmak, A., Yıldırım Ustun, T., Ercan Gokay, N., Uludag, M. O., Demirel, M. A. (2021). Effects of resveratrol on receptor expression and serum levels of estrogen and progesterone in the rat endometritis model. *Reprod Sci*, 28(9), 2610-2622.
- Harris, T.G., Battaglia, D.F., Brown, M.E., Brown, M.B., Carlson, N.E., Viguie, C., Williams, C.Y., Karsch, F.J. (2000). Prostaglandins mediate the endotoxin-induced suppression of pulsatile gonadotropin-releasing hormone and luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinology*, 141: 1050-1058.
- Herath, S., Lilly, S.T., Fischer, D.P., Williams, E.J., Dobson, H., Bryant, C.E., Sheldon, I.M. (2009). Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F2 α to prostaglandin E2 in bovine endometrium. *Endocrinology*, 150(4): 1912-1920.
- Heuwieser, W., Tenhagen, B.A., Tischer, M., Lühr, J., Blum, H. (2000). Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. *Vet Rec*, 146(12): 338-341.
- Huang, Q., Yang, Y., Yuan, L., Zhao, Y., Qin, A. (2023). Oil-based contrast for hysterosalpingography-regulated Th1/Th2-type cytokines and alleviated inflammation in rats with LPS-induced chronic endometritis. *J Obstet Gynaecol Res*, 49(1): 243-252.
- Ignatiuk, V.M., Izvol'skaia, M.S. (2019). Lipopolysaccharide-Induced Immunological Stress at Early Stages of Pregnancy Affects the Development of Gonadotropin Releasing-Hormone (Gnrh)-Producing System. *Med Acad J*, 19(1S): 24-26.
- Janeway Jr, C.A., Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M.J. (2001). Infectious agents and how they cause disease. In *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*. 5th edition. Garland Science.
- Jeon, S.J., Cunha, F., Vieira-Neto, A., Bicalho, R.C., Lima, S., Bicalho, M.L., Galvão, K.N. (2017). Blood as a route of transmission of uterine pathogens from the gut to the uterus in cows. *Microbiome*, 5(1): 1-13.
- Kaplan, J.B. (2011). Antibiotic-induced biofilm formation. *Int J Artif Organs*, 34(9): 737-751.
- Karadhbajne, P.D., Zoagbe, H.Y., More, A. (2024). Platelet-rich plasma (PRP) for endometrial treatment efficacy and safety in assisted reproductive technology: A comprehensive review. *Cureus*, 16: e59728.
- Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S. (2005). A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J*, 172(3): 255.
- Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R. A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 62(1-2): 9-23.
- Kaya, S., Kaçar, C., Merhan, O., Demir, M.C., Arı, U.Ç., Zonturlu, A.K. (2021). The effect of intrauterine thyme essential oil and dimethyl sulfoxide infusion on clinical recovery and

- serum haptoglobin, tumor necrosis factor and nitric oxide levels in cows with clinical endometritis. *Kocatepe Vet J*, 14(1): 45-50.
- Khare, C.P. (2004). Encyclopedia of Indian medicinal plants. Springes-Verlag Berlin Heidelberg, New York, 14.
- King, S.S., Young, D.A., Nequin, L.G., Carnevale, E.M. (2000). Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro. *Am J Vet Res*, 61(4): 446-449.
- Klein, M., de Quadros De Bortolli, J., Guimarães, F.S., Salum, F.G., Cherubini, K., de Figueiredo, M.A.Z. (2018). Effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, on oral wound healing process in rats: Clinical and histological evaluation. *Phytother Res*, 32(11): 2275-2281.
- Kocamüftüoğlu, M., Bozkurt, G., Ağaoğlu, A.R., Özmen, Ö., Öztürk, D. (2023). The curative effect of ozonated bidistilled water on Escherichia coli-induced endometritis in rats. *Vet Med Sci*, 9(5): 2352-2358.
- Kul, H., Erdoğan, G. (2019). Organik Hayvancılıkta Reprodüktif ve Meme Sağlığı Uygulamaları. *Anim Health Prod Hyg*, 8(2): 652-656.
- Kumar, D. (2022). Autologous platelet-rich plasma (PRP) treatment To optimize endometrial thickness. *Int J Sci Res Pub*, 12: 106-111.
- Küplülü, Ş., Vural, R., Polat, İ.M. (2011). İneklerde uterus enfeksiyonlarının etiyopatogenezi, klinik semptomları ve sağıltım girişimleri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 2(1): 58-65.
- Lalsare, S.S. (2022). Cannabinoids: legal aspects, pharmacology, phytochemistry, probable targets from biological system, and therapeutic potential. *Asian J Pharm Res Health Care*, 14(3): 127-141.
- LeBlanc, M.M. (2010). Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Domest Anim*, 45(2): 21-27.
- LeBlanc, M.M., Causey, R.C. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Domest Anim*, 44(3): 10-22.
- LeBlanc, M.M., Magsig, J., Stromberg, A.J. (2007). Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, 68: 403-412.
- LeBlanc, S.J. (2012). Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. *Reprod Domest Anim*, 47: 18-30.
- LeBlanc, S.J. (2014). Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal*, 8(1): 54-63.
- LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci*, 85(9): 2223-2236.
- LeBlanc, S.J., Osawa, T., Dubuc, J. (2011). Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, 76(9): 1610-1618.
- Lee, S.C., Jeong, J.K., Choi, I.S., Kang, H.G., Jung, Y.H., Park, S.B., Kim, I.H. (2018). Cytological endometritis in dairy cows: diagnostic threshold, risk factors, and impact on reproductive performance. *J Vet Sci*, 19(2): 301-308.

- Lewis, G.S. (1997). Uterine health and disorders. *J Dairy Sci*, 80(5): 984-994.
- Lewis, G.S. (2003). Role of ovarian progesterone and potential role of prostaglandin F₂ α and prostaglandin E₂ in modulating the uterine response to infectious bacteria in postpartum ewes. *J Anim Sci*, 81(1): 285-293.
- Leizer, C., Ribnicky, D., Poulev, A., Dushenkov, S., Raskin, I. (2000). The Composition of Hemp Seed Oil and Its Potential as an Important Source of Nutrition. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*, 2(4), 35–53.
- Li, H., Dong, J., Wang, Z., Cui, L., Liu, K., Guo, L., Wang, H. (2024). Development potential of selenium in the prevention and treatment of bovine endometritis. *Reprod Domest Anim*, 59(6): e14647.
- Li, L., Lu, H., Jian, X., Zou, Z., Gong, M. (2024). Hemp seed oil ameliorates CFA-induced rheumatoid arthritis in rats by improving metabolic abnormalities and gut microflora. *J Funct Foods*, 118: 106289.
- Li, S., Wang, Y., Feng, L., Yu, Z., Qiu, M., Wang, Y., Fu, Y. (2022). *Bacillus subtilis* ameliorates *Escherichia coli*-induced endometritis in mice via maintaining endometrial barrier and inhibiting inflammatory response. *Microb Pathog*, 166: 105487.
- Li, W., Fu, K., Lv, X., Wang, Y., Wang, J., Li, H., Cao, R. (2015). Lactoferrin suppresses lipopolysaccharide-induced endometritis in mice via down-regulation of the NF- κ B pathway. *Int Immunopharmacol*, 28(1): 695-699.
- Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Ribeiro, E.S., Greco, L.F., Ayres, H., Favoreto, M.G., Carvalho, M.R., Galvão, K.N., Santos, J.E. (2013). Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin F₂ α on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. *J Dairy Sci*, 96(10): 6480-6488.
- Liu, I.K.M., Troedsson, M.H.T. (2008). The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. *Theriogenology*, 70(3): 415-420.
- Liu, Y., Qiu, C., Li, W., Mu, W., Li, C., Guo, M. (2016). Selenium Plays a Protective Role in *Staphylococcus aureus*-Induced Endometritis in the Uterine Tissue of Rats. *Biol Trace Elem Res*, 173: 345-353.
- Luz-Veiga, M., Amorim, M., Pinto-Ribeiro, I., Oliveira, A.L.S., Silva, S., Pimentel, L.L., Rodríguez-Alcalá, L.M., Madureira, R., Pintado, M., Azevedo-Silva, J. (2023). Cannabidiol and Cannabigerol Exert Antimicrobial Activity without Compromising Skin Microbiota. *Int J Mol Sci*, 24: 2389.
- Ma, Z., Ginn, A., Kang, M., Galvão, K.N., Jeong, K.C. (2018). Genomic and virulence characterization of intrauterine pathogenic *Escherichia coli* with multi-drug resistance isolated from cow uteri with metritis. *Front Microbiol*, 9: 3137.
- Makav, M., Kuru, M. (2021). Determination of TNF-beta marker in intrauterine *E. coli* induced endometritis model in rats. *Eurasian J Toxicol*, 3(1): 16-20.
- Mali, S.S., Rangnekar, M.N., Amle, M.B., Khillare, K.P., Mali, A.B., Mhase, P.P. (2020). Efficacy of intrauterine ozone therapy in repeat breeder cows with subclinical uterine infection. *Haryana Vet*, 59(I): 83-86.

- Malinowski, E., Lassa, H., Markiewicz, H., Kaptur, M., Nadolny, M., Niewitecki, W., Ziğta, J. (2011). Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *Vet J*, 187(2): 234-238.
- Mateus, L., Lopes da Costa, L., Bernardo, F., Robalo Silva, J. (2002). Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod Domest Anim*, 37(1): 31-35.
- McFarland, J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *JAMA*, 49(14): 1176-1178.
- Mikamo, H., Kawazoe, K., Sato, Y., Izumi, K., Tamaya, T. (1998). Therapeutic effects of a new quinolone, DU-6859a, on polymicrobial infections in a newly designed model of rat uterine endometritis. *J Antimicrob Chemother*, 41(1): 131-133.
- Mikulcová, V., Kašpárková, V., Humpolíček, P., Buňková, L. (2017). Formulation, characterization and properties of hemp seed oil and its emulsions. *Molecules*, 22(5): 700.
- Moser, C., Pedersen, H.T., Lerche, C.J., Kolpen, M., Line, L., Thomsen, K., Høiby, N., Jensen, P. (2017). Biofilms and host response-helpful or harmful. *APMIS*, 125: 320-338.
- Munteanu, C., Mihai, M., Dulf, F., Ona, A., Muntean, L., Ranga, F., Papuc, I. (2023). Biochemical changes induced by the administration of *Cannabis sativa* seeds in diabetic Wistar rats. *Nutrients*, 15(13): 2944.
- Nabors, B., Linford, R. (2014). Anatomy of the reproductive system of the cow. İçinde: *Bovine Reproduction*, 191-194.
- Nahler, G. (2020). Endometriosis—an indication for cannabinoids?. *Tradit Med*, 1(1): 1-7.
- Napimoga, M.H., Benatti, B.B., Lima, F.O., Alves, P.M., Campos, A.C., Pena-dos-Santos, D.R., Guimarães, F.S. (2009). Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. *Int Immunopharmacol*, 9(2): 216-222.
- Neave, H.W., Lomb, J., Weary, D.M., LeBlanc, S.J., Huzzey, J.M., Von Keyserlingk, M.A.G. (2018). Behavioral changes before metritis diagnosis in dairy cows. *J Dairy Sci*, 101(5): 4388-4399.
- Nesse, L.L., Osland, A.M., Vestby, L.K. (2023). The Role of Biofilms in the Pathogenesis of Animal Bacterial Infections. *Microorganisms*, 11(3): 608.
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J., England, G.C.W., Arthur, G.H. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*.
- Oliveira, B.V., Barros Silva, P.G., Nojosa, J.D.S., Brizeno, L.A.C., Ferreira, J.M., Sousa, F.B., Alves, A.P.N.N. (2016). TNF-alpha expression, evaluation of collagen, and TUNEL of *Matricaria recutita* L. extract and triamcinolone on oral ulcer in diabetic rats. *J Appl Oral Sci*, 24(3): 278-290.
- Oliveira, N.F., Ferreira, C.S., Silva, L.F., Santos, I.P., Jacob, J.C., Penna, B.A., Pinna, A.E. (2023). Use of ozonated sunflower oil in the treatment of infectious endometritis in mares. *J Equine Vet Sci*, 125: 104735.

- Opsomer, G., Grohn, Y.T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., de Kruif, A. (2000). Risk factors for post partum ovarian. *Theriogenology*, 53(4): 841-857.
- Oral, H., Kuru, M., Kulaksız, R., Kaya, S. (2014). Kronik endometritisli ineklerde intrauterin uygulanan kekik yağının gebe kalma oranı üzerine etkisi. *Lalahan Hayv Araşt Enst Derg*, 54(2).
- Ostapczuk, K., Apori, S.O., Estrada, G., Tian, F. (2021). Hemp growth factors and extraction methods effect on antimicrobial activity of hemp seed oil: A systematic review. *Separations*, 8(10): 183.
- O'Toole, G.A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp*, (47): 2437.
- Otto, M. (2006). Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. *Curr Top Microbiol Immunol*, 306: 251-258.
- Paiano, R.B., Birgel, D.B., Bonilla, J., Birgel Junior, E.H. (2020). Alterations in biochemical profiles and reproduction performance in postpartum dairy cows with metritis. *Reprod Domest Anim*, 55(11): 1599-1606.
- Paisley, L.G., Mickelsen, W.D., Anderson, P.B. (1986). Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine. *Theriogenology*, 25(3): 353-381.
- Pan, H., Mukhopadhyay, P., Rajesh, M., Patel, V., Mukhopadhyay, B., Gao, B., Pacher, P. (2009). Cannabidiol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing oxidative/nitrosative stress, inflammation, and cell death. *J Pharmacol Exp Ther*, 328(3): 708-714.
- Parveen, I., Allen, N.R., Wonfor, R.E., Al-Fadhli, A.A., Forde-Thomas, J.E., Giles, J.L., Nash, D.M. (2025). Characterisation of components of an extract of hemp and preliminary assessment of anti-inflammatory activity in an ex vivo model of bovine endometritis. *S Afr J Bot*, 180: 254-264.
- Pascottini, O.B., Aurich, C., England, G., Grahof, A. (2023). General and comparative aspects of endometritis in domestic species: A review. *Reprod Domest Anim*, 58: 49-71.
- Pascottini, O.B., Hostens, M., Sys, P., Vercauteren, P., Opsomer, G. (2017). Risk factors associated with cytological endometritis diagnosed at artificial insemination in dairy cows. *Theriogenology*, 92: 1-5.
- Pascottini, O.B., LeBlanc, S.J. (2020). Metabolic markers for purulent vaginal discharge and subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 155: 43-48.
- Pascottini, O.B., LeBlanc, S.J., Gnemi, G., Leroy, J.L., Opsomer, G. (2023). Genesis of clinical and subclinical endometritis in dairy cows. *Reproduction*, 166(2): R15-R24.
- Patel, B., Elguero, S., Thakore, S., Dahoud, W., Bedaiwy, M., Mesiano, S. (2015). Role of nuclear progesterone receptor isoforms in uterine pathophysiology. *Hum Reprod Update*, 21(2): 155-173.
- Pérez-Báez, J., Silva, T.V., Risco, C.A., Chebel, R.C., Cunha, F., De Vries, A., Galvão, K.N. (2021). The economic cost of metritis in dairy herds. *J Dairy Sci*, 104(3): 3158-3168.

- Piluzza, G., Delogu, G., Cabras, A., Marceddu, S., Bullitta, S. (2013). Differentiation between fiber and drug types of hemp (*Cannabis sativa* L.) from a collection of wild and domesticated accessions. *Genet Resour Crop Evol*, 60(8): 2331-2342.
- Pisanti, S., Malfitano, A.M., Ciaglia, E., Lamberti, A., Ranieri, R., Cuomo, G., Bifulco, M. (2017). Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacol Ther*, 175: 133-150.
- Pothmann, H., Prunner, I., Wagener, K., Jaureguiberry, M., de la Sota, R.L., Erber, R., Drillich, M. (2015). The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology*, 83(8): 1249-1253.
- Prunner, I., Wagener, K., Pothmann, H., EhlingSchulz, M., Drillich, M. (2014). Risk factors for uterine diseases on small- and medium-sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology*, 82: 857-865.
- Raheel, I.A.E.R., Hassan, W.H., Salem, S.S.R., Salam, H.S.H. (2020). Biofilm forming potentiality of *Escherichia coli* isolated from bovine endometritis and their antibiotic resistance profiles. *J Adv Vet Anim Res*, 7(3): 442.
- Rahi, S., Gupta, H.P., Shiv, Prasad, S.P., Baithalu, R.K. (2013). Phytotherapy for endometritis and subsequent conception rate in repeat breeding crossbred cows.
- Reghini, M.F.S., Neto, C.R., Segabinazzi, L.G., Chaves, M.M.B.C., Dell'Aqua, C.D.P.F., Bussiere, M.C.C., Alvarenga, M.A. (2016). Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, 86(2): 516-522.
- Ribeiro, A., Almeida, V.I., Costola-de-Souza, C., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M.L., Vitoretti, L.B., Palermo-Neto, J. (2015). Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 37(1): 35-41.
- Romero, R., Chaiworapongsa, T., Alpay Savasan, Z., Xu, Y., Hussein, Y., Dong, Z., Hassan, S.S. (2011). Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in preterm labor with intact membranes and preterm PROM: a study of the alarmin HMGB1. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 24(12): 1444-1455.
- Salasel, B., Mokhtari, A., Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7): 1271-1278.
- Sarkar, P., Kumar, H., Rawat, M., Varshney, V.P., Goswami, T.K., Yadav, M.C., Srivastava, S.K. (2006). Effect of administration of garlic extract and PGF 2α on hormonal changes and recovery in endometritis cows. *Asian-Australas J Anim Sci*, 19: 964-969.
- Sarmadyan, H., Solhi, H., Hajimir, T., Najarian-Araghi, N., Ghaznavi-Rad, E. (2014). Determination of the Antimicrobial Effects of Hydro-Alcoholic Extract of *Cannabis sativa* on Multiple Drug Resistant Bacteria Isolated from Nosocomial Infections. *Iran J Toxicol*, 7: 967-972.
- Schiebel, J., Böhm, A., Nitschke, J., Burdukiewicz, M., Weinreich, J., Ali, A., Schierack, P. (2017). Genotypic and phenotypic characteristics in association with biofilm formation in different pathotypes of human clinical *Escherichia coli* isolates. *Appl Environ Microbiol*, 83:(24) e01660-17.

- Schofs, L., Sparo, M.D., Sanchez, Bruni. S.F. (2021). The antimicrobial effect behind Cannabis sativa. *Pharmacol Res Perspect*, 9(2): e00761.
- Scrollavezza, P., Ablondi, M., Pogliacomì, B., Dall'Aglio, R., Poldi, R., Pezzoli, G. (1997). Ozone treatment in mastitis, metritis and retention of fetal membranes in the cow. İçinde: Proceedings of the 2nd International Symposium on Ozone Applications (Vol. 1), Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba, 35-37.
- Sheldon, I.M. (2019). The Metritis Complex in Cattle. İçinde: Veterinary Reproduction and Obstetrics, 10th ed, Elsevier, Milton, ON, 408.e33.
- Sheldon, I.M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., Schuberth, H.J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol Reprod*, 81: 1025-1032.
- Sheldon, I.M., Cronin, J.G., Pospiech, M., Turner, M.L. (2018). Symposium review: Mechanisms linking metabolic stress with innate immunity in the endometrium. *J Dairy Sci*, 101: 3655-3664.
- Sheldon, I.M., Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci*, 82: 295-306.
- Sheldon, I.M., Lewis, G.S., LeBlanc, S., Gilbert, R.O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8): 1516-1530.
- Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N., Dobson, H. (2003). The effect of intrauterine administration of estradiol on. *Theriogenology*, 59(5-6): 1357-1371.
- Sheldon, I., D. Noakes, A. Rycroft, D. Pfeiffer and H. Dobson. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, 123(6): 837-845.
- Sheldon, I.M., Bromfield, J.J. (2011). Innate immunity in the human endometrium and ovary. *Am J Reprod Immunol*, 66: 63-71.
- Sheldon, I.M., Owens, S.E. (2018). Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle. *Anim Reprod*, 14(3): 622-629.
- Sheldon, I.M., Rycroft, A.N., Dogan, B., Craven, M., Bromfield, J.J., Chandler, A., Simpson, K.W. (2010). Specific strains of Escherichia coli are pathogenic for the endometrium of cattle and cause pelvic inflammatory disease in cattle and mice. *PLoS One*, 5(2): e9192.
- Silva, E., Leitão, S., Tenreiro, T., Pomba, C., Nunes, T., da Costa, L.L., Mateus, L. (2009). Genomic and phenotypic characterization of Escherichia coli isolates recovered from the uterus of puerperal dairy cows. *J Dairy Sci*, 92(12): 6000-6010.
- Singh, N., Sethi, A. (2022). Endometritis-Diagnosis, Treatment and its impact on fertility-A Scoping Review. *JBRA Assist Reprod*, 26(3): 538.
- Spears, J.W., Weiss, W.P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Vet J*, 176(1): 70-76.

- Stasilowicz-Krzemien, A., Szymanowska, D., Szulc, P., Cielecka-Piontek, J. (2024). Antimicrobial, Probiotic, and Immunomodulatory Potential of Cannabis sativa Extract and Delivery Systems. *Antibiotics*, 13(4): 369.
- Stoodley, P., Hall-Stoodley, L. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*, 11: 1034-1043.
- Styrczewska, M., Kostyn, A., Kulma, A., Majkowska-Skrobek, G., Augustyniak, D., Prescha, A., Szopa, J. (2015). Flax fiber hydrophobic extract inhibits human skin cells inflammation and causes remodeling of extracellular matrix and wound closure activation. *Biomed Res Int*, 2015(1): 862391.
- Sun, S., Sursal, T., Adibnia, Y., Zhao, C., Zheng, Y., Li, H., Itagaki, K. (2013). Mitochondrial DAMPs increase endothelial permeability through neutrophil dependent and independent pathways. *PLoS One*, 8(3): e59989.
- Şenünver, A., Nak, Y. (2019). Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji. İçinde: İnfertilite, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı M, Köker A (Eds), 3. Baskı, Medipress Matbaacılık Yayıncılık, Malatya, 321-367.
- Thors, L., Belghiti, M.E., Fowler, C.J. (2008). Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase by Kaempferol and Related Naturally Occurring Flavonoids. *Br J Pharmacol*, 155: 244-252.
- Troedsson, M.H.T. (1999). Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, 52: 461-471.
- Turk, R., Samardžija, M., Bačić, G. (2011). Oxidative stress and reproductive disorders in dairy cows. İçinde: Dairy cows: Nutrition, fertility and milk production, Marek ER (Ed), Nova Science Publishers, New York, 57-98.
- Turner, J.R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 9(11): 799-809.
- Umer, M., Syed, S. F., Shah, Q. A., Kakar, I. U. (2022). Pathogenesis, treatment and control of bovine clinical endometritis: a review. *Adv Agric Anim Sci*, 38(1): 57-64.
- Vestby, L.K., Grønseth, T., Simm, R., Nesse, L.L. (2020). Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, 9(2): 59.
- Wagner, V.P., Curra, M., Webber, L.P., Nör, C., Matte, U., Meurer, L., Martins, M.D. (2016). Photobiomodulation regulates cytokine release and new blood vessel formation during oral wound healing in rats. *Lasers Med Sci*, 31(4): 665-671.
- Walsh, K.B., McKinney, A.E., Holmes, A.E. (2021). Minor cannabinoids: biosynthesis, molecular pharmacology and potential therapeutic uses. *Front Pharmacol*, 12: 777804.
- Wilkinson, J.D., Williamson, E.M. (2007). Cannabinoids inhibit human keratinocyte proliferation through a non-CB1/CB2 mechanism and have a potential therapeutic value in the treatment of psoriasis. *J Dermatol Sci*, 45(2): 87-92.
- Wira, C.R., Fahey, J.V., Sentman, C.L., Pioli, P.A., Shen, L. (2005). Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunol Rev*, 206(1): 306-335.

- World Health Organization. (2023). Alcohol, drugs and addictive behaviours unit. World Health Organization.(nd) Available online: <https://www.who.int/teams/mental-health-and-substance-use/alcohol-drugs-and-addictive-behaviours/drugspsychoactive/cannabis> (accessed on 2 April 2025).
- Wu, R., Li, X., Li, Z., Luo, J., Zhang, Z., Guo, M. (2025). Selenium and Mammalian uterine health: a comprehensive review. *Biology*, 14(9): 1295.
- Xiao, H. B., Sui, G. G., Lu, X. Y., Sun, Z. L. (2018). Elevated levels of ADMA are associated with lower DDAH2 and higher PRMT1 in LPS-induced endometritis rats. *Inflammation*, 41(1): 299-306.
- Xu, D., Xiong, H., Xiao, Z., He, J., Liao, Q., Xue, L., Yang, Q. (2015). Uterine cytokine profile in a rat model of endometritis. *Am J Reprod Immunol*, 73(3): 214-220.
- Yan, X., Jiao, J., Wang, X. (2025). Inflammatory mechanisms and therapeutic advances in chronic endometritis. *Front Immunol*, 16: 1616217.
- Yavaş, G.T., Gönülalan, Z., Özkaya, Y., Gündoğ, D.A. (2025). Cannabidiol as a potential anti-biofilm and anti-quorum sensing agent against Escherichia coli O157: H7. *S Afr J Bot*, 184: 81-87.
- Yıldız, A. (2016). Effect of intrauterine Allium sativum extract on recovery and conception rate in dairy cows with subclinical endometritis. *Indian J Anim Sci*, 86: 154-157.
- Young, A., McNaught, C.E. (2011). The physiology of wound healing. *Surgery*, 29(10): 475-479.
- Yousofi, M.S., Saberivand, A., Becker, L.A., Karimi, I. (2011). The effects of Cannabis sativa L. seed (hemp seed) on reproductive and neurobehavioral end points in rats. *Dev Psychobiol*, 53(4): 402-412.
- Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Ziemlewska, A., Nizioł-Łukaszewska, Z. (2021). Positive effect of Cannabis sativa L. herb extracts on skin cells and assessment of cannabinoid-based hydrogels properties. *Molecules*, 26: 802.
- Zandkarimi, F., Decatur, J., Casali, J., Gordon, T., Skibola, C., Nuckolls, C. (2023). Comparison of the Cannabinoid and Terpene Profiles in Commercial Cannabis from Natural and Artificial Cultivation. *Molecules*, 28: 833.
- Zengin, G., Menghini, L., Di Sotto, A., Mancinelli, R., Sisto, F., Carradori, S., Cesa, S., Fraschetti, C., Filippi, A., Angiolella, L. (2018). Chromatographic Analyses, In Vitro Biological Activities, and Cytotoxicity of Cannabis sativa L. Essential Oil: A Multidisciplinary Study. *Molecules*, 23: 3266.
- Zhang, L., Cai, Y., Li, L., Chen, C., Zhao, H., Zhang, Z., Liu, M. (2022). Effects of luteolin on biofilm of Trueperella pyogenes and its therapeutic effect on rat endometritis. *Int J Mol Sci*, 23(22): 14451.
- Zhang, L.X., Li, C.X., Kakar, M.U., Khan, M.S., Wu, P.F., Amir, R.M. (2021). Resveratrol (RV): a pharmacological review and call for further research. *Biomed Pharmacother*, 143: 112164.

7. EKLER

Ek 7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



ÖZGEÇMİŞ

