



**SİMENTAL İNEKLERDE ASPROSİN DÜZEYİNİN
FERTİLİTE BAŞARISI VE OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Rahmi KÖSE

Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Serkan Ali AKARSU

İkinci Danışman

Doç. Dr. Serdal KURT

Yüksek Lisans Tezi-2024



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

**SİMENTAL İNEKLERDE ASPROSİN DÜZEYİNİN
FERTİLİTE BAŞARISI VE OKSİDATİF STRES
ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Rahmi KÖSE

**Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Serkan Ali AKARSU
İkinci Danışman
Doç. Dr. Serdal KURT**

**ERZURUM
2024**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.Dişi Üreme Sisteminin Anatomisi	2
2.1.1.Ovaryum	2
2.1.2. Ovidukt	2
2.1.3.Uterus.....	3
2.1.4.Serviks	4
2.1.5.Vagina.....	4
2.1.6.Vulva.....	5
2.2.İneklerde Seksüel Sikluslar.....	5
2.2.1.Ovarial Siklus	6
2.2.2.Endometrial Siklus.....	7
2.2.3.Proöstrus	8
2.2.4.Östrus	9
2.2.5.Metöstrus	9
2.2.6.Diöstrus	10
2.3.İneklerde Seksüel Siklusun Hormonal Mekanizması	11
2.4.İneklerde Östrus ve Ovulasyonun Kontrolü (Senkronizasyon)	12

2.4.1.Östrus Senkronizasyon Yöntemleri	13
2.4.1.1. Progestagenlerle Östrus Senkronizasyonu	13
2.4.1.2. PGF2 α ile Kullanılan Yöntemler	13
2.4.1.3. PGF2 α ve GnRH Kombinasyonlu Ovulasyon Senkronizasyon Metotları	14
2.5.İneklerde Gebelik Tanı Yöntemleri	14
2.5.1.Doğrudan Tanı Yöntemi	15
2.5.1.1.Rektal Palpasyon.....	15
2.5.1.2.Fertilizasyon Sonrası Östrus Takibi.....	16
2.5.1.3.Gebeliği Destekleyici Diğer Bulgular.....	16
2.5.2. Transrektal Ultrason Bulguları	16
2.5.3.Dolaylı Tanı Yöntemi	17
2.5.3.1. Gebelik İlişkili Glikoprotein (PAG)	17
2.5.3.2.Progesteron (P4)	17
2.5.3.3.Erken Gebelik Faktörü (EGF).....	18
2.5.3.4. Estron sülfat	18
2.6.Adipoz Dokular ve Bu Dokulardan Salınan Hormonlar.....	18
2.6.1.Leptin	19
2.6.2.Adiponektin	19
2.6.3.Vaspin (Serpın)	20
2.6.4.Asprosin	20
2.6.4.1.Asprosin ve Oksidatif Stres İlişkisi	21
2.6.4.2.Oksidatif Stres ve Asprosin Düzeyinin Fertiliteye Olası Etkisi	21
3. MATERYAL VE METOT.....	23
3.1 Hayvanların Seçimi.....	23
3.2. Yöntem ve Gruplandırma	23

3.3 Kan Alımı	24
3.4 Gebelik Muayeneleri.....	24
3.5. Biyokimyasal Analizler	25
3.5.1. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS).....	25
3.5.2. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS).....	25
3.5.3. PAG ve Asprosin Ölçümü	26
3.6. İstatistiksel Analizler	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA.....	31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
KAYNAKLAR	38
EKLER	51
EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	51
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	52

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Serkan Ali AKARSU'ya, ikinci danışmanım Doç. Dr. Serdal KURT'a teşekkürü bir borç bilirim.

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ali Doğan ÖMÜR'e, Araş. Gör. Gamze UÇAK'a çalışma sırasındaki yardımları için Vet. Hek. Mehmet Akif AYDIN'a, Yüksek lisans öğrencilerinden Ahmet KARAHANLI ve Ahmet YÖRÜ'ye istatistiksel analizlerdeki yardımları için Hakan SERİN'e saygı ve şükranlarımı sunarım. Çalışmamızı TYL-2023-13244 proje kodu ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine ve gerekli kolaylıkları sağlamaları sebebiyle Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Merkezi birimi yöneticilerine teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans eğitimim boyunca maddi ve manevi destekleri için aileme ve kıymetli eşim İlk Nur KÖSE'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Rahmi KÖSE

ÖZET

Simental İneklerde Asprosin Düzeyinin Fertilité Başarısı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması

Amaç: Asprosin adipoz dokulardan salgılanan bir hormondur. Bu çalışmada amaç ineklerde asprosin düzeyinin fertilité ve oksidatif stres parametreleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Materyal ve Metot: Çalışma düşük (DA, n: 22) ve yüksek (YA, n: 22) asprosin değerine sahip Simental ırkı multıpar inekler üzerinde yürütüldü. Çalışmanın başı (0. gün) ve olası gebeliğin 25. gününde kan örnekleri alınarak gebelik ilişkili glikoprotein (PAG), total antioksidan seviyesi(TAS) ve total oksidan seviyesi(TOS) seviyeleri ticari kitler kullanılarak ölçüldü. Çalışmanın başında suni tohumlama uygulamaları gerçekleştirildi ve gebelik teşhisi 25. gün PAG ölçümü ile, 45. gün ise ultrasonografi ile yapıldı.

Bulgular: YA grubundaki ineklerin 25. gün TAS seviyesi başlangıç TAS ölçüm seviyesine göre yüksekti ($p=.007$). Çalışmanın başındaki TOS düzeyi DA grubuna göre YA grubunda daha yüksekti ($p=.017$). DA grubundaki ineklerin 25. gün TOS düzeyi, başlangıç TOS düzeyinden anlamlı şekilde yüksekti ($p=.028$).

Sonuç: Sonuç olarak ineklerde asprosin seviyesi oksidatif stres parametrelerini etkiledi. ROC analizine göre TOS ile asprosin arasında güçlü bir korelasyon olduğu ve yüksek asprosin değerine sahip olan ineklerin oksidatif strese maruz kalabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Asprosin, gebelik, inek, oksidatif stres, suni tohumlama

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Asprosin Level on Fertility Success and Oxidative Stress in Simmental Cows

Aim: Asprosin is a hormone secreted from adipose tissues. The aim is to investigate the effect of asprosin level on fertility and oxidative stress parameters in Simmental cows.

Material and method: The study was conducted on Simmental multiparous cows with low (DA, n: 22) and high (YA, n: 22) asprosin values. At the beginning of the study (day 0) and on the 25th day of pregnancy, blood samples were taken and pregnancy-associated glycoprotein (PAG), total antioxidant level (TAS) and total oxidant level (TOS) were measured using commercial kits. Artificial insemination was performed at the beginning of the study and pregnancy was diagnosed by PAG measurement on day 25 and ultrasonography on day 45.

Results: In the YA group, the TAS level on Day 25 was higher than the TAS level at the beginning of the study ($p=.007$). TOS level at the beginning of the study was higher in the YA group than in the DA group ($p=.017$). The 25th day TOS level of cows in the DA group was significantly higher than the TOS level at the beginning of the study ($p=.028$).

Conclusion: Asprosin level in cows affected oxidative stress parameters. According to ROC analysis, it was concluded that there was a strong correlation between TOS and asprosin and that cows with high asprosin values may be exposed to oxidative stress.

Key Words: Asprosin, pregnancy, cow, oxidative stress, artificial insemination.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BMI	: Beden kitle indeksi
BYD	: Beyaz yağ dokusu
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
CIDR	: Kontrollü dahili ilaç salımı
ECP	: Östradiol spionat
EIA	: Enzim immunoassay
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LH	: Luteinleştirici hormon
OLFR734	: Olfaktör reseptör 734
PAG	: Gebelikle ilişkili glikoprotein
PGF2α	: Prostaglandin f _{2α}
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonu
PRID	: Progesteron salgılayan intravaginal cihaz
RIA	: Radyoimmunoassay
ROC	: Receiver Operating Characteristic (İşlem Karakteristik Eğrisi)
TOS	: Total oksidan düzeyi
TAS	: Total antioksidan düzeyi
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
OSI	: Oksidatif stres indeksi
VKS	: Vücut kondisyon skoru

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. Östrus senkronizasyonu uygulama şeması.....	24
Şekil 3.2. Çalışma şeması DA: düşük asprosin seviyesi, YA: yüksek asprosin seviyesi	25
Şekil 4.3. YA ve DA grubundaki ineklerin TOS, VKS ve asprosin seviyelerinin karşılaştırılması	29
Şekil 4.4. TOS'un yüksek ve düşük asprosin düzeyine sahip inekleri ayırmadaki ROC eğrisi.....	30

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 4.1. Düşük ve yüksek asprosin düzeylerine sahip ineklerde fertilitite ve oksidatif stres düzeylerinin karşılaştırılması.....	28
Tablo 4.2. TOS düzeyin asprosin düzeyi yüksek olan inekleri ayırmadaki performansı	30



1.GİRİŞ

Son yıllarda artan insan nüfusunun hayvansal kaynaklı besin ihtiyacını karşılayabilmek için hayvan başına elde edilen verim mümkün olduğunca artırılmaya çalışılmaktadır. Bu bağlamda birçok genetik ve ıslah çalışmaları yürütülmüş olup hayvan başına elde edilen verim belirli ölçülerde artırılabilmiştir (Akman, 1997; Aksoy & Yavuz, 2012; Oldenbroek ve ark., 2022). Ancak artan üretimi karşılayabilmek için hayvanların enerji talepleri artmıştır (Özkan & Şahin Demirbağ, 2016). İnekler özellikle doğum öncesi 3-4 hafta ile postpartum ilk 3-4 haftalık süreç içerisinde metabolik ve immünolojik yönden hızlı bir değişim geçirmektedirler (Bühler ve ark., 2018; Sundrum, 2015). Bu süreçte inekler öncelikle gebeliğe bağlı değişen hormonal ve metabolik dengeden dolayı iştahın azalması ve süt üretiminin aniden başlamasına bağlı olarak enerji ihtiyacının artması nedenleriyle negatif enerji dengesine (NED) girmektedir (Bisinotto ve ark., 2015). Enerji açığı sonucunda ihtiyaç duyulan enerji adipoz dokuların mobilizasyonu ile açığa çıkan nonesterize yağ asitlerinin (NEFA) karaciğerde metabolizması ile karşılanmaya çalışılmaktadır (Li ve ark., 2022). NEFA mobilizasyonunun aşırı düzeyde olması birçok metabolik ve enfeksiyöz hastalıklara yatkınlığı artırarak dolaylı ya da direkt olarak ciddi fertilité sorunlarına yol açabilmektedir (Torres ve ark., 2020; Yehia ve ark., 2020). Öte yandan adipoz dokularının metabolizması esnasında adipokin veya adipositokin adı verilen protein yapısındaki çeşitli mediatörler de açığa çıkmaktadır (Aktaş ve ark., 2013; Demirci & Gün, 2019; Farrag ve ark., 2023). Adipositokinlerin immünolojik ve glikoz sistemi üzerinde önemli rolleri bulunmaktadır. Son yıllarda asprosin adlı bir mediatör, immün sistem, insülin salınımı ve enerji metabolizmasındaki etkilerinden dolayı merak konusu olmuştur (Farrag ve ark., 2023; Mazur-Bialy, 2021).

Sunulan tez çalışmasında asprosinin fertilité ve oksidatif stres üzerine etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Dişi Üreme Sisteminin Anatomisi

Dişi üreme (reprodüktif) sistemi; ovaryum, ovidukt, uterus, serviks, vagina ve vulvadan oluşur (Karakaş, 2017).

2.1.1. Ovaryum

Ovaryumlar, pelvisin kranial girişinde ve abdomen duvarının ventralinde yer almaktadır. Ovaryumlar bel bölgesinde peritondan gelen ligamentum suspansorium ovarii yani mezovaryum ile asılı halde bulunur. Ovaryumların morfolojisi ve boyutları, seksüel siklusun farklı evrelerinde değişiklik gösterir. Örneğin; üremenin aktif olduğu dönemlerde ovaryumlar 4-6 cm uzunluğunda olabilirken, inaktif dönemlerde 1,5-3 cm uzunluğunda olabilirler. Ovaryumlar, tunika albuginea adı verilen bir bağ doku zarıyla sarılıdır. Dış kısımda zona paranzimatoza adı verilen bir kabuk bulunurken, iç kısımda substantia medullaris bulunur. Paranzim dokusunda, gelişim ve gerileme aşamalarına göre birçok folikül (primer, sekonder, tersiyer, graaf ve atretik), korpus luteum ve korpus albicans yer alır. Korpus luteum, memelilerde ovaryumda meydana gelen hormonal değişikliklerden sonra kaybolan geçici bir yapıdır. Ovaryumlar, endokrin (östrojen ve Progesteron (P4) salgılayan) ve ekzokrin (ovum üreten) fonksiyonlara sahiptir (Alaçam, 1997; Demirci, 2002; Sönmez, 2012).

2.1.2. Ovidukt

Müller kanallarının kranial kısmı tarafından şekillendirilip, ovaryum ile kornu uteri arasında bulunur ve gametlerin taşınmasından sorumludur. Fertilizasyonun gerçekleştiği yer olması sebebiyle, suni tohumlama için büyük önem taşıyan ince duvarlı ve küçük çaplı bir çift borudur. Ligamentum latum uterinin kranial parçası üzerinde hayvanın yaşına göre değişen, zikzaklı bir şekilde seyreden, uzunluğu genellikle 20-30 cm arasında ve çapı sığırlarda 1-4 mm olan bir yapıdır. Ovidukt; fimbria, infundibulum,

ampulla ve isthmus olarak dört kısma ayrılır. Kanalların ovaryuma açılan kısmı fimbria ovarika olarak adlandırılır ve huni tarzında genişlemiş hareketli bir yapıdadır. Östrus döneminde östrojenin etkisiyle hareketi artar ve ovumu yumurtalık kanalına taşır. Dıştan içe doğru, üç tabakası bulunur: tunika seroza, tunika muskularis ve tunika mukoza (mukozal tabaka). Tunika mukoza bezlerden zengin bir yapıya sahiptir ve tunika muskularis, kontraksiyonlarıyla ovumun uterus içine taşınmasını sağlar. Oviduktlar, yumurtayı yakalama, dölleme sürecini gerçekleştirme ve uterusu ulaştırma gibi görevleri üstlenir. Ayrıca, dölleme öncesinde kapasitasyon sürecinin önemli bir kısmı burada tamamlanır (Sönmez, 2012).

2.1.3. Uterus

İneklerde uterus; serviks, korpus uteri ve kornu uteri kısımlarından oluşur. Ruminantlarda her iki kornu ventral yöne doğru kıvrılmış ve 20-40 cm uzunluğundadır. İnekte, uterus bikornis subseptum şeklindedir ve korpus uteri yaklaşık olarak 2-3 cm uzunluğundadır. Kornuların ucu abdominal boşlukta os pubise kadar uzanır. Ligamentum latum uteri yani mezometriyum, sublumbal bölgeye asılmıştır. Uterus duvarı boyunca yapılan bir kesitte, üç katmanlı olduğu görülür. Bu katmanlar, içten dışa doğru şu şekilde adlandırılır: endometriyum, myometriyum perimetriyum. İneklerde, gebelik süresince fetal zarlardaki kotiledonlara bağlanan ve karunkula olarak adlandırılan 80 ila 120 arasında kalıcı yapı bulunur. Gebe olmayan ineklerde karunkulalar küçük olduğundan endometriyum düz bir yüzeye sahiptir. Uterus; spermatozoonların taşındığı ve dölleme için kısmen hazırlandığı, kapasitasyonunun gerçekleştiği, fetüsün plasenta yoluyla beslendiği ve geliştiği, prostaglandin hormonunun salgılandığı, embriyonun yerleştiği, korunduğu ve gelişen yavrunun doğum sırasında kasılmalarla dışarı çıkmasını sağlayan organdır (Noakes ve ark., 2019; Sönmez, 2012).

2.1.4. Serviks

Uterus ile vaginayı birleştiren, kıvrımlı, kaslı ve ortasında ince bir kanalı olan organdır. Fizyolojik yapısı gereği, kızgınlık döneminde açılıp daha sonra kapanan ve kalın duvarlı olan bu organ, palpasyonla kolaylıkla ayırt edilebilir. Fibröz yapıda 3-5 adet enine halka (Burdı Halkası) içerir. Düvelerde 2-3 cm çapında ve 5-6 cm uzunluğunda, ineklerde ise 7 cm çapında ve 7-10 cm uzunluğundadır. Kanalın vaginaya açılan kısmına "orificium uteri externum", uterusu bakan kısmına "orificium uteri internum", vaginaya olan çıkıntısına da "portio vaginalis" adı verilir. Serviks salgı bezleri içermez ancak içerdiği goblet hücreleri tarafından servikal mukus salgılanır. Mukusun yapısı seksüel siklusun östrojenik evresinde akışkan ve berrak görünümde, gebelik ve luteal dönemde ise katı kıvamlı ve koyu renkli olarak gözlenir. Gebelik sırasında servikal mukusun kıvamı akışkanlığını yitirir ve bir tıpa görevi görür. Östrus döneminde tıpa kısmen gevşeyerek spermatozoanın geçişini kolaylaştırırken, doğum sırasında yavrunun geçişini sağlayacak şekilde genişler. Ayrıca serviksin; anormal spermatozoanın elimine edilmesi, sperm rezervuarı oluşturması, sperm bariyeri oluşturması (türe özgü olarak) ve gebelik sırasında bakteri invazyonunu engellemesi gibi görevleri de vardır (Noakes ve ark., 2019; Sönmez, 2012).

2.1.5. Vagina

Serviks ile vulva arasında yaklaşık 25-30 cm uzunluğunda, kıvrımlı, zarlı ve bezsiz bir organ bulunur. Bu organ, çiftleşme organlarının kranial kısmını oluşturur. Dorsalde rektum, ventralde idrar kesesi arasında, median pozisyonda yer alan vagina çiftleşme organıdır. Doğum sırasında genişleyerek yavrunun çıkmasına izin verir. Çiftleşmemiş hayvanlarda, vagina ile vulva arasında orificium uretra externumun kranialinde delikli mukozadan oluşan kıvrımlı bir zar (hymen) bulunabilir. Normalde kısmi bir çıkıntı yapar ve çiftleşme sırasında ortadan kalkar. Kalıcı olması istenmeyen bir

durumdur. Bu zar, ineklerde "Hymenal Ring" olarak adlandırılan kaslı bir yapıdadır. Vaginadan östrus esnasında salgılanan mukus bölgeyi kaygan hale getirir ve bu bölgeye sperma bırakılır. Vaginanın kranialinde, vaginal forniks bulunur. Suni tohumlama esnasında kateter kullanımında dikkat edilmesi gereken bir noktadır. Vestibular duvarda vestibular bezler bulunmaktadır. Bu bezlere ait salgılar östrus döneminde erkek hayvanı cinsel olarak uyaran feromonları içermektedir (Deutscher, 1980).

2.1.6. Vulva

Vertikal vulval açıklık, ventral ve dorsal birleşme noktası (kommissura) arasında uzanan iki dudaktan oluşur. Dorsal kommissura yuvarlakken, ventral kommissura sivri ve dışa dönüktür. İçten dışa doğru; vestibulum, klitoris ve labium vulvadan oluşur. Klitoris, ventral kısmında bir çukur içinde (fossa klitoris) yer alır. Klitorisin çok sayıda duyu siniri içermesi nedeniyle, tohumlama sonrasında masaj yapılması tavsiye edilir (Demirci, 2002; Deutscher, 1980).

2.2. İneklerde Seksüel Sikluslar

Puberta, düvelerde normal uzunlukta bir luteal evrenin izlediği, fertil ovulasyonlu ilk östrüsün başlamasıdır. Sanılanın aksine puberta seksüel olgunluk değil, başlangıcıdır. Çünkü ilk ovulasyonlu kızgınlık puberta kabul edilirken bundan sonra oluşacak kızgınlıklarda seksüel olgunluk artarak gebe kalma yeteneği de gelişir. Östrüs; pubertaya ulaşan sağlıklı düveler ile gebe olmayan ve puerperal dönem sorunu bulunmayan ineklerin belirli zaman aralıkları ile tekrarlanan ve dış belirtileri ile de fark edilebilen erkeği kabul ettiği (12-18 saat) ve çiftleştiği dönemdir. Sığırlar poliöstrik hayvanlar olduğu için belirli aralıklarla yıl boyu östrüs gösterirler. Kısaca, bir östrüs döneminden diğer bir östrüs dönemine kadar geçen süre 'östrüs siklusu' olarak adlandırılır ve ortalama 21 gün sürmektedir. Devam eden bir siklusun evresi bitmeden diğer siklusun fonksiyonel yapıları devam eder. Siklusun süresi; bakım, besleme, ırk, iklim şartları, vücut ağırlığı,

yaş, ahırda boğanın bulunması ve ineğin ahır içerisinde serbest dolaşması gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Düvelerde siklus süresi ineklere göre daha kısa sürmektedir (Alaçam, 1997; Sönmez, 2012).

2.2.1. Ovarial Siklus

Foliküllerin gelişimi, korpus luteumun oluşumu ve regresyonunu kapsar. Düvelerin pubertaya ulaşmasından sonra hipofiz kökenli hormonların etkisiyle bazı primer foliküllerden sekonder foliküller gelişmektedir. Sekonder foliküllerin çevresinde granuloza hücreleri yer alır. Bu dönemde ovumu koruyan zona pellusida oluşur. Sekonder foliküllerin büyük bir çoğunluğu gelişmelerini sürdürmesiyle folikül epitel hücreleri de çoğalırlar. Folikül epitel hücrelerinin gelişmesi sırasında salgılanan sıvı protein çözme özelliğine sahip çeşitli enzimler ile östrojen yönünden zengindir. Bu sıvının bir kese içine birikmesiyle folikül ovaryumun dış yüzeyine doğru taşar. Ovaryumun dış yüzeyine doğru taşan bu yapıya tersiyer folikül adı verilir. Bu dönemde ovumun çevresinde zona pellusida, ışık tarzında sıralanmış tek katlı korona radiata ve granuloza hücre katları yer almaktadır. Folikül boşluğunun içine doğru uzanan kumulus oophorus bulunmaktadır. Östrus döneminde en büyük tersiyer folikül kısa süre içerisinde gelişerek graaf folikülünü oluşturur. Graaf folikülünün perifer folikül duvarı ince ve yırtılmaya uygundur. Ovulasyondan önce kumulus oophorus bölgesinde ovumu saran granuloza tabakası gevşeyerek ovumun korona radiata ve birkaç kat granuloza hücreleri ile ovaryumlardan ayrılıp ovidukta atılır. Ovulasyonun oluşmaması ve folikül sıvısının folikül içerisinde toplanmaya devam etmesi ile foliküler kistler meydana gelir. Ovulasyondan sonra folikül boşluğu hemen kan ile dolar. LH (Luteinleştirici hormon) etkisiyle lutein hücreleri çoğalarak korpus luteumu oluşturur (Aydemir, 2021). İneklerde bir östrus siklusunda 3 veya 4 foliküler dalga gözlenmektedir. Bu foliküler dalgalardan birincisi ovulasyondan hemen sonra siklusun 3-5. günlerinde, ikincisi 8., üçüncüsü 10-

12. ve dördüncüsü 15.-17. günlerde oluşmaktadır. Ovulasyon, siklusun 15-17. günlerinde gelişen foliküllerde oluşmaktadır. İlk 3 foliküler dalgada östrus semptomlarının görülmemesi, korpus luteum yetersizliğine işaret eder. Bu foliküler dalgalardaki östrus semptomları zayıf olup, P4'ün varlığından dolayı ovulasyon söz konusu değildir. Seksüel siklus evrelerinde sağ ve sol ovaryumun şekil ve boyutları farklıdır (Alaçam, 1997; Deutscher, 1980; Orsini ve ark., 2021; Sönmez, 2012).

2.2.2. Endometrial Siklus

Ovaryum kökenli hormonların (östrojen ve P4) konsantrasyonlarına bağlı olarak endometriumda hem fonksiyonel hem de histolojik değişiklikler gözlenir. Ayrıca; oluşan bu değişikliklerin embriyoya has bir tepki olduğunu göstermektedir (Biase ve ark., 2019). Östrojen salgısının baskın olduğu dönemde özellikle oviduktta önemli görevler yürütülmektedir. Ovidukt ovum ve spermatozoanın fekondasyon bölgesine taşınmasını, östrojen ve oksitosin tarafından oluşturulan kontraksiyonlar ile sağlamaktadır. Ovidukt mukozasındaki epitel hücrelerin kamçı hareketleri ovulasyon esnasında artmaktadır. Ovidukt mukozasının salgısı aynı zamanda ovum ve spermatozoanın beslenmesini sağlar. P4 salgısındaki artışa bağlı olarak, oviduktta kontraksiyonlar azalmakta ve ovum yaklaşık 4-5 gün süre ile oviduktta kalmaktadır. Uterus endometriumunda ovaryumlardan salgılanan hormonlar ile proliferasyon, sekresyon ve involüsyon olmak üzere 3 farklı evre söz konusudur. Proöstrus evresinde östrojenin etkisiyle endometriumda büyüme ve kalınlaşma (proliferasyon) gözlenir. Aynı dönemde endometriumdaki kan dolaşımı artar. Proöstrus döneminde uterustaki bezlerden ve serviksten salgılanan sulu kıvamdaki mukus, östrus evresinde berrak renk alarak elastikiyet kazanır. Mukus (çara) vagina yoluyla dışarıya atılır. Östrusta östrojen ve oksitosin etkisiyle uterusun duyarlılığı artmıştır. Bu dönemde yapılan rektal muayenelerde, uterusun kontraksiyonlarından dolayı tonusun arttığı hissedilir. Peristaltik uterus kontraksiyonları, ovulasyon sırasında

serviksten kornu uterilere doğrudur. Bu kontraksiyonlar spermatozoanın pasif olarak taşınmalarını sağlar. Uterus endometriumundaki sekresyon evresi P4 etkisiyle siklusun 3.gününden sonra başlar. Uterus mukozası bu dönemde uterus sütü adı verilen ve embriyonun geçici olarak beslenmesini sağlayan sıvıyı salgılamaktadır. P4 düzeyindeki artışa bağlı olarak uterus kontraksiyonları baskılanmakta ve bu durum embriyonun uterusu implantasyonu için uygun ortam yaratmaktadır. Gebelik oluşmadığı takdirde uterus mukozasında bulunan bezler involü olmakta ve uterus lümenine bırakılan bez hücreleri rezorbe edilmektedir. İneklerde serviksteği goblet hücrelerinden proöstrus ve östrus evresinde mukus salgılanmaktadır. Östrus esnasında servikal kaslarda tonus azdır. Bu durum hem kateter uygulamasını hem de spermatozoanın serviksi geçmelerini kolaylaştırmaktadır. Metöstrus, diöstrus ve gebelik esnasında P4 etkisiyle servikal kanaldaki halkalar daralmakta ve koyulaşan mukus servikal kanalı kapatmaktadır. Böylece diöstrus ve gebelik esnasında bakterilerin uterusu servikal yolla ulaşmaları engellenmektedir. Serviks, östrojen etkisiyle açılmakta ve östrus esnasında hipereminin etkisiyle gül kırmızısı renge dönüşmektedir (Orsini ve ark., 2021; Sönmez, 2012).

2.2.3. Proöstrus

Siklusun 18-21. günlerini kapsar ve 3-4 gün sürer. Bu evrede korpus luteumun regresyonu ile P4 etkisi ortadan kalkar ve Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgılanması uyarılır. Böylece hipofizin ön lobundan Folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanır. FSH'nın etkisiyle gelişen foliküllerden sentezlenen östrojen ile endometriumda proliferasyon ve devamında hidrasyon şekillenir. Ayrıca östrojenin pozitif feed-back etkisiyle hipotalamus ve hipofiz GnRH'ya duyarlı hale gelir. Vulva dudaklarında enlemesine kıvrımlar kaybolmaya başlar. Vulva ödemli, vagina hiperemik ve nemlidir. Serviks, portio vaginalise dönük ve mukozası hiperemiktir. Uterusun kıvamında artış olmakla beraber dokunulduğunda kontraksiyonlar şekillenir. Rektal

palpasyonda folikül ovaryuma gömülü olarak hissedilir. Diğer hayvanların üzerine atlama, flehmen reaksiyonu, çara akıntısı, yem tüketiminde azalma, süt veriminde azalma gibi davranışlar proöstrusun sonlarına doğru gözlemlenir (Sönmez ve ark., 2006; Yüksel ve ark., 2012).

2.2.4. Östrus

Hayvanın çiftleşmeyi kabul ettiği dönem olarak bilinmektedir. Sığırlarda ortalama olarak 12-18 saat sürmektedir. Dış faktörlere bağlı olarak östrus süresi daha da kısalabilir (ahırda boğa bulunması, sıcak ve aşırı soğuk gibi). Vücut sıcaklığında artma, yem alımı ve süt veriminde azalma, tipik bakış, kuyruk ve kulakları oynatma, duldung refleksi, flehmen reaksiyonu, temas arayışı, harekette isteksizlik, diğer östrusta olan inekleri takip etme ve sürüden ayrılma, genital bölgeyi koklama ve yalama eğilimi, birbirlerinin üzerine atlama gibi davranışlar östrusun tipik davranışları olarak sayılabilir. Vaginada çiftleşme esnasında kayganlığı sağlayan çaranın miktarının, elastikiyetinin ve kıvamının östrusta arttığı gözlemlenir. Çaranın bakteriostatik etkisi de vardır. pH'sının alkali olmasından dolayı spermatozoanın yaşama süresini uzatmaktadır. Vulvada ödem vardır ve enlemesine kıvrımlar tamamen yok olmuştur. Vagina hiperemiktir ve serviks açıktır. Ovidukt ve endometriyumda vaskularizasyon ve sekresyon artmakla birlikte miyomeriyumda kalınlaşma görülür (Sönmez, 2012; Sönmez ve ark., 2007).

2.2.5. Metöstrus

Metöstrus kesin sınırları tam belli olmamakla beraber östrusun bitimi ya da uterusu kontraksiyonların sona ermesi, vagina ve vulvadaki hipereminin kaybolması, servikal kanalın kapanması gibi semptomlar ile başlar. Metöstrustaki inekler boğanın aşmasına izin vermezler. Metöstrus 3-4 gün sürer. Bu dönemde vaginal mukus kanla karışıktır. Östrojenin etkisiyle uterusu hiperemi oluşur ve hiperemi ile endometriyumdan diapedez yoluyla veya kılcac damarların yırtılması ile dışarı sızan kan uterus lümeninde

toplanır ve çara ile karışarak dışarı atılır. Kan, genellikle östrüstan 40-60 saat sonra çara ile vulvaya ve kuyruğa bulaşmış şekilde görülür. Çaranın yapışkan bir hal alıp elastikiyetini kaybettiği görülür. Özellikle suböstrustaki hayvanların seksüel aktivitelerinin dışarıdan tanınabilen tek semptomu, metöstrus kanamasıdır. Tohumlamadan 2 gün sonra görülen metöstrus kanaması tohumlamanın uygun zamanda yapıldığının işaretidir. Kanamanın daha geç görülmesi erken tohumlandığını, 2 günden daha kısa sürede görülmesi ise tohumlamaya geç kalındığını işaret eder. Metöstrus kanaması östrusun ve ovulasyonun fizyolojik olarak gerçekleştiğini ve korpus luteumun oluşumunun başladığını göstermektedir. Ancak metöstrus kanaması hayvanın gebe kalıp kalmadığı hakkında bir fikir vermez. Ovulasyon metöstrusta, genellikle östrus semptomlarının bitiminden 8-10 saat sonra gerçekleşir. Korpus luteumun gelişimi bu evrede başlar ve yaklaşık 12 gün sürer (Sönmez, 2012; Sönmez ve ark., 2006).

2.2.6. Diöstrus

Seksüel siklusun en uzun evresi olup, 10-12 gün sürmektedir. Korpus luteumun gelişimi tamamlanır. P4, endometriyumun kalınlaşmasına, bu bölgedeki salgı bezlerinin hipertrofisine ve sekresyona (uterus sütü) neden olur. Serviks kapalı ve uterus tonusu kaybolmuştur. Gebeliğin şekillenmediği durumlarda P4 seviyesi düşüp, korpus luteum küçülmeye başlar. Diöstrusun sonlarına doğru östrojen artar ve Prostaglandin $f_{2\alpha}$ (PGF 2α) salgısını uyarır. Endometriyumdan salgılanan PGF 2α , korpus luteumun regrese olmasına neden olarak yeni bir graaf folikülünün oluşumu için uygun ortam hazırlanır. Diöstrusun 10-12. günleri arasında tersiyer foliküllerden birinin fazla gelişmesi ve buna bağlı yalancı kızgınlık semptomlarının ortaya çıkmasıyla hayvanın diöstrusta tohumlanmasına sebep olabilir. Gebeliğin şekillenmesi halinde siklusun 14.-16. günleri arasında embriyo tarafından salgılanan trofoblast (Bovines Trophoblasten Protein) proteini, korpus luteumun devamlılığını destekler ve prostaglandin salgısını önleyerek

gebeliğin devamını sağlar. Gebeliğin veya seksüel siklusun oluşmasında hipotalamus-hipofiz-ovaryum ve uterus tarafından salgılanan hormonların karşılıklı etkileşimleri önemli rol oynamaktadır (Aydemir, 2021; Deutscher, 1980).

2.3. İneklerde Seksüel Siklusun Hormonal Mekanizması

Evcil memeli hayvanlarda seksüel siklus beyinden endokrin bezlere kadar etkili olan hormonlar tarafından düzenlenir. Seksüel siklusun kesintiye uğramadan devam edebilmesi için, hipotalamus ile hipofiz arasındaki nükleus infundibulariste yer alan ve 10 farklı aminoasitten meydana gelen GnRH; görme, ısı, ışık, koku, psikolojik ve fizyolojik uyarıların etkisiyle salgılanmaktadır. Salgılanan GnRH adenohipofize ulaşır ve tamamı kullanıldığı için perifere geçmez. GnRH ineklerde foliküler kist, ovulasyonun uyarılması, luteal yetersizlik, hakiki anöstrus, foliküler atrezi ve postpartum ovaryum fonksiyon sorunlarından korunma gibi klinik durumlarda kullanılmaktadır. Kana verilen GnRH hipofiz ön lobuna gelerek FSH ve LH salınımını sağlar. FSH, öncelikle ovaryumlarda bulunan foliküllerin büyümesine ve bunun sonucunda östrojen salgısının artmasına neden olur. Östrojenler kana verildikten sonra diğer steroid hormonlar gibi taşıyıcı proteine tutunup hedef dokuya giderler. Kendine has reseptöre bağlanmadan önce taşıyıcı protein ile ayrılıp, hedef hücrenin çekirdeğine girer. Çekirdekte oluşturduğu biyokimyasal reaksiyonlarla hücrede büyümeye yol açıp, dişi hayvanlarda proöstrus ve östrusta genital organlarda bilinen değişikliklere neden olur. Ayrıca östrojen gerek çiftleşme gerekse spermatozoanın ovidukta ulaşması için uygun ortamı hazırlar (çara akıntısı, kontraksiyon gibi). Periferik kanda belirli konsantrasyona ulaşan östrojen, hipotalamus üzerinden GnRH'nın tekrar salınımını sağlayarak, hipofiz ön lobundan LH salgılanmasını uyarır ve böylece östrojen salgısı azalmaya başlar. Kan yolu ile ovaryumlara gelen LH'nın graaf folikülünde kendisine duyarlı reseptörlere bağlanmasından 24-32 saat sonra ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyon çukurluğunu luteal

hücreler ve lipidlerin beraber doldurmasıyla luteal hücreler sarı renge boyanır. Ovulasyondan 2-3 gün sonra luteal hücreler korpus luteumu oluşturmaya başlar. Siklusun 9-12. gününde mantar şeklinde taşıdığı gözlemlenir. Büyük kısmı ovaryuma gömülü olduğundan rektal muayene esnasında doku benzerliği bulunmaktadır. Korpus luteumun şekillenmesinden sonra steroid yapıda olan P4 salgısı başlar. P4, hipotalamusu etkileyerek yeni bir GnRH salgısını engeller. Dolaylı olarak da FSH ve LH salınımını baskılayıp yeni bir foliküler gelişimin önüne geçmiş olur. P4 etkisiyle servikal mukus (çara) koyulaşarak servikal bir tıpa oluşturur (Sönmez, 2012). P4; uterus kontraksiyonlarını azaltır, uterus sütünün salgılanmasında rol oynar, annelik davranışlarını belirginleştirir, T-lenfositleri bloke ederek embriyonun anne tarafından reddini engeller. Östrojen ve P4 sinerjik etki ederek; fekdasyon, gebelik ve doğumun şekillenmesinde önemli rol oynarlar. Korpus luteumun fonksiyonunun devamında LH ve embriyodan salgılanan maddeler (Bovine Trophoblast Proteini) önemli rol oynar. Fekondasyon şekillenmemesi halinde korpus luteumdan salgılanan oksitosin ve foliküllerden salgılanan östrojen, siklusun 16. gününden itibaren PGF2 α , siklik korpus luteumun luteolizisine neden olarak P4 sentezini 2-3 gün içinde sonlandırır. PGF2 α hem P4 salgısının durmasına hem de korpus luteumun küçülmesine neden olur. Siklusun 19. gününde fındık büyüklüğüne kadar gerilemiştir. Kandaki P4 seviyesinin düşmesiyle serbest kalan gonodotropinler (FSH, LH) ovaryuma tekrar etki ederek yeni bir siklusun başlamasını sağlar (Alaçam, 1997).

2.4. İneklerde Östrus ve Ovulasyonun Kontrolü (Senkronizasyon)

Östrus senkronizasyonu, östrus ve ovulasyonun istenilen zamanda gerçekleşmesi için eksojen hormon uygulamaları ile seksüel sıklusa müdahale edilerek yapılan planlı uygulamalardır (Bülbül ve ark., 2009). Östrusların tespitini kolaylaştırarak zaman kaybını azaltmak, suni tohumlama uygulamalarını kolaylaştırıp yaygınlaştırmak, postpartum ilk

tohumlama zamanını kontrol altında tutmak, embriyo transferindeki farklılıkları minimuma indirmek, sürü buzağılama aralığındaki farklılıkları azaltmak ve yılda bir buzağı alınmasını amaçlamaktadır. Ayrıca; reproduktif sorunu olan hayvanlar, üniform yavrular ve buzağı ölümlerinin azaltılması gibi temel sorunların da önüne geçmektedir (Cengiz & Tohumcu, 2021). Senkronizasyon yöntemlerinin temel prensipleri; luteal fazın kısaltılması, luteal fazın uzatılması ve foliküler gelişimin uyarılmasıdır. Senkronizasyondaki temel amaç, ineklerin buzağılamadan sonra biyolojik olarak en uygun zamanda ve ekonomik olarak kârlı bir aralıkta gebe kalmalarını sağlamaktır (Bó & Baruselli, 2014; Bülbül ve ark., 2009; Pekçok & Aksu, 2015).

2.4.1. Östrus Senkronizasyon Yöntemleri

Sığırlarda östrus senkronizasyonları iki temel duruma göre planlanmaktadır. Bunlardan ilki, mevcut P4 hormon kaynağının ortadan kaldırılması, diğeri ise P4 konsantrasyonunun yüksek tutularak ovulasyonun engellenmesi veya ertelenmesi olarak ifade edilir (Bülbül & Ataman, 2005).

2.4.1.1. Progestagenlerle Östrus Senkronizasyonu

Intravaginal P4 içeren araçların (PRID Delta veya CIDR) uygulanmasını içermektedir. Her iki araçta vagina içerisine asepti-antisepti kurallarına uyarak yerleştirilir ve 7. gün çıkartılarak östrus takibi sonrasında tohumlamalar yapılır (Rivera ve ark., 2005). Bunun yanında deri altı implant, oral P4 uygulaması ve enjektör P4 yöntemleri de kullanılmaktadır (Bülbül & Ataman, 2005).

2.4.1.2. PGF₂ ile Kullanılan Yöntemler

Ovaryum üzerinde mevcut korpus luteum bulunması durumunda tercih edilen yöntemlerdir. Ovaryum kontrollü ve ovaryum kontrolsüz yöntemler olarak uygulanmaktadır (Sönmez, 2012).

2.4.1.3. PGF2 α ve GnRH Kombinasyonlu Ovulasyon Senkronizasyon Metotları

a) Ovsynch Yöntemi

Son yıllarda özellikle sütçü sığırlarda kullanılan GnRH- PGF2 α kombinasyonu ile geliştirilen ovulasyonun senkronizasyon programıdır. Östrus takibi gerektirmeyen ve sabit zamanlı tohumlama yapılan programdır (Çenet & Korkmaz, 2020).

b) Co-Synch Yöntemi

Ovsynch protokolüne benzer bir metottur. Farkı, 9.gün GnRH enjeksiyonuyla beraber tohumlama yapılır. Düveler için uygun olmayan bir yöntemdir. Tohumlama 3. enjeksiyonla birlikte yapıldığından entansif yetiştiricilik için daha pratik bir yöntemdir (Sönmez, 2012).

c) Selectsynch Yöntemi

Ovsynch programında olduğu gibidir. Son GnRH uygulanmaz ve östrus takibine göre tohumlamalar yapılır. PGF2 α enjeksiyonundan önce östrusların oluşabileceği düşünülerek östrus gözlemi yapılmalıdır. Hem siklik hem de asiklik inekler için uygun bir yöntemdir (Sönmez, 2012).

d) Heatsynch Yöntemi

Bu yöntemde 0. gün GnRH enjeksiyonu, 7. Gün PGF2 α enjeksiyonu ve bir gün sonra Östradiol Cypiyonat (ECP) enjeksiyonu yapılmaktadır. Tohumlama ise ECP'den 42-50 saat sonra yapılmaktadır. ECP uygulaması ile pozitif feed-back etkisinden dolayı LH salınımını uyararak ovulasyonu sağlar. Anöstrustaki ineklerde ovsynch kadar etkili değildir. Normal siklus gösteren ineklerde daha iyi sonuç vermektedir. Suböstrus insidansının yüksek olduğu sürüler için uygun bir yöntemdir (Sönmez, 2012).

2.5. İneklerde Gebelik Tanı Yöntemleri

Günümüzde özellikle sığır çiftliklerinde, devamlılık açısından ineklerin 12-14 ayda bir yavru vermesi istenir. Bu açıdan hayvanın gebeliğinin ilk aylarda öğrenilmesi ve

doğumdan sonraki 2 aylık süreçte gebe kalması son derece önemlidir (Balhara ve ark., 2013; Fetrow ve ark., 2007). Gebelik teşhisinde kullanılan yöntemler, doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki gruba ayrılabilir (Çiplak, 2024).

2.5.1. Doğrudan Tanı Yöntemi

Günümüzde daha çok kullanılan ve pratik olan doğrudan tanı yönteminde; veteriner hekimin tecrübesine ve alet-ekipmanlara ihtiyaç vardır (Balhara ve ark., 2013).

2.5.1.1. Rektal Palpasyon

Yaklaşık yüz yıldan beri uygulanan bu yöntemde, rektumdan kolla yapılan müdahale ile uterusun fizyolojik konumu ve yapısı tespit edilir. Yapılan muayenede veteriner hekimin tecrübesi oldukça önemlidir (Ball & Peters, 2008). Oldukça kolay, ekonomik ve pratik olan bu yöntem ile gebelik, tohumlama/aşımı izleyen 30. günde belirlenebilir. Fakat; gebeliğin 42. gününden itibaren doğru kabul edilir (Noakes ve ark., 2018). Kısaca hayvanın gebe olması için temel 4 muayene bulgusundan en az birini belirlemek gerekir.

a) Amniyon kesesinin palpasyonu

Gebeliğin 42. gününde 2-3 cm çapına kadar kornu uteri palpe edilebilir (Jackson, 2002). Palpasyon sırasında dikkat edilmeli ve keseyi ileri geri hareket ettirip zarar verilmemelidir (Noakes ve ark., 2018). Çünkü yapılacak ufak bir hata fetal kalbe zarar verebilir (Rowson & Dott, 1963).

b) Yavru zarlarının kayması (Fetal Membran)

Gebeliğin yaklaşık 35-40. günlerinde fetal membranı kornu uteri duvarı boyunca palpe etmek mümkündür (Gordon, 1996).

c) Plasentomların Palpasyonu

Plasentomlar yaklaşık olarak 70-80. günlerden itibaren rektal muayene ile belirlenebilir (Gordon, 1996).

d) Fetüsün Palpasyonu

Amniyotik kese gebeliğin yaklaşık 65. gününden itibaren sıvı kaybettikten sonra fetüsü palpe etmek mümkündür (Gordon, 1996; Jackson, 2002; Noakes ve ark., 2018).

2.5.1.2. Fertilizasyon Sonrası Östrus Takibi

Çoğu süt işletmesinde fertilizasyonu takiben yaklaşık 3 hafta sonrasında kızgınlık belirtisi göstermeyenler gebe kabul edilebilir (Youngquist & Threlfall, 2006). Fakat bu sistemde östrus takibinin düzenli yapılmış olması gerekir (Çiplak, 2024).

2.5.1.3. Gebeliği Destekleyici Diğer Bulgular

Bunlar palpasyonla belirlenen; kalıcı korpus luteum varlığı, asimetrik kornular ve arteria uterina medianadan hissedilen fremitus varlığı sayılabilir (Çiplak, 2024).

2.5.2. Transrektal Ultrason Bulguları

Sığırlarda transrektal ultrasonografi gebelik için 1980'li yıllardan itibaren kullanılmaktadır (Çiplak, 2024). Tıbbi ve cerrahi hastalıklardan ziyade daha çok üremenin denetimi için kullanılmaktadır (Buczinski & O'Connor, 2016). Sığırlarda genellikle 3,5-5-7,5 MHz problar tercih edilirken, maksimum verimi 3 MHz prob ile gebeliğin teşhisi 25.güne kadar %94 başarı oranı ile sağlanabilir (Hanzen & Delsaux, 1987; Ribadu & Nakao, 1999). İneklerde kullanılan 3 tip vardır; a-mod usg (amplitüde mode), real time b-mod usg (brightness mode) ve d-mod usg (doppler mode). B modu ultrason için A modu ultrasondan daha fazla klinik uygulama vardır. Ancak, B modu ultrasonlar A modu cihazlardan önemli ölçüde daha pahalıdır ve sonuçların yorumlanması daha fazla teknisyen becerisi, eğitim ve zaman gerektirir (Wagner ve ark., 2020). Doppler ultrason ile kalp atışı ve fetal sayı belirlenebilir. Bu açıdan diğerlerinden ayrılır (Ginther, 1995).

2.5.3. Dolaylı Tanı Yöntemi

2.5.3.1. Gebelik İlişkili Glikoprotein (PAG)

Gebelikle ilişkili proteinler (PAG), aspartik ailesinin inaktif proteinleri grubunda yer alır (Hughes ve ark., 2003). Plasentanın dış epitel tabakasında (koryon/trofektoderm) özel olarak ifade edilmeleriyle karakterizedir (Sousa ve ark., 2006). Çift tırnaklıların birçoğunun plasentasında 100 veya daha fazla PAG geninin olduğu tahmin edilmektedir (Xie ve ark., 1997). Yapılan bir çalışmada, PAG'ın plasentada ifade edilen proteinlerin geniş bir ailesini temsil ettiği gösterilmiştir (Green ve ark., 2000). Plasental dönemden başlayıp, doğum süresi boyunca devam eder (Hopper, 2021). PAG'ın gebelikte erken teşhis yöntemi olarak kullanılabileceği 1992 yılında tespit edilmiştir (Zoli ve ark., 1992). Gebelik şüphesiyle test yapılacak hayvanlardan alınan kan numunesi analizine göre glikoprotein seviyesi ölçülerek erken teşhis sağlanır. Ayrıca; bu test genellikle 26-30.günlerde kullanılır (Fricke ve ark., 2016).

2.5.3.2. Progesteron (P4)

P4, çoğunlukla üremenin denetlenmesi için kullanılmaktadır (Öcal, 2015). Ovulasyondan sonra 21. günden itibaren kandaki ve sütteki P4 seviyesi artar (Ball & Peters, 2008). Eğer tohumlamayı izleyen 20-24. günler arasında alınan numunede plazma P4 düzeyi 2 ng/ml'nin altındaysa inek kesinlikle gebe değildir (Kaymaz ve ark., 2015). Sütte P4 tayini için yapılan bir çalışmada, enzim immünolojik testinin (EIA) radyo immünolojik (RIA) ile kontrolü ile gebelik oranları %67,2 ile %87,5 gebe olmama oranı ise %95-%100 arasında doğrulukla sonuçlanmıştır. Ayrıca EIA'nın gebelik teşhisi, tohumlamadan veya aşımından 30-60 gün sonrasında rektal palpasyonla doğrulanmıştır (Chang & Estergreen, 1983). Başka bir çalışma sonunda gebe olmayan hayvanlarda %100, gebelerde ise %83,33 oranında doğrulukla sonuçlanmıştır (Alaçam ve ark., 1987).

2.5.3.3. Erken Gebelik Faktörü (EGF)

Erken Gebelik Faktörü (EGF); immün modülatör, büyüme düzenleyici ve gebeliğin oluşması için gerekli olup, ilk olarak farelerin çiftleşmesinden 4-6 saat sonra kan serumundan izole edilmiştir (Cavanagh, 1996). Fertilizasyonda 24 saat içinde şekillenir ve erken embriyonik ölüm ile gebeliğin sonlanmasından sonraki 24-48 saat içerisinde de kaybolur. EGF'nin varlığının tanımlanmasında RIT (Rozet İnhibisyon Testi) kullanılabilir. Fakat sahada kullanım zorluğunun yanında testin doğruluğu da düşüktür (Baştan ve ark., 2007).

2.5.3.4. Estron sülfat

Plasentadan üretilen majör plasental östrojendir. Gebeliğin 100. gününden sonra artış gösterip doğumdan sonra düşer (Hoffmann & Schuler, 2002). Kan plazmasında tespitinin yapılabilmesinin yanı sıra, ekonomiktir ve saha koşullarında kolayca uygulanabilir (Shah ve ark., 2006).

2.6. Adipoz Dokular ve Bu Dokulardan Salınan Hormonlar

Adipoz dokular, %95 yağ dokusundan oluşan, tek tip hücre adipozitleri içeren ve enerji metabolizmasında önemli roller üstlenen bağ dokusu tipidir. Karbohidrat ve proteinin depo edilmesi sınırlıdır. O yüzden enerji lipid damlacıkları şeklinde trigliserit olarak depolanır. Adipoz doku salgıladığı; enzim, sitokin, büyüme faktörü ve hormonlarla biyolojik fonksiyonlar ve özellikle enerji metabolizmasının düzenlenmesinde çok önemli bir yere sahiptir. Polipeptidik sitokinler ve hormon benzeri moleküller salgılama yeteneğine sahip hücrelerden oluşan organize bir endokrin dokudur. Adipoz doku adiposit olarak adlandırılan lipid dolu hücrelerin gevşek olarak bağlanmasıyla oluşmuştur. Sarı-beyaz adipoz doku (uniloculer) ve kahverengi adipoz doku (multiloküler) olmak üzere 2 tip adipoz doku bulunur (Kelesidis ve ark., 2006; Shabir ve ark., 2021).

Adipokin veya adipositokin (Yunanca: adipo, yağ; cyto, hücre ve kinos, hareket), yağ dokusundan salgılanan sitokinlerdir (Hücreler arası sinyal proteinleri). Adipoz dokudan salınan hormonlar; leptin, adiponektin, vasin ve asprosindir (Kiliaan ve ark., 2014).

2.6.1. Leptin

Leptin; adipositlerden salınan, 16 kDa ağırlığında olan bir polipeptittir (Fried ve ark., 2000). 1994 yılında *ob* geninin klonlanması sırasında keşfedilen doyma hormonudur. Esas salınım yeri beyaz yağ doku olmakla beraber; iskelet kası, plasenta, gastrik epitel, hipofiz ve meme bezinden de salgılanır. Başlıca özellikleri; doyumluk hissi, iştah, gıda alımı, üreme fonksiyonu, fertilité, puberta, aktivite, enerji harcanmasıdır. Fizyolojik diğer alanlarda da (reprodüktif sistem, anjiyogeneziz, hematopoetik, immün sistem, sempatik aktivasyon, beyin gelişimi, kemik metabolizması) etkili olduğu belirtilmektedir (Jardé ve ark., 2011; Koerner ve ark., 2005).

Doyumluk hissinin oluşumunda, hipotalamustan salınan transmitterler (neuropeptit Y ve Corticotropin-Releasing Hormon) yemek yemeyi uyarmakta, bunun sonucunda artan yağ dokusundan salınan leptin ise hipotalamustaki reseptörlere bağlanarak doyumluk hissinin meydana getirmekte ve böylece yemek yeme durdurulmaktadır (leptin-hipotalamus-adipozitekseni).

2.6.2. Adiponektin

Adiponektin; temel olarak visseral adipoz dokuda üretilen bir plazma proteindir. Dolaşımda en fazla miktarda bulunan adipoz doku proteindir. İnsülin duyarlılığını artıran, anti-aterojenik, anti-inflamatuar özelliklerinin yanında lipid ve glukoz metabolizması gibi enerji dengesinin merkezinde de rol oynamaktadır. Faydalı adipositokin olarak kabul edilir.

Plazma adiponektin konsantrasyonlarının; beden kitle indeksi (BMI), vücut yağ yüzdesi, leptin, açlık insülin konsantrasyonu ve plazma trigliserit düzeyi ile ters orantılı, plazma HDL düzeyi ile ise doğru orantılı olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

2.6.3. Vaspin (Serpın)

Vaspın (visseral adipoz doku-kökenli serin proteaz inhibitörü) 395 aminoasit içeren 2005 yılında keşfedilmiş serin proteaz inhibitör ailesinden olan bir adipositokindir. Vaspın, obezite ile ilişkili bir tip-2 diyabetik hayvan modeli olan Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) sıçanların visseral beyaz adipoz dokularında keşfedilmiştir. Vaspının yüksek yağ ve şekerli diyeti uygulanan obez farelere verilmesi ile glikoz toleransı ve insüline duyarlılığının arttığı gözlenmiştir. Ayrıca vaspının mezenterik ve derialtı beyaz adipoz dokularda leptin, resistin ve Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi inflamatuvar adipositokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiğinin gösterilmesi, vaspının anti-inflamatuvar bir rol üstlenebileceğini ortaya koymaktadır.

2.6.4. Asprosin

Adipokinler adipoz dokudan salgılanan biyoaktif maddeler olup iştah, enerji, lipid, karbonhidrat metabolizması, kan basıncının düzenlenmesi ve inflamasyon üzerinde çeşitli fonksiyonlara sahiptir. Bunlardan biri de 2016 yılında keşfedilen, fibrilin 1 (FBN1) geninin iki eksonu (ekson 65 ve ekson 66) tarafından kodlanan ve beyaz adipoz dokudan açlık durumunda salgılanan asprosin (Romere ve ark., 2016). Asprosinin, açlık durumunda artmasıyla kan-beyin bariyerini geçerek hipotalamik beslenme merkezini uyarıp iştahı artırdığı ve daha sonra beslenme ile tekrardan seviyesinin düştüğü bildirilmektedir (Duerschmid ve ark., 2017). Asprosin hormonunun olfaktör reseptör 734 (OLFR734) adı verilen bir koku reseptörüne bağlanarak Siklik adenozin monofosfat (cAMP) yolağını kullandığı, yapılan çalışmalar sonucu tespit edilmekle beraber,

OLFR734 aracılığıyla hepatik glikoz üretimini teşvik ederek, açlık ve obezite sırasında glikoz homeostazını korur (Li ve ark., 2019).

Asprosin, adipoz dokularda üretilen ve karaciğeri kan dolaşımına glikoz salması için uyarıcı protein yapısında bir hormondur. Asprosinin glikoz metabolizması üzerine direkt etki ettiği ve bu durumun mekanizmasının halen araştırma konusu olduğu ifade edilmektedir (Farrag ve ark., 2023; Keser & Ünüsan, 2021).

2.6.4.1. Asprosin ve Oksidatif Stres İlişkisi

Asprosin, adipoz dokulardan salınan hormonlar arasındadır (Keser & Ünüsan, 2021). Adipoz dokularda üretilen ve karaciğeri kan dolaşımına glikoz salması için uyarıcı protein yapısında bir hormon olarak tanımlanmaktadır (Romere ve ark., 2016). Adipoz dokuların metabolizmasının artması, oksidan madde olarak bilinen reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı ifade edilmektedir. Başka bir ifadeyle NEFA oksidasyonunun artışı ile karaciğerde oksijen radikallerinin üretiminin artması sonucu antioksidan madde kullanımında artış meydana gelmektedir. Eğer üretilen oksidan maddeler antioksidan maddelerin kapasitesini aşarsa, bu durum oksidatif stres ile sonuçlanmaktadır (Li ve ark., 2022; Song ve ark., 2014).

Bu durumda oksidan/antioksidan oranı, ineklerin doğum sonrasında metabolik sağlık durumunun değerlendirilmesinde oksidatif stres profillerinin önemini vurgulamaktadır (Yehia ve ark., 2021). Kısaca oksidatif stres, oksidan ve antioksidan düzeyinin dengesizliğinden kaynaklanır (Al-Gubory ve ark., 2010).

2.6.4.2. Oksidatif Stres ve Asprosin Düzeyinin Fertiliteye Olası Etkisi

Asprosin ve OLFR734 özellikle obez erkeklerde testosteronla doğrudan ilişkilidir (Li ve ark., 2018). Güncel araştırmalar asprosin ile fertilité arasındaki ilişkiye özellikle erkeklerde dikkat çekmektedir. Asprosinin sperm hareketliliğini artırarak yaşa ve obeziteye bağılı fertilité potansiyelindeki azalmayı iyileştirdiğı bildirilmektedir (Mazur-

Bialy, 2021). Ayrıca, başka bir çalışmada da erkek fertilitésine pozitif katkı sağladığı ve asprosin-OLFR734 sinyal ekseninin progresif motiliteyi teşvik ettiği ve erkek fertilitésini artırdığı tespit edilmiştir (Wei ve ark., 2019). Asprosin salınımının açlıktan kaynaklandığı ve besin tüketiminden sonra baskılandığı bilinmektedir. İnsülin direnci olgularının yüksek asprosin seviyeleri sergilediği ifade edilmiştir. İneklerde negatif enerji dengesinin oluşması sonucunda enerji metabolizmasındaki ve insülin salınımı fonksiyonundaki değişimlerin fertilité başarısını ciddi derecede olumsuz etkilediği bilinmektedir (Baruselli ve ark., 2016; Civiero ve ark., 2021).

Oksidatif stres durumunda hücrelerin DNA, lipid ve protein gibi makro moleküllerinde hasarlar oluşarak yapısal bozulmaların meydana geldiği rapor edilmiştir (Li ve ark., 2022; Rolo ve ark., 2012; Sordillo & Aitken, 2009). Özellikle gametler oksidatif hasara karşı hassas olmakla birlikte; oksidatif stres durumunda fertilizasyon oranının düştüğü, ovaryum aktivitelerinin bozulduğu, implantasyon sorunlarının ve embriyonik ölüm olgularının arttığı bilinmektedir. Bu nedenlerle ineklerde başarılı bir konsepsiyon ve devamlılığı için antioksidan düzeyinin yüksek, oksidan düzeyinin ise düşük olması gerektiği anlaşılmaktadır.

Oksidatif stresin çok sayıda hastalığın başlamasında veya ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı, özellikle doğumdan sonra Oksidatif stres düzeyinin arttığı ve Oksidatif stres riskini azaltmak için doğumdan 1 ay önce başlayarak laktasyonun zirvesine kadar antioksidan takviyesinin gerekli olabileceği doğrulanmıştır (Abuelo ve ark., 2013).

Yapılan literatür incelemelerinde asprosinin fertilizasyondaki rolünü tam olarak açıklayan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Asprosin düzeylerinin; insülin direnci, vücut kitle indeksi ve serbest androjen indeksi ile pozitif ilişkisi olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada da Simental ırkı ineklerde asprosin düzeyi ile fertilité ve oksidatif stres parametreleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

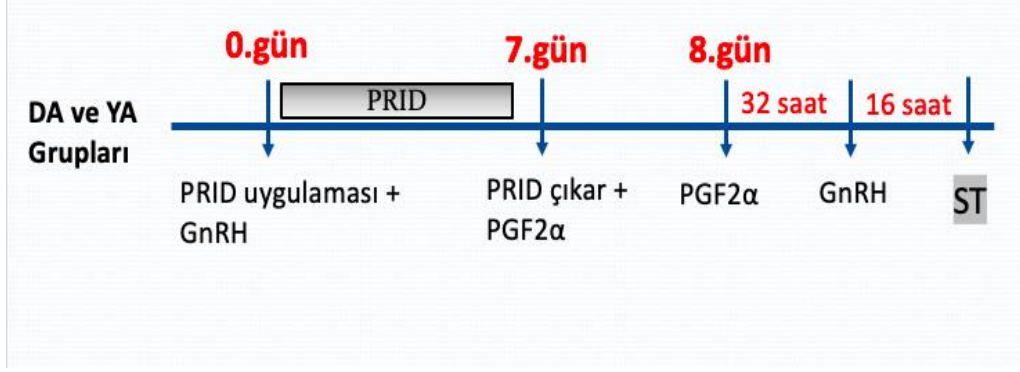
3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvanların Seçimi

Sunulan çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne bağlı profesyonel hayvancılık prosedürlerinin olduğu ve koruyucu hekimlik hizmetlerinin sunulduğu Atatürk Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Çiftliği'nde yürütüldü. Çalışmadaki hayvanlar fizyolojik ve bireysel ihtiyaçlarına göre beslenen, benzer yaş ve benzer laktasyon döneminde olan, herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan, serbest duraklı ahırlarda yetiştirilen, günde iki kez sağımlarının uygulandığı Simental ırkına ait inekler arasından seçildi. Çalışma toplamda 44 baş Simental ırkı multipar inek üzerinde yürütüldü. Çalışmaya dâhil edilen inekler önceki dönemde başarılı bir şekilde yardımsız doğum yapmış ve postpartum dönemde sağlıklı ovaryuma sahip involüsyon sürecini tamamlamış olan inekler arasından seçildi.

3.2. Yöntem ve Gruplandırma

Sunulan projede kullanılan toplam 44 inek, sürüden randomize gruplandırma yöntemi ile seçildikten sonra çalışmanın başlangıcında (0.gün) asprosin düzeyine göre düşük asprosin seviyesi (DA Grubu; n: 22) ve yüksek asprosin seviyesi (YA Grubu; n: 22) olarak iki gruba ayrıldı. Çalışmanın 0. günü ve 25±2. günde alınan kan örneklerinden asprosin seviyeleri ölçüldükten sonra en düşük 22 ölçüme sahip olan inekler istatistiksel ölçüm yöntemleriyle DA grubuna kaydedildi. Asprosin değeri her iki ölçümde de düşük ya da yüksek çıkan inekler çalışma gruplarına kaydedilmiştir. DA grubuna göre daha yüksek asprosin değerine sahip olan diğer 22 inek ise YA grubuna kaydedildi. DA ve YA grubundaki inekler östrus senkronizasyon programına tabi tutuldu (şekil 1) ve tohumlama günü çalışmanın 0. günü olarak kabul edildi.



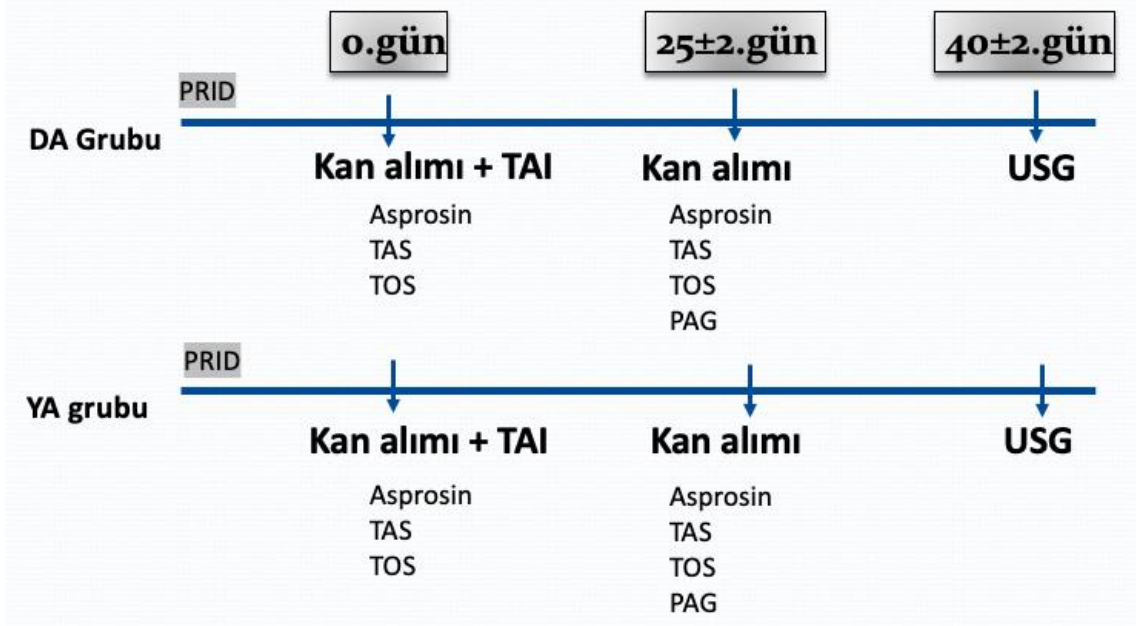
Şekil 3.1. Östrus senkronizasyonu uygulama şeması

3.3. Kan Alımı

Asprosin, PAG, total antioksidan seviyesi (TAS) ve total oksidan seviyesi (TOS) değerini belirlemek üzere iki gruptaki ineklerden çalışmanın 0. günü ve 25±2. günleri sabah yemlemesinden önce jugular venalarından antikoagülansız tüplere 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri laboratuvara sevk edilerek 1500xg devirde +4 °C’de 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve serum örnekleri çıkartıldı. Elde edilen serum örnekleri analiz gününe kadar -20°C’de depolandı.

3.4. Gebelik Muayeneleri

DA ve YA grubundaki inekler çalışmanın 25±2. günü alınan kan örneklerinden daha önce tanımlanan yöntemle göre PAG seviyesi ölçülerek gebelik teşhisi yapıldı (Fricke ve ark., 2016). Çalışmanın 40±2. gününde ise tüm inekler USG ile transrektal yoldan gebelik muayenesine tabi tutuldu (Şekil 2).



Şekil 3.2. Çalışma şeması DA: düşük asprosin seviyesi, YA: yüksek asprosin seviyesi

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS)

TAS seviyeleri ticari kitler (Relassay, Türkiye) kullanılarak ölçülmüştür. Bu otomatik yöntem, daha kararlı bir ABTS (2,2 '- Azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) radikal katyonunun karakteristik renginin antioksidanlar tarafından ağartılmasına dayanmaktadır. Test, %3'ten daha düşük olan mükemmel hassasiyet değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edilmiştir (Erel, 2004; Eşki ve ark., 2021).

3.5.2. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)

TOS seviyeleri ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür (Relassay, Türkiye). Bu yöntemde, numunede bulunan oksidanlar demir iyonu-o-dianisidin kompleksini ferrik iyona oksitlemiştir. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile güçlendirilmiştir. Ferrik iyon asidik bir ortamda ksilenol turuncusu ile renkli bir kompleks oluşturmuştur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarıyla ilişkilidir. Test,

hidrojen peroksit ile kalibre edilmiş ve sonuçlar $\mu\text{ol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L olarak ifade edilmiştir (Eşki ve ark., 2021).

3.5.3. PAG ve Asprosin Ölçümü

Kan örneklerinde PAG ve asprosin düzeyleri ticari kitler kullanılarak (BTLab, Çin) ile spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür.

3.6. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler *R* İstatistik Dili (sürüm 4.1.2; The *R* Foundation for Statistical Computing, Viyana, Avusturya; <https://www.r-project.org>) kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normalliğini kontrol etmek için Shapiro-Wilk testi ve Q-Q grafikleri kullanıldı. Varyansların homojenliğini değerlendirmek için Levene testi kullanıldı. Değişkenler ortalama \pm standart sapma, sayı (n) ve yüzde (%) olarak tanımlandı. Asprosin düzeyi düşük ve yüksek olan ineklere ilişkin oksidatif stres, PAG ve VKS bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı bağımsız örneklem t -testi; başlangıç ve 25. gün zamanlarına ilişkin oksidatif stres, PAG ve VKS bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olup olmadığı bağımlı örneklem t -testi ile değerlendirildi. Ayrıca asprosin düzeyi düşük ve yüksek olan ineklerin gebelik oranları Fisher'in kesin ki-kare testi ile kıyaslandı. Bunlarla birlikte, TOS düzeyinin asprosin düzeyi yüksek olan inekleri ayırmadaki performansı işlem karakteristik eğrisi (Receiver Operating Characteristic-ROC) yardımıyla araştırıldı. ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) %95 güven aralığı ile hesaplandı ve anlamlılığı değerlendirildi. TOS'un yüksek asprosin düzeyini ayırmadaki en uygun kesim noktası Youden indeks kriterine dayalı olarak belirlendi ve belirlenen bu kesim noktası için duyarlılık, özgüllük, negatif ve pozitif tahmin değerleri %95 güven aralıkları ile hesaplandı. Çift-yönlü hipotezlerin değerlendirilmesinde anlam seviyesi %5 alındı.

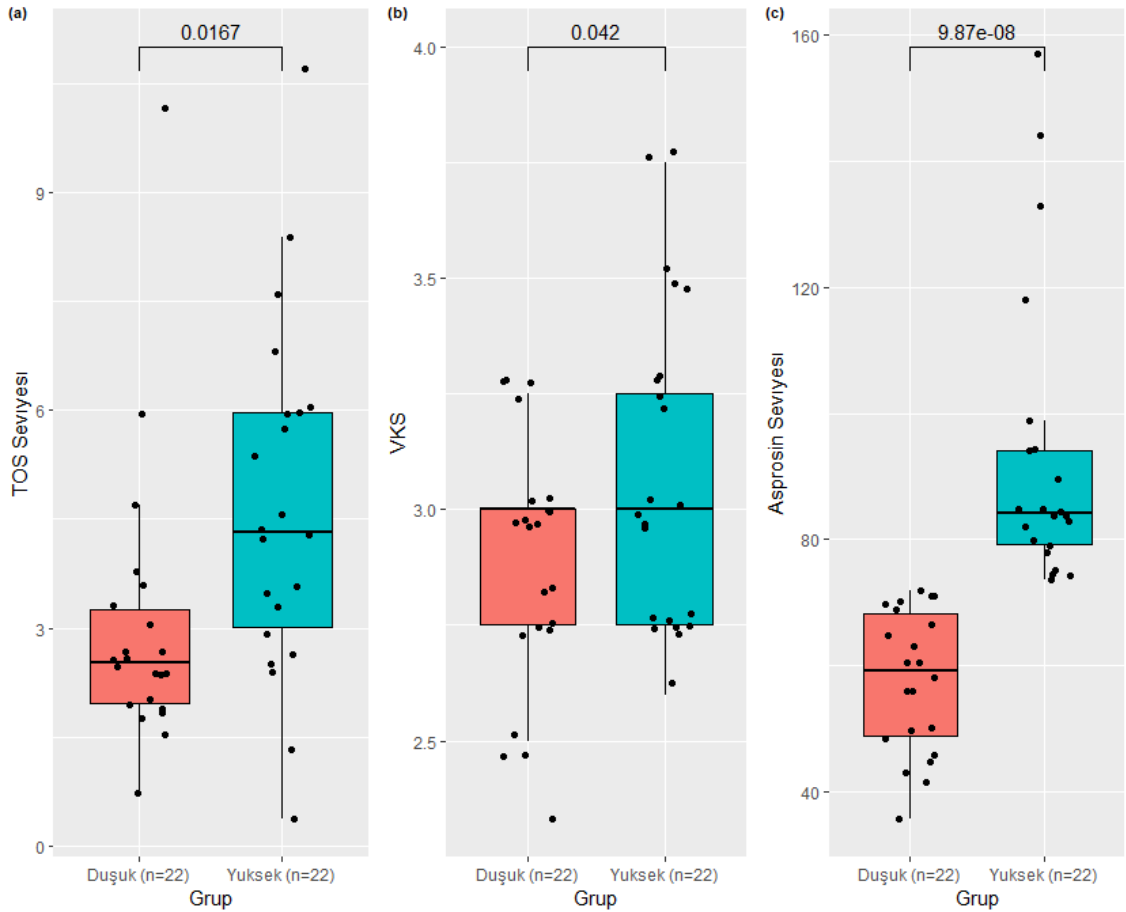
4. BULGULAR

Elde edilen bulgulara göre, ineklerin başlangıç ve 25. gün TAS düzeyleri DA ve YA gruplarında benzerdi ($p>.05$). Ayrıca DA grubundaki ineklerin başlangıç ve 25. gün TAS düzeyleri benzerken ($p=.797$), YA grubundaki ineklerin 25. Gün TAS seviyesi başlangıç TAS ölçüm seviyesine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksekti (0.83 ± 0.13 vs. 0.73 ± 0.09 , $p=.007$). Oksidatif stres bulgularından TOS düzeyi incelendiğinde, 25. gün TOS düzeyi DA ve YA gruplarında benzerken, başlangıç TOS düzeyi YA grubundaki ineklerde daha yüksekti (4.66 ± 2.41 vs. 3.01 ± 1.95 , $p=.017$). Ayrıca YA grubundaki ineklerin başlangıç ve 25. gün TOS düzeyleri benzerken ($p=.099$), DA grubundaki ineklerin 25. gün TOS düzeyi, başlangıç TOS ölçüm düzeyinden anlamlı şekilde yüksekti (4.58 ± 2.89 vs. 3.01 ± 1.95 , $p=.028$). YA grubundaki ineklerin Vücut Kondisyon Skoru (VKS) DA grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksekti (3.08 ± 0.35 vs. 2.89 ± 0.26 , $p=.042$). Ayrıca YA grubundaki ineklerin başlangıç Asprosin düzeyi DA grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksekti (93.17 ± 23.43 vs. 57.62 ± 11.20 , $p<.001$). 25. gün PAG düzeyi, *muskulus longissimus thoracis* kalınlığı ve gebelik oranları bakımından ise DA ve YA grupları arasında bir farklılık tespit edilmedi. ($P>.05$) (Şekil 3). İneklerde Asprosin düzeyi ile fertilité ve oksidatif stres düzeylerinin karşılaştırılması Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Düşük ve yüksek asprosin düzeylerine sahip ineklerde fertilité ve oksidatif stres düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar			
	DA	YA	P-değeri
TAS (mmol/L) 0. gün	0.78 ± 0.23	0.73 ± 0.09	.340 ¹
TAS (mmol/L) 25. gün	0.77 ± 0.14	0.83 ± 0.13	.122 ¹
P-değeri	.797 ²	.007 ²	
TOS (µmol/L) 0. gün	3.01 ± 1.95	4.66 ± 2.41	.017 ¹
TOS (µmol/L) 25.gün	4.58 ± 2.89	5.61 ± 2.63	.226 ¹
P-değeri	.028 ²	.099 ²	
PAG (ng/L) 25. gün	6.39 ± 2.99	5.94 ± 2.33	.581 ¹
Gebelik %	82	77	>.999 ³
Muskulus longissimus thoracis 0. gün	31.46 ± 5.98	30.80 ± 6.33	.724 ¹
VKS 0. gün	2.89 ± 0.26	3.08 ± 0.35	.042 ¹
Asprosin (ng/ml) 0. gün	57.62 ± 11.20	93.17 ± 23.43	<.001 ¹
Asprosin (ng/ml) 25. gün	66.84 ± 30.03	62.45 ± 24.61	.598 ¹

¹ Bağımsız örneklem *t*-testi; ² Bağımlı örneklem *t*-testi; ³ Fisher'in kesin ki-kare testi
Veriler ortalama ± standart sapma veya yüzdelik (%) olarak sunuldu.
İstatistiksel anlamlı farklılık bulunan sonuçlar koyu olarak belirtilmiştir.

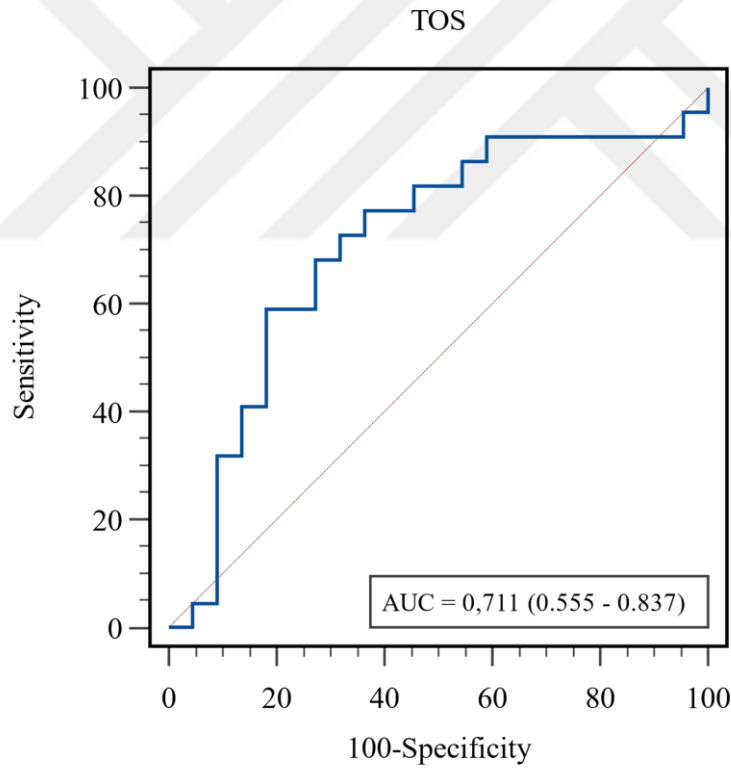


Şekil 4.3. YA ve DA grubundaki ineklerin TOS, VKS ve asprosin seviyelerinin karşılaştırılması

TOS düzeyinin YA grubundaki asprosin düzeyi yüksek olan inekleri ayırmadaki performansı Tablo 1’de verilmiştir. ROC analizi sonuçları, TOS’un asprosin düzeyi yüksek olan inekleri düşüklerden ayırmada istatistiksel olarak anlamlı belirteç olduğunu gösterdi (AUC=0.711, %95 güven aralığı, 0.555 – 0.837, $p=.010$). Youden indeksine göre en uygun kesim noktası TOS için 2.67 olarak belirlendi. Bu kesim noktasına göre TOS’un asprosin düzeyi yüksek olan inekleri belirlemedeki duyarlılığı %77.2 (%95 güven aralığı, %54.6 – %92.2) iken seçiciliği %63.6 (%95 güven aralığı, %40.7 – %82.8)’dir. TOS belirteci için pozitif tahmin değeri %68 (%95 güven aralığı, 53.9 – 79.4) ve negatif tahmin değeri %73.7 (%95 güven aralığı, %54.9 – %86.6) olarak hesaplandı (Şekil 4).

Tablo 4.2. TOS düzeyin asprosin düzeyi yüksek olan inekleri ayırmadaki performansı

TOS	
ROC Analizi	
AUC (%95 Güven Aralığı)	0.711 (0.555 – 0.837)
P-değeri	.010
Kesim Noktası	>2.67
İstatistiksel tanı ölçüleri	
Duyarlılık	77.2 (54.6 – 92.2)
Seçicilik	63.6 (40.7 – 82.8)
Pozitif Tahmin Değeri	68 (53.9 – 79.4)
Negatif Tahmin Değeri	73.7 (54.9 – 86.6)



Şekil 4.4. TOS'un yüksek ve düşük asprosin düzeyine sahip inekleri ayırmadaki ROC Eğrisi

5. TARTIŞMA

İneklerde asprosin düzeyinin enerji metabolizması ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle sunulan çalışmada asprosin düzeyinin oksidatif stres ve fertilité başarısına etki edebileceği hipotezlenmiştir. Bu varsayımı açıklayabilmek için yüksek ve düşük asprosin seviyelerine sahip olan iki inek grubu oluşturuldu. Bu ineklerden varsayılan gebeliğin 0. günü ve 25. günü kan alınarak asprosin değeri ile oksidatif stres ve fertilité parametreleri arasındaki ilişki ortaya koyulmaya çalışıldı. Bununla birlikte asprosin düzeyinin yüksek ve düşük olduğu inekleri çalışmadaki diğer parametrelere bakarak ayırmadaki rolü ROC analizi ile değerlendirildi. Sunulan çalışmanın ROC analizi sonuçları, çalışma parametrelerinden TOS'un asprosin düzeyi yüksek olan inekleri düşüklerden ayırmada etkin belirteç olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuca göre TOS değerinin asprosin seviyesi ile korelasyon içerisinde olduğu ve bu değerlerin asprosin seviyesinin belirlenmesinde indirekt bir tahmin aracı olarak kullanılabileceği öngörülmektedir.

Asprosin, beyaz yağ dokularından sentezlenen, glikoz homeostazisini ve açlığı düzenleyen protein yapısında bir hormon olarak bilinmektedir. Bu nedenle enerji metabolizmasının bir belirteci olarak düşünölmektedir (Yenilmez ve ark., 2024). Negatif enerji dengesinde olan ineklerde beyaz yağ dokularının mobilizasyonu sonucu enerji üretiminde kullanıldığı rapor edilmektedir. Postpartum süreçte ineklerin genellikle negatif enerji dengesini deneyim ettikleri bilinmektedir. Negatif enerji dengesinde olan ineklerde plazma insülin ve glikoz düzeyleri azalmakta olup bu durumu takiben belirli mekanizmalarla deri altı yağ dokusu mobilizasyonunun artması ve lipogenez azalması tetiklenmiş olur (Bauman & Currie, 1980). Açlık durumunda ise yağ doku tarafından asprosin salınımının indüklendiği rapor edilmiştir (Romere ve ark., 2016). Yukarıda ifade edilen literatür bilgilere dayanarak asprosin düzeyinin negatif enerji dengesinin bir

yansıması olarak diğerk bir ifade ile enerji statüsünün bir belirteci olarak düşünölebileceği öngörölmektedir. İneklerde enerji durumundaki farklılıkların oksidatif stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Öte yandan hem enerji düzeyi hem de oksidatif stres ineklerde fertilitte başarısına etki eden önemli etmenlerden biri olarak bilinmektedir (Li ve ark., 2022; Pedernera ve ark., 2010; Sordillo & Aitken, 2009). Bu nedenlerle ineklerde asprosin konsantrasyonundaki farklılıkların oksidatif stres ve fertilitte başarılarına etki edebileceği öngörölmektedir. Yukarıdaki literatür bilgileri göz önünde bulundurulduğunda sunulan çalışmada gruplar arasında enerji dengesinin bir belirteci olan VKS skorunda farklılıkların olması beklenmektedir. Elde edilen bulgular incelendiğinde VKS değeri DA grubuna göre YA grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu görölmektedir. Bu durumun nedeninin DA grubuna göre YA grubunda enerji metabolizmasının ve adipoz doku lipolizisinin daha fazla olduğu düşünölmektedir. Benzer bir ifade ile YA grubundaki ineklerde enerji ihtiyacına bağlı olarak yağ doku lipolizisinin daha fazla olduğu düşünölmektedir. Bunun nedenlerinden birinin gruplar arasında verim farklılıklarının ve buna bağlı lipolizis mekanizmasının daha hızlı olabileceği düşünöldü. Ancak sunulan çalışmada gruplar arası verim farkı değerlendirilmedi. Ek olarak *muskulus longissimus thoracis* kalınlığı ölçümü yapılmış olup asprosin düzeyi ile *muskulus longissimus thoracis* kalınlığı arasında bir ilişki bulunamamıştır. Böylece, *muskulus longissimus thoracis* kalınlığının ineklerin vücut kitle indeksi hakkında fikir verebilmesine karşılık sunulan çalışmada asprosin düzeyine etki etmediği sonucuna varılmıştır.

Son çalışmalarda asprosinin oksidatif stresle ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Wang ve ark., 2024; Zheng ve ark., 2024). Önceki bir raporda asprosinin lipit metabolizmasını bozduğu ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) salınımını artırdığı bildirilmiştir (Wang ve ark., 2024). Asprosin düzeyi ile oksidatif stres arasındaki ilişkinin

gruplar arasındaki enerji gereksinimi ya da enerji dengesi farkı ile oluşabileceği düşünülmektedir. Benzer olarak, önceki bir çalışmada enerji dengesinin ineklerde oksidatif stres ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Pedernera ve ark., 2010). Enerji talebi karşılanamayan ineklerde vücut depo yağları enerji üretiminde kullanılmaktadır. Bu durumda metabolizmanın doğal yan ürünleri olan ROS artışları meydana gelmektedir (Abuelo ve ark., 2015; Puppel ve ark., 2015). Sonuç olarak vücutta antioksidan seviyesi yetersiz ise oksidatif stres oluşmaktadır (Ayemele ve ark., 2021). Yukarıdaki literatür bilgileri doğrultusunda bu çalışmada YA ve DA grupları arasında oksidatif stres parametrelerinin farklı olması beklenmektedir. Öncelikle hem YA hem de DA grubunda çalışmanın başlangıcı ve 25. günlerdeki ölçümlerde TAS bakımından gruplar arası bir farklılık bulunamadı. Bu durum asprosin seviyesinin TAS düzeyine etki etmediği şeklinde yorumlanabilir. Öte yandan grup içi başlangıç ve 25. gün TAS seviyeleri incelendiğinde DA grubunda bir farklılık olmamasına karşılık YA grubunda 25. gün TAS değerinin başlangıç değerine göre arttığı görülmüştür. Sunulan çalışmada gruplar arası benzer uygulamalar yapıldığından bu durumun nedeni rasyona ya da paranteral yolla eksojen antioksidan takviyesi gibi uygulamalardan kaynaklı olduğu düşünülemez. Ancak, YA grubunun TAS değerinin zaman içerisinde artışının iki farklı hipotezle açıklanabileceği düşünülmektedir. İlk olarak, YA grubunda artan lipolizis sonucu oksidan maddelerin üretiminin arttığı ve bunu kompanse edebilmek için vücutta endojen antioksidan üretiminin artmış olabileceği varsayılmaktadır. Endojen antioksidanların vücut tarafından üretildiği ve oksidatif stres durumunda endojen antioksidan savunma sisteminin güçlendiği bilinmektedir (Forman & Zhang, 2021; Ponnampalam ve ark., 2022). Diğer varsayım ise, bu durumun TOS değeri ile ilişkili olabileceği yönündeydi. Dahası DA grubunda başlangıç ölçümünden 25. gün ölçümüne kadarki süreçte TOS düzeyinin keskin bir artış göstermesi bu grupta TAS düzeyinin yoğun şekilde artan TOS'ları

nötralize etmede kullanılmış olduğunu ön plana çıkarmaktadır. Önceki çalışmalarda da benzer olarak antioksidan seviyesinin oksidan maddeleri nötralize etmek için kullanıldığı bu amaçla onları ya onararak ya da indirgeyerek vücut için zararsız hale getirdiği rapor edilmektedir (Ayemele ve ark., 2021; Sordillo & Aitken, 2009). Sunulan çalışmada gruplar arası TOS değişimine bakıldığında çalışmanın başında YA grubundaki ineklerin TOS bulguları DA grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edildi. Bu durum yüksek asprosin seviyesinin ineklerde TOS değerini artırabileceği yönünde yorumlanmıştır. Benzer bir ifade ile önceki bir raporda TOS değeri ile asprosin arasında bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Alsajri, 2022). Öte yandan yüksek asprosin değerine sahip olan ineklerin oksidatif strese maruz kalabileceği düşünülmektedir. Bu alanda sınırlı çalışma olmasına rağmen önceki çalışmalardan elde edilen bilgiler incelendiğinde artmış asprosin değerinin oksidatif stresle ilişkili olabileceği belirtilmektedir (Rangraz Tabatabaei ve ark., 2023). Asprosinin insülin direnci olanlarda arttığı bilindiğinden bu yönüyle de oksidatif stresle ilişkilendirmek mümkün olacaktır (Feng ve ark., 2018). Bu durumu destekler nitelikte daha önceki raporlarda insülin direncinin ineklerde oksidatif stresle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Abuelo ve ark., 2016; Wu ve ark., 2020). Çalışmanın 25. gününde TOS değeri bakımından ise DA ve YA grupları arasında önemli bir farklılık bulunmadı. Asprosin değişiminin enerji talebinden kaynaklı olduğu varsayıldığında (Romere ve ark., 2016) bu durumun çalışmanın başından 25. gününe kadar iki farklı gruptaki ineklerin enerji statülerinin eşitlenmiş olabileceği ve buna bağlı lipoliz kaynaklı TOS üretiminin benzer düzeye ulaşmış olabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte YA grubunda bulunan ineklerin TOS değerleri iki ölçüm arasında değişmedi. Bu sonucun YA grubunun TAS değeri ile ilişkili olabileceği çalışmanın başlangıcına göre 25. günlük ölçümde artmış olan TAS değerinin mevcut üretilen oksidan maddeleri nötralize ederek TOS artışını engellediği düşünülmektedir. DA grubunda ise

TOS seviyesi başlangıç ölçümüne göre 25. gündeki ölçümde önemli oranda yüksek bulundu. Bu sonuç net bir ifade ile yorumlanamamaktadır. Ancak DA grubundaki TAS seviyesinin iki ölçüm arasında değişmeden kalması mevcut TOS üretiminin antioksidan ağı tarafından etkin bir şekilde nötralize edilemeden birikmesine yol açmış olabileceği şeklinde ifade edilebilir. Bu varsayımı destekler nitelikte önceki birçok araştırmada antioksidanların oksidan maddeleri nötralize etmek için kullanıldığı rapor edilmektedir (Abuelo ve ark., 2015; Ayemele ve ark., 2021; Ponnampalam ve ark., 2022; Sordillo & Aitken, 2009).

Sunulan çalışma fertilité parametreleri bakımından ele alındığında DA ve YA grubunun 25. gün PAG seviyesi ölçümü ile elde edilen gebelik bulgularında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Ancak gruplar arası gebelik sayılarına bakıldığında YA grubuna göre DA grubunda gebelik oranının sayısal olarak daha fazla olduğu görüldü. İstatistiksel bir fark olmadığından bu durum asprosin seviyesi ile ilişkilendirilememektedir. Ancak önceki araştırmalarda asprosin düzeyi ile ovaryum steroidogenezisi mekanizması, folikül gelişimi ve polikistik ovaryum sendromu gibi fertilitéye etki edebilecek birçok parametrenin ilişkili olduğu ifade edilmiştir (Batalha, 2020; Batalha ve ark., 2023). Sunulan çalışmada ise fertilité parametresi olarak gebelik oranı dışında başka bir değerlendirme yapılmamıştır. Bu bağlamda asprosinin fertilitéye etkisini tam anlamıyla değerlendirebilmek için yukarıdaki literatür bilgilere ek olarak siklik aktiviteler, ovaryum sağlığı, erken ve geç embriyonik ölüm gibi parametrelerin de değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Çalışmada ineklerin gebelik teşhisleri olası gebeliğin 25. günü PAG ölçümü ile yapılmıştır. Bu yöntemin güvenilir ve doğru olduğu daha önceki araştırmalara bakılarak belirlendi (Barbato ve ark., 2022; Commun ve ark., 2016). Bununla birlikte asprosinin PAG değeri üzerine doğrudan ilişkisinden bahsedilemese de oksidatif strese bağlı

etkisinden dolayı asprosin düzeyinin PAG seviyesini etkileyebileceği düşünölmektedir (Ayad ve ark., 2020; Merlob ve ark., 2008). Ancak ifade edilen çalışmada gruplar arası PAG değeri kıyaslandığında 25. gün ölçümlerde DA ve YA grupları arasında bu değerin benzer olduğu tespit edildi. Bu durumun bir varsayımla açıklanmasının bu alanda yapılacak detaylı araştırmalardan sonra yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak ineklerde asprosin seviyesi oksidatif stres parametrelerini etkilemektedir. Asprosinin antioksidan üzerine direk etkisi net olarak ifade edilememektedir. Ancak TOS üzerine etkisinin daha belirgin olduğu görüldü. Bu durum ROC analizi ile değerlendirildiğinde TOS ile asprosin arasında güçlü bir korelasyon olduğu ve yüksek asprosin değerine sahip olan ineklerin oksidatif strese maruz kalabileceği sonucuna varıldı. Bununla birlikte asprosin seviyesinin PAG ve gebelik parametrelerine bir etkisi olmadı. Bu konunun gelecek çalışmalarda daha detaylı çalışılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca ileriki çalışmalarda asprosin değeri ile ovaryum sağlığı, siklik aktivite ve embriyonik ölümler arasındaki ilişkiler araştırılmalıdır. Bu amaçla daha geniş inek gruplarının kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2013). Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period. *Animal*, 7(8), 1374-1378.
- Abuelo, A., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2015). The importance of the oxidative status of dairy cattle in the periparturient period: revisiting antioxidant supplementation. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 99(6), 1003-1016.
- Abuelo, Á., Hernández, J., Benedito, J. L., & Castillo, C. (2016). Association of oxidative status and insulin sensitivity in periparturient dairy cattle: an observational study. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 100(2), 279-286.
- Akman, N. (1997). Hayvan Islahı. *Hayvan Yetiştirme (Yetiştiricilik)*.(Editör: M. Ertuğrul), Baran Ofset, Ankara. S, 35-79.
- Aksoy, A., & Yavuz, F. (2012). Büyükbaş hayvan üreticilerinin suni tohumlama yaptırma kararlarını belirleyiciler üzerine bir analiz: doğu anadolu bölgesi örneği. *Atatürk Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi*, 25.
- Aktaş, G., Şit, M., & Tekçe, H. (2013). Yeni adipokinler: Leptin, adiponektin ve omentin. *Abant Medical Journal*, 2(1), 56-62.
- Al-Gubory, K. H., Fowler, P. A., & Garrel, C. (2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 42(10), 1634-1650.
- Alaçam, E. (1997). Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. *Medisan Yayınları*, Ankara.
- Alaçam, E., Tekeli, T., & Türkarlan, T. (1987). Early pregnancy diagnosing in cows by rapid enzyme immunoassay kit. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27(1), 12-18.

- Alsajri, A. (2022). Exploration of the relationship between asprosin with oxidative stress index in obese Iraqi patients. *Cankiri Karatekin university*.
- Ayad, A., Yuvaraju, P., Beegam, S., & Nemmar, A. (2020). Relationship between oxidative stress status and glycoprotein-associated pregnancy concentrations during the early pregnancy period in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary Research*, 4(1), 1-8.
- Aydemir, Ş. (2021). Siğirlarda Korpus Luteum Ve Graff Folikülünün Hücresel Yapisi Ve İşlevleri. *Tarım ve Hayvancılık Üzerine Bilimsel Çalışmalar*, 149.
- Ayemele, A. G., Tilahun, M., Lingling, S., Elsaadawy, S. A., Guo, Z., Zhao, G., Xu, J., & Bu, D. (2021). Oxidative stress in dairy cows: insights into the mechanistic mode of actions and mitigating strategies. *Antioxidants*, 10(12), 1918.
- Balhara, A. K., Gupta, M., Singh, S., Mohanty, A. K., & Singh, I. (2013). Early pregnancy diagnosis in bovines: current status and future directions. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 958540.
- Ball, P. J., & Peters, A. R. (2008). *Reproduction in cattle*. John Wiley & Sons.
- Barbato, O., Menchetti, L., Brecchia, G., & Barile, V. L. (2022). Using Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAGs) to improve reproductive management: From dairy cows to other dairy livestock. *Animals*, 12(16), 2033.
- Baruselli, P. S., Vieira, L. M., Sá Filho, M. F. d., Mingoti, R. D., Ferreira, R. M., Chiaratti, M. R., Oliveira, L., Sales, J., & Sartori, R. (2016). Associations of insulin resistance later in lactation on fertility of dairy cows. *Theriogenology*, 86(1), 263-269.
- Baştan, A., Özenç, E., Macun, H. C., Acar, D. B., & Güngör, Ö. (2007). Use of early conception factor test for determining pregnancy and embryonic mortality status of dairy cows. *Medycyna Weterynaryjna*, 63(6), 670-673.

- Batalha, I. M. (2020). *Effects of asprosin on steroidogeneses of bovine granulosa cells* [University of Nevada, Reno].
- Batalha, I. M., Maylem, E. R. S., Spicer, L. J., Bello, C. A. P., Archilia, E. C., & Schütz, L. F. (2023). Effects of asprosin on estradiol and progesterone secretion and proliferation of bovine granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 565, 111890.
- Bauman, D. E., & Currie, W. B. (1980). Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*, 63(9), 1514-1529.
- Biase, F. H., Hue, I., Dickinson, S. E., Jaffrezic, F., Laloe, D., Lewin, H. A., & Sandra, O. (2019). Fine-tuned adaptation of embryo–endometrium pairs at implantation revealed by transcriptome analyses in *Bos taurus*. *PLoS Biology*, 17(4), e3000046.
- Bisinotto, R., Lean, I., Thatcher, W., & Santos, J. (2015). Meta-analysis of progesterone supplementation during timed artificial insemination programs in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2472-2487.
- Bó, G. A., & Baruselli, P. S. (2014). Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*, 8(s1), 144-150.
- Buczinski, S., & O'Connor, A. M. (2016). Specific challenges in conducting and reporting studies on the diagnostic accuracy of ultrasonography in bovine medicine. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 32(1), 1-18.
- Bühler, S., Frahm, J., Tienken, R., Kersten, S., Meyer, U., Huber, K., & Dänicke, S. (2018). Effects of energy supply and nicotinic acid supplementation on serum anti-oxidative capacity and on expression of oxidative stress-related genes in blood leucocytes of periparturient primi-and pluriparous dairy cows. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(1), e87-e98.

- Bülbül, B., & Ataman, M. B. (2005). İneklerde östrus senkronizasyonu. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 21(3-4), 23-32
- Bülbül, B., Kırbaş, M., Köse, M., Dursun, Ş., & Çolak, M. (2009). İneklerde Östrus Siklusunun Farklı Dönemlerinde Başlatılan Ovsynch Protokolünün Östrus Senkronizasyonuna Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 35(1), 7-17.
- Cavanagh, A. C. (1996). Identification of early pregnancy factor as chaperonin 10: implications for understanding its role. *Reviews of reproduction*, 1(1), 28-32.
- Cengiz, M., & Tohumcu, V. (2021). Sütçü ineklerde östrus siklusunun, foliküler gelişimin ve ovulasyonun hormonal kontrolü. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, 12(3), 168-180.
- Chang, C., & Estergreen, V. (1983). Development of a direct enzyme immunoassay of milk progesterone and its application to pregnancy diagnosis in cows. *Steroids*, 41(2), 173-195.
- Civiero, M., Cabezas-Garcia, E., Ribeiro-Filho, H., Gordon, A. W., & Ferris, C. P. (2021). Relationships between energy balance during early lactation and cow performance, blood metabolites, and fertility: a meta-analysis of individual cow data. *Journal of Dairy Science*, 104(6), 7233-7251.
- Commun, L., Velek, K., Barbry, J.-B., Pun, S., Rice, A., Mestek, A., Egli, C., & Leterme, S. (2016). Detection of pregnancy-associated glycoproteins in milk and blood as a test for early pregnancy in dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(3), 207-213.
- Çenet, Z., & Korkmaz, Ö. (2020). Şanlıurfa İlinde Isı Stresindeki İneklerde Bazı Ovulasyon Senkronizasyon Yöntemlerinin Gebelik Oranlarına Etkisi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(1), 59-63.

- Çiplak, A. (2024). İneklerde Gebelik Tanı Yöntemleri. *Journal of Animal Science and Economics*, 3(1).
- Demirci, E. (2002). Evcil hayvanlarda reproduksiyon, suni tohumlama ve androloji ders notları. *FÜ Vet Fak Ders Teksiri*,(53).
- Demirci, Ş., & Gün, C. (2019). Adipoz doku ve adipoz dokudan salgılanan bazı proteinler. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 5(2), 155-179.
- Deutscher, G. H. (1980). G80-537 Reproductive trace anatomy and physiology of the cow.
- Duerrschmid, C., He, Y., Wang, C., Li, C., Bournat, J. C., Romere, C., Saha, P. K., Lee, M. E., Phillips, K. J., & Jain, M. (2017). Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature medicine*, 23(12), 1444-1453.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
- Eşki, F., Kurt, S., & Demir, P. A. (2021). Effect of different estrus synchronization protocols on estrus and pregnancy rates, oxidative stress and some biochemical parameters in Hair goats. *Small Ruminant Research*, 198, 106348.
- Farrag, M., Ait Eldjoudi, D., González-Rodríguez, M., Cordero-Barreal, A., Ruiz-Fernández, C., Capuozzo, M., Gonzalez-Gay, M. A., Mera, A., Lago, F., & Soffar, A. (2023). Asprosin in health and disease, a new glucose sensor with central and peripheral metabolic effects. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 1101091.
- Feng, J., Yang, Y., Yang, Y., & Pei, H. (2018). GW29-e0080 The protective role of Asprosin against diabetes in cardiomyocytes. *Journal of the American College of Cardiology*, 72(16S), C2-C2.

- Fetrow, J., Stewart, S., Eicker, S., & Rapnicki, P. (2007). Reproductive health programs for dairy herds: analysis of records for assessment of reproductive performance. *Current therapy in large animal theriogenology*, 473-489.
- Forman, H. J., & Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(9), 689-709.
- Fricke, P. M., Ricci, A., Giordano, J. O., & Carvalho, P. D. (2016). Methods for and implementation of pregnancy diagnosis in dairy cows. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 32(1), 165-180.
- Fried, S. K., Ricci, M. R., Russell, C. D., & Laferrère, B. (2000). Regulation of leptin production in humans. *The Journal of nutrition*, 130(12), 3127S-3131S.
- Ginther, O. (1995). Ultrasonic imaging and animal reproduction. (*No Title*).
- Gordon, I. (1996). *Controlled reproduction in cattle and buffaloes*.
- Green, J. A., Xie, S., Quan, X., Bao, B., Gan, X., Mathialagan, N., Beckers, J.-F., & Roberts, R. M. (2000). Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biology of reproduction*, 62(6), 1624-1631.
- Hanzen, C., & Delsaux, B. (1987). Use of transrectal B-mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. *The Veterinary Record*, 121(9), 200-202.
- Hoffmann, B., & Schuler, G. (2002). The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. *Domestic Animal Endocrinology*, 23(1-2), 309-320.
- Hopper, R. M. (2021). Surgery to Restore Fertility. *Bovine Reproduction*, 655-663.

- Hughes, A. L., Green, J. A., Piontkivska, H., & Roberts, R. M. (2003). Aspartic proteinase phylogeny and the origin of pregnancy-associated glycoproteins. *Molecular biology and evolution*, 20(11), 1940-1945.
- Jackson, P. (2002). Clinical examination of farm animals. In: Blackwell science ltd.
- Jardé, T., Perrier, S., Vasson, M.-P., & Caldefie-Chézet, F. (2011). Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European journal of cancer*, 47(1), 33-43.
- Karakaş, V. (2017). Bazı süt ve üreme özellikleri ile ilişkilendirilmiş belirli SNPLerin iki farklı sığır ırkı için değerlendirilmesi.
- Kaymaz, M., Fındık, M., Rişvanlı, A., & Köker, A. (2015). *Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji*. Türk Veteriner Jinekoloji Derneği.
- Kelesidis, I., Kelesidis, T., & Mantzoros, C. (2006). Adiponectin and cancer: a systematic review. *British journal of cancer*, 94(9), 1221-1225.
- Keser, M. G., & Ünüsan, N. (2021). Asprosin ve Glikoz Metabolizması Üzerine Etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi*, 5(1), 89-95.
- Kiliaan, A. J., Arnoldussen, I. A., & Gustafson, D. R. (2014). Adipokines: a link between obesity and dementia? *The Lancet Neurology*, 13(9), 913-923.
- Koerner, A., Kratzsch, J., & Kiess, W. (2005). Adipocytokines: leptin—the classical, resistin—the controversial, adiponectin—the promising, and more to come. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*, 19(4), 525-546.
- Li, C., Huang, J., Chen, X., Yan, Y., Li, L., & Zhao, W. (2022). Transcriptome analysis reveals that NEFA and β -hydroxybutyrate induce oxidative stress and inflammatory response in bovine mammary epithelial cells. *Metabolites*, 12(11), 1060.

- Li, E., Shan, H., Chen, L., Long, A., Zhang, Y., Liu, Y., Jia, L., Wei, F., Han, J., & Li, T. (2019). OLF734 mediates glucose metabolism as a receptor of asprosin. *Cell metabolism*, 30(2), 319-328. e318.
- Li, X., Liao, M., Shen, R., Zhang, L., Hu, H., Wu, J., Wang, X., Qu, H., Guo, S., & Long, M. (2018). Plasma asprosin levels are associated with glucose metabolism, lipid, and sex hormone profiles in females with metabolic-related diseases. *Mediators of inflammation*, 2018(1), 7375294.
- Mazur-Bialy, A. I. (2021). Asprosin—a fasting-induced, glucogenic, and orexigenic adipokine as a new promising player. Will it be a new factor in the treatment of obesity, diabetes, or infertility? A review of the literature. *Nutrients*, 13(2), 620.
- Merlob, M., Celia, P., Barbatoc, O., & Gabaib, G. (2008). Relationships between Oxidative Status and Pregnancy Outcome in Dairy Cows. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*
- Noakes, D., Parkinson, T., & England, G. (2019). *Veterinary reproduction and obstetrics*.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., & England, G. C. (2018). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics-E-Book: Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Oldenbroek, K., van der Waaij, L., & Yertürk, M. d. (2022). *Hayvan Islahı ve Genetik*. Wageningen University & Research.
- Orsini, J. A., Grenager, N. S., & De Lahunta, A. (2021). *Comparative veterinary anatomy: a clinical approach*. Academic Press.
- Öcal, H. (2015). Progesteron, Progestinler ve Antiprogestinler. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 1(2), 60-86.
- Özkan, U., & Şahin Demirbağ, N. (2016). Türkiyede kaliteli kaba yem kaynaklarının mevcut durumu. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 9(1), 23-27.

- Pedernera, M., Celi, P., García, S. C., Salvin, H. E., Barchia, I., & Fulkerson, W. J. (2010). Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. *The Veterinary Journal*, *186*(3), 352-357.
- Pekçok, D., & Aksu, E. H. (2015). Sığırlarda östrus senkronizasyonu ile birlikte kullanılan döl tutma oranını etkileyen faktörler. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, *10*(3).
- Ponnampalam, E. N., Kiani, A., Santhiravel, S., Holman, B. W., Lauridsen, C., & Dunshea, F. R. (2022). The importance of dietary antioxidants on oxidative stress, meat and milk production, and their preservative aspects in farm animals: Antioxidant action, animal health, and product quality—Invited review. *Animals*, *12*(23), 3279.
- Puppel, K., Kapusta, A., & Kuczyńska, B. (2015). The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(11), 2179-2184.
- Rangraz Tabatabaei, M., Ranjbar, R., Daryanoosh, F., Nikbakht, M., & Ghanbarzadeh, M. (2023). The Effect of High Intensity Interval Training on Asprosin and Oxidative Stress in The Heart Tissue of Type 2 Diabetic Male Rats. Available at SSRN 4521295.
- Ribadu, A. Y., & Nakao, T. (1999). Bovine reproductive ultrasonography: a review. *Journal of Reproduction and Development*, *45*(1), 13-28.
- Rivera, H., Lopez, H., & Fricke, P. (2005). Use of intravaginal progesterone-releasing inserts in a synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, *88*(3), 957-968.

- Rolo, A. P., Teodoro, J. S., & Palmeira, C. M. (2012). Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Free radical biology and medicine*, 52(1), 59-69.
- Romere, C., Duerschmid, C., Bournat, J., Constable, P., Jain, M., Xia, F., Saha, P. K., Del Solar, M., Zhu, B., & York, B. (2016). Asprosin, a fasting-induced glucogenic protein hormone. *Cell*, 165(3), 566-579.
- Rowson, L., & Dott, H. (1963). A hazard of pregnancy diagnosis in cattle; carry foetal size.
- Shabir, K., Brown, J. E., Afzal, I., Gharanei, S., Weickert, M. O., Barber, T. M., Kyrou, I., & Randeve, H. S. (2021). Asprosin, a novel pleiotropic adipokine implicated in fasting and obesity-related cardio-metabolic disease: Comprehensive review of preclinical and clinical evidence. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 60, 120-132.
- Shah, K., Nakao, T., & Kubota, H. (2006). Plasma estrone sulphate (E1S) and estradiol-17 β (E2 β) profiles during pregnancy and their relationship with the relaxation of sacrosciatic ligament, and prediction of calving time in Holstein–Friesian cattle. *Animal Reproduction Science*, 95(1-2), 38-53.
- Song, Y., Li, X., Li, Y., Li, N., Shi, X., Ding, H., Zhang, Y., Li, X., Liu, G., & Wang, Z. (2014). Non-esterified fatty acids activate the ROS–p38–p53/Nrf2 signaling pathway to induce bovine hepatocyte apoptosis in vitro. *Apoptosis*, 19, 984-997.
- Sordillo, L. M., & Aitken, S. L. (2009). Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary immunology and immunopathology*, 128(1-3), 104-109.

- Sousa, N., Ayad, A., Beckers, J., & Gajewski, Z. (2006). Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants. *J Physiol Pharmacol*, 57(Suppl 8), 153-171.
- Sönmez, M. (2012). Reprodüksiyon suni tohumlama ve androloji ders notları. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ, Turkey*, 15-20.
- Sönmez, M., Gür, S., & Aksu, E. H. (2006). İneklerde tespit edilen ilk atlama davranışından suni tohumlama zamanına kadar geçen sürenin gebelik oranları üzerine etkisi. *FÜ Sağ Bil Derg*, 20, 365-369.
- Sönmez, M., Türk, G., & Demirci, E. (2007). İneklerde gebelik oranı üzerine gözlem yöntemi ve progesteron test kitleriyle yapılan östrus tespitinin etkisi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 54(2), 81-90.
- Sundrum, A. (2015). Metabolic disorders in the transition period indicate that the dairy cows' ability to adapt is overstressed. *Animals*, 5(4), 978-1020.
- Torres, E., Mellado, M., Leyva, C., García, J. E., Véliz, F. G., & Hernández-Bustamante, J. (2020). Serum metabolites and body condition score associated with metritis, endometritis, ketosis, and mastitis in Holstein cows. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 55, e01308.
- Wagner, D. R., Teramoto, M., Judd, T., Gordon, J., McPherson, C., & Robison, A. (2020). Comparison of A-mode and B-mode ultrasound for measurement of subcutaneous fat. *Ultrasound in medicine & biology*, 46(4), 944-951.
- Wang, C., Zeng, W., Wang, L., Xiong, X., Chen, S., Huang, Q., Zeng, G., & Huang, Q. (2024). Asprosin aggravates nonalcoholic fatty liver disease via inflammation and lipid metabolic disturbance mediated by reactive oxygen species. *Drug Development Research*, 85(4), e22213.

- Wei, F., Long, A., & Wang, Y. (2019). The Asprosin-OLFR734 hormonal signaling axis modulates male fertility. *Cell discovery*, 5(1), 55.
- Wu, J., Liu, J., & Wang, D. (2020). Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. *Lipids in Health and Disease*, 19, 1-7.
- Xie, S., Green, J., Bixby, J. B., Szafranska, B., DeMartini, J. C., Hecht, S., & Roberts, R. M. (1997). The diversity and evolutionary relationships of the pregnancy-associated glycoproteins, an aspartic proteinase subfamily consisting of many trophoblast-expressed genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(24), 12809-12816.
- Yehia, S., Ramadan, E., Megahed, E., & Salem, N. (2021). Influence of season and lactation stage on oxidative, haematological, and metabolic profile parameters in Holstein dairy cows. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 9(12), 2095-2102.
- Yehia, S. G., Ramadan, E. S., Megahed, E. A., & Salem, N. Y. (2020). Effect of parity on metabolic and oxidative stress profiles in Holstein dairy cows. *Veterinary World*, 13(12), 2780.
- Yenilmez, K., Arslan, S., Vicil, S., & Dogan, H. (2024). Effects of asprosin levels and selected biochemical parameters on conception in repeat breeder cows. *Med. Weter*, 80(6), 283-286.
- Youngquist, R. S., & Threlfall, W. R. (2006). *Current therapy in large animal theriogenology*. Elsevier Health Sciences.
- Yüksel, M., Kandemir, F. M., Deveci, H., & Özdemir, N. (2012). İneklerde seksüel siklusun farklı dönemlerinde uterus arginaz seviyelerinin araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(1), 15-17.

- Zheng, F., Ye, C., Lei, J.-Z., Ge, R., Li, N., Bo, J.-H., Chen, A.-D., Zhang, F., Zhou, H., & Wang, J.-J. (2024). Intervention of asprosin attenuates oxidative stress and neointima formation in vascular injury. *Antioxidants and Redox Signaling*(ja).
- Zoli, A. P., Guilbault, L. A., Delahaut, P., Ortiz, W. B., & Beckers, J.-F. (1992). Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biology of reproduction*, 46(1), 83-92.



EKLER

EK-1. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Health Sciences

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Dölerme ve Suni Tohumlama
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Yüksek Lisans

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	% 0	% 15
II. Genel Bilgiler	% 14	% 35
III. Materyal ve Metod	% 27	% 35
IV. Bulgular	% 4	% 15
V. Tartışma	% 1	% 20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
	30.10.2024
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp tezin Ekler kısmına EK-1 olarak eklenmelidir.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : E-75296309-050.01.04-2300313505

04.10.2023

Konu : HADYEK Kararı.

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 25.09.2023 tarihli ve E-36643897-000-2300297123 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 28.09.2023 tarihli ve 2023/11 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 167 no'lu kararı ile sözkonusu yüksek lisans tez projesi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğünde (Deney Hayvanı Üretici/Kullanıcı/Tedarikçi Kuruluşlara Mahsus Çalışma İzni Belgesi) yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu" nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 28.09.2023

TOPLANTI SAYISI : 2023/11

KARAR NO 167: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Klinik Bilimler Bölümü, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr.Öğr.Üyesi Serkan Ali AKARSU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü, Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğünde (Deney Hayvanı Üretici/Kullanıcı/Tedarikçi Kuruluşlara Mahsus Çalışma İzni Belgesi) yürütülecek olan “**Simental İneklerde Asprosin Düzeyinin Fertilité Başarısı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması**” isimli Yüksek Lisans Tez projesi çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 25.09.2023 tarihli ve E-36643897-000-2300297123 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen Yüksek Lisans Tez projesi çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; karar verildi.





T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi
Müdürlüğü

Sayı : E-43216829-000-2300284675
Konu : Çalışma İzni

15.09.2023

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Serkan Ali AKARSU

İlgi : 14.09.2023 tarihli ve E-43216829-000-2300284474 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınızda, Yüksek Lisans Öğrencisi Rahmi KÖSE'nin tez çalışması olarak planladığımız '*Simental İneklerde Asprosin düzeyinin Fertilité Başarısı ve Oksidatif Stres Üzerine Etkisinin Araştırılması*' başlıklı çalışma için araştırma izni talebiniz incelenmiş olup çalışmanın Yakutiye Sığırcılık Birimimizde yapılması ve iş sağlığı ve güvenliği uhdenizde olmak kaydıyla uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.